

**UM PROGRAMA EM PASCAL PARA AVALIAR A CINÉTICA DE AGROTÓXICOS
EM ORGANISMOS AQUÁTICOS***

LOURIVAL COSTA PARAÍBA**

CLÁUDIO MARTIN JONSSON**

MARCOS CORREA NEVES**

O ambiente aquático é, freqüentemente, alvo de agressões por compostos químicos de diversas origens que contaminam os organismos que alí habitam. Através de estudos de bioconcentração de agrotóxicos na biota aquática, é possível se prever o impacto ambiental destes produtos. O presente trabalho tem por finalidade apresentar um programa computacional na linguagem PASCAL, que facilita o cálculo de alguns parâmetros toxicocinéticos, a usuários que trabalham com bioconcentração aquática com um modelo determinístico de um compartimento. Os parâmetros toxicocinéticos calculados pelo programa proposto auxiliam a estabelecer limites máximos de descarga de poluentes na água e oferecem subsídios para o delineamento de estudos de biomagnificação.

* Trabalho apresentado no 2º Congresso Iberoamericano de Toxicologia, Sevilha, 27-30 de setembro de 1993.

** Pesquisador do Centro Nacional de Pesquisa de Monitoramento e Avaliação de Impacto Ambiental - CNPMA/EMBRAPA.

1 INTRODUÇÃO

A constante necessidade de se produzir novas substâncias químicas para fins industriais, agrícolas e outras aplicações é confrontada pela responsabilidade em minimizar qualquer efeito adverso destes compostos sobre o meio ambiente.

O ambiente aquático é um dos compartimentos ambientais mais suscetíveis de ser contaminado por poluentes como agroquímicos (4), metais pesados (8), esgotos domésticos (7) e efluentes de origens diversas.

Uma vez distribuídos na hidrosfera, estes poluentes acumulam-se nos organismos que ali habitam, podendo causar efeitos indesejáveis com repercussão nos diversos níveis tróficos da cadeia alimentar.

Assim, surge a necessidade de se conhecer os processos dinâmicos que ocorrem entre os organismos aquáticos e o meio que os rodeia, de modo que os parâmetros toxicológicos advindos deste conhecimento, auxiliem a prever o acúmulo na biota, e desta maneira estabelecer limites máximos de concentrações de agentes químicos.

A bioconcentração aquática é conhecida como o processo pelo qual um organismo acumula determinado agrotóxico, através da água, ao longo do tempo. Este processo pode ou não ser reversível sendo influenciado pelo metabolismo do composto no organismo (10).

Ao observar-se a dinâmica dos fatores envolvidos na bioconcentração de agrotóxicos, pode-se idealizar o organismo como um compartimento único, relacionando-se com o meio aquático através de uma entrada e uma saída. Existe portanto, um nível teórico de equilíbrio onde a quantidade do composto que é incorporada aos tecidos do organismo é equivalente à quantidade eliminada, sendo que a concentração na água é considerada constante.

Confrontando-se as variáveis concentração versus tempo de exposição, a condição pela qual a concentração do composto no organismo apresenta-se constante é definida como estado de equilíbrio, o qual é caracterizado por um *platéau*.

O fator de bioconcentração (FBC) é definido como o quociente entre a concentração do agrotóxico no tecido do organismo em estado de equilíbrio e a concentração na água.

Assim, conhecendo-se o FBC para determinado composto, é possível se fazer comparações entre diferentes compostos químicos de acordo com seu potencial cumulativo. Eventualmente, através destas informações é possível estimar qual a concentração de risco aceitável em um ambiente aquático.

Um procedimento direto para se calcular o FBC consiste em expor um grupo de organismos teste a uma concentração constante do agrotóxico na água, até que uma concentração de equilíbrio seja atingida. Esta situação pode ser seguida de uma fase de depuração do composto nos tecidos do organismo ao colocar o mesmo em água não contaminada e observando-se o resíduo contido nos tecidos em função do tempo. Tais dados permitem calcular o tempo de meia-vida biológica ($t_{\frac{1}{2}}$) que representa o tempo necessário para a eliminação de 50% da concentração inicial do composto.

Em determinadas circunstâncias, nas quais o acúmulo contínuo do composto não permite a observação de um *platéau* com relação ao acúmulo de agrotóxico em função do tempo, devido às condições metabólicas do organismo ou características físico-químicas do próprio composto, a aplicação de modelos matemáticos permite estimar com grande significância o FBC.

A utilização de modelos matemáticos toxicocinéticos através de dados de testes de bioconcentração a curto prazo, têm proporcionado vantagens relacionadas à obtenção de resultados toxicológicos com maior rapidez e com menor custo experimental, devido ao menor número de análises de resíduos a serem executadas (10 e 3).

Programas computacionais orientados por modelos matemáticos toxicocinéticos, tais como KINETICA (1) e BIOFAC (2), permitem estimar os parâmetros de bioconcentração e eliminação. Porém, o acesso aos mesmos muitas vezes é dificultado por se tratar de propriedade da iniciativa privada ou por pertencer a órgãos de pesquisa com sua difusão limitada, isto quando não estão vinculados à utilização de programas estatísticos dispendiosos.

Orientado por conceitos toxicocinéticos, o presente trabalho tem como objetivo, oferecer a usuários que trabalham com bioconcentração aquática em sistema semi-estático ou de fluxo contínuo, um programa na linguagem PASCAL (6) que permite calcular as constantes de absorção (k_1) e de eliminação (k_2), o FBC e o tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) de compostos químicos. O programa calcula também o tempo necessário para ser atingido 90% da concentração de equilíbrio do agrotóxico no organismo (t_{90}).

2 METODOLOGIA

O programa para microcomputadores IBM-PC ou compatíveis, apresentado neste trabalho foi desenvolvido na linguagem PASCAL do sistema TURBO PASCAL da BORLAND versão 5.0 (11). Este software permite calcular parâmetros toxicocinéticos de compostos químicos, quando valores de concentração são obtidos segundo o seguinte procedimento: numa primeira fase organismos são expostos a uma concentração constante e conhecida do agrotóxico sob um período de tempo determinado; segue-se a esta, uma fase de eliminação em que os organismos são transferidos para água isenta do agrotóxico. Em cada fase, amostras de organismos são retiradas para determinação da concentração nos tecidos.

A fundamentação, que orientou a elaboração do programa apresentado neste trabalho, é dada pelo modelo matemático toxicocinético proposto por OLIVER & NIIMI (9). De acordo com

estes autores, a relação que descreve a absorção e a eliminação de um agrotóxico por organismos aquáticos em função do tempo (t), é descrito pela seguinte equação diferencial:

$$\frac{dC_F}{dt} = k_1 C_w - k_2 C_F \quad (i)$$

onde, C_F é o valor da concentração do agrotóxico no organismo, C_w na água e k_1 e k_2 são as constantes de absorção e eliminação respectivamente.

No estado de equilíbrio, $dC_F/dt = 0$ e o fator de bioconcentração FBC é dado pela seguinte equação:

$$FBC = \frac{C_F}{C_w} = \frac{k_1}{k_2} \quad (ii)$$

Se C_w é constante e se $C_F(0) = 0$ então, a equação (i) pode ser integrada obtendo-se a seguinte expressão para C_F :

$$C_F(t) = FBC C_w [1 - \text{Exp}(-k_2 t)] \quad (iii)$$

A constante k_2 determinada, de acordo com a cinética de degradação de 1ª ordem, por uma regressão linear onde a variável dependente é o logaritmo neperiano da concentração do agrotóxico na fase de eliminação, o tempo é a variável

independente e o coeficiente angular o valor de $(-k_2)$. Assim sendo, o tempo de meia vida é calculado segundo a seguinte equação:

$$t_{1/2} = -\frac{\text{Ln}(0.5)}{k_2} \quad (\text{iv})$$

Geometricamente, a equação (iii) descreve uma reta cuja inclinação é $\text{FBC} \cdot C_w$, a abscissa é $[1 - \text{Exp}(-k_2 t)]$ e a ordenada é a concentração durante a fase de absorção. Sendo FBC e k_2 conhecidos, k_1 é calculado por $k_1 = \text{FBC} \cdot k_2$. O tempo necessário para ser atingido 90% da concentração do estado de equilíbrio no organismo, é calculado através da equação:

$$t_{90} = \frac{\text{Ln}(0.1)}{k_2} \quad (\text{v})$$

A estimativa do desvio padrão para os parâmetros determinados é fundamentada pelo desvio padrão do coeficiente angular da reta (12). Esta é obtida de um ajuste por regressão linear dos dados a fim de calcular os parâmetros toxicocinéticos. Para efeito de cálculo dos desvios de cada parâmetro, a teoria de erros segundo DEMIDOVICH & MARON (5) foi aplicada.

3 RESULTADOS E CONCLUSÃO

O programa proposto considera o organismo como um compartimento único para o modelo de bioconcentração. Segundo

este modelo, o ingresso do agrotóxico através da água é o único *input* considerado e é diretamente proporcional à concentração de exposição. Assume-se também que os resíduos no organismo pertencem a um *pool* comum e que a taxa de eliminação, independentemente do tipo de mecanismo, é de 1ª ordem, ou seja, diretamente proporcional à concentração no organismo. Porém, o comportamento cinético dos resíduos nos tecidos nem sempre obedecem à formação de um *pool* único, pois parte da concentração do agente químico é rapidamente eliminada, ao mesmo tempo que outra parte requer um tempo consideravelmente maior para ser depurada. É o caso, por exemplo, dos metais, que ligam-se fortemente a proteínas ou outros constituintes celulares, ou de compostos orgânicos que se acumulam em tecidos adiposos e requerem um longo período para serem eliminados, comparativamente à porção que está nos fluídos circulantes.

Considerando estes fenômenos, programas computacionais a partir de modelos bi ou multicompartmentais podem ser dimensionados com base na programação proposta no presente trabalho, existindo também a possibilidade de serem utilizados em estudos de biomagnificação, ou seja, a bioacumulação através de distintos níveis tróficos da cadeia alimentar.

Supondo-se que em uma experimentação um agrotóxico seja mantido a concentração constante na água de $C_w = 0.005\text{mg/L}$ e que os valores de k_1 e k_2 sejam respectivamente 0.25h^{-1} e 0.04h^{-1} . Então, a concentração de equilíbrio esperada no organismo é 0.031mg/Kg e os modelos matemáticos de exposição (absorção) e eliminação do agrotóxico são respectivamente:

$$C_F(t) = 0.031 [1 - \text{Exp}(0.04t)] \quad (\text{vi})$$

$$C_F(t) = 0.031 * \text{Exp}(-0.04t) \quad (\text{vii})$$

A título de exemplificação, as equações (vi) e (vii) permitem simular um experimento e que posteriormente seja usado o programa para estimar os parâmetros toxicocinéticos a fim de compará-los com os valores esperados. Os dados hipotéticos da Tabela 1 foram obtidos pela equação (vi) e os dados da Tabela 2 pela equação (vii).

TABELA 1 - CONCENTRAÇÃO DO AGROTÓXICO EM FUNÇÃO DO TEMPO DURANTE A FASE DE EXPOSIÇÃO DOS ORGANISMOS

Tempo h	0	1	6	12	24	48	96
conc.mg/Kg	0	0.0012	0.0066	0.0118	0.0191	0.0264	0.0303

TABELA 2 - CONCENTRAÇÃO DO AGROTÓXICO EM FUNÇÃO DO TEMPO DURANTE A FASE DE ELIMINAÇÃO

Tempo h	5	10	20	40	50	100
conc.mg/Kg	0.0253	0.0207	0.0139	0.0062	0.0041	0.0005

Assim, os valores dos parâmetros esperados são:

$$k_1 = 0.25h^{-1}, \quad k_2 = 0.04h^{-1}, \quad FBC = 6.25, \quad t_{\frac{1}{2}} = 17.32h \text{ e} \\ t_{90} = 57.56h.$$

Os valores estimados pelo programa usando-se os dados da Tabela 1 e da Tabela 2 são:

$$k_1 = (0.2544 \pm 0.0028)h^{-1}, \quad k_2 = (0.0413 \pm 0.003)h^{-1}, \\ FBC = (6.1598 \pm 0.0295), \quad t_{\frac{1}{2}} = (16.78 \pm 0.106)h \text{ e} \\ t_{90} = (55.76 \pm 0.35)h.$$

A aderência entre os valores esperados e os valores estimados leva a concluir que o programa proposto (Apêndice 1) pode ser seguramente utilizado para fins de estimativa dos parâmetros toxicocinéticos.

Abstract

The aquatic environment is frequently subjected to aggressions by chemicals of different origins, which contaminate the organisms living there. The study of the bioconcentration of the environment in the aquatic biota allows the forecast of the environmental impact due to those products. The objective of this work is to propose a computer program in PASCAL language to facilitate the calculation of some toxicokinetics parameters in a deterministic model of one compartment. The parameters calculated through the proposed program help to establish maximum water pollutants discharge limits and are useful in biomagnification studies.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 ALLEN, D.M., MATIS, J.H. (1990) apud NEWMAN, M.C., McINTOSH, A.W. Metal ecotoxicology. Chelsea : Lewis, 1990. p.175.
- 2 BLAU, G.E., AGIN, G.L. (1978) apud EATON, J.G., PARRISH, P.R., HENDRICKS, A.C. Aquatic toxicology : Proceedings of the third annual symposium on aquatic toxicology ASTM STP 707. Philadelphia : American Society for Testing and Materials, 1980. p.66.
- 3 BRANSON, D.R. et alii. Bioconcentration of 2,2',4,4'-tetrachlorobiphenyl in rainbow trout as measured by an accelerated test. Trans. Am. Fish Soc., Bethesda, v.104, p.785-92, 1975.
- 4 CELESTE, M.F., CÁCERES, O. Resíduos de praguicidas organoclorados em peixes da represa do Ribeirão do Lobo (Broa) São Carlos, SP. Ciência e Cultura, São Paulo, v.40, n.6, p.586-90, 1988.
- 5 DEMIDOVICH, B.P., MARON, I.A. Computational mathematics. Moscow : Mir Publishers, 1975. 691p.

- 6 JENSEN, K., WIRTH, N. (1974) apud WIRTH, N. Programação sistemática. Rio de Janeiro : Editora Campus, 1978. p.191.
- 7 LEE, G.F. et alii. Use of the hazard assesment approach for evaluating the impact of chlorine and ammonia in Pueblo, Colorado, domestic wastewaters on water quality in Arkansa River. In: PEARSON, J.G., FOSTER, R.B. BISHOP, W.E. (Eds.) Aquatic toxicology and hazard assesment: Philadelphia : American Society for Testing and Materials, 1982, p.356-80.
- 8 LUOMA, S.N., CARTER, J.L. Effects of trace metals on aquatic benthos. In: NEWMAN, M.C., McINTOCH, A.W., (Eds). Metal ecotoxicology : Concepts & applications. Chelsea : Lewis, 1991, p.261-300.
- 9 OLIVER, B.G., NIIMI, A.J. Bioconcentration factors of some halogenated organics for rainbow trout: limitations in their use for prediction of environmental residues. Environ. Sci. Technol., Washington, v. 19, p.842-849, 1985.
- 10 SPACIE, A., HAMELINK, J.L. Bioaccumulation In: RAND, G.M., PETROCELLI, S.R. Fundamentals of aquatic toxicology. N. York : Hemisphere, 1985. p.495-525.
- 11 TURBO PASCAL Version 5.0 Reference Manual. Scotts Valley : Borland International, 1985. 493 p.
- 12 WEISBERG, S. Applied linear regression. New York : John Wiley, 1985. 324 p.

APÊNDICE - PROGRAMA EM PASCAL PARA CÁLCULO DE PARÂMETROS TOXICOCINÉTICOS

```

PROGRAM BIO_CINETICA;
USES CRT;
VAR
  I, J, M, N: INTEGER;
  T90, DPT90, YM, TM, SY, STT, STY, RSS, BETA, DTA, K1, K2,
  DPK1, DPK2, DPBETA, CW, FBC, TMEIO, DPFBC, DPTMEIO: REAL;
  CA, TA, CE, TE, Y, T: ARRAY [1..30] OF REAL;
  C: CHAR;
  LABEL 10;
BEGIN
  CLRSCR;
  WRITELN('-----FASE DE ABSORCAO-----');
  WRITELN; WRITELN('QUAL A CONCENTRACAO NA AGUA ?');
  WRITE('CW = '); READLN(CW);
  WRITELN('QUAL O NUMERO DE OBSERVACOES ?');
  WRITE('M = '); READLN(M);
  FOR I:=1 TO M DO BEGIN
    WRITE('QUAL A CONCENTRACAO NA OBSERVACAO',I,'?');
    WRITELN; WRITE('CA['I,']=');
    READLN(CA[I]);
  END;
  FOR I:=1 TO M DO BEGIN
    WRITE('QUAL O VALOR DO TEMPO NA OBSERVACAO ',I,' ?');
    WRITELN; WRITE('TA['I,']='); READLN(TA[I]);
  END;
  WRITELN; WRITELN;
  WRITELN('DIGITE <ENTER> PARA CONTINUAR');
  READLN(C);
  WRITELN('-----FASE DE ELIMINACAO-----');
  WRITELN;
  WRITE('QUAL O NUMERO DE OBSERVACOES');
  WRITELN('?'); WRITELN; WRITE('N = ');
  READLN(N);
  FOR I:=1 TO N DO BEGIN
    WRITELN('QUAL A CONCENTRACAO NA OBSERVACAO',I,'?');
    WRITE('CE['I,']='); READLN(CE[I]);
    Y[I]:=LN(CE[I]);
  END;
  FOR I:=1 TO N DO BEGIN
    WRITELN('QUAL O TEMPO NA OBSERVACAO ',I,' ?');
    WRITE('TE['I,']='); READLN(TE[I]);
    T[I]:=TE[I];
  END;
  J:=0; 10: YM:=0; TM:=0;
  FOR I:=1 TO N DO BEGIN
    YM:=YM + Y[I];
    TM:=TM + T[I];
  END;
  YM:=YM/N; TM:=TM/N; SY:=0; STT:=0; STY:=0;
  FOR I:=1 TO N DO BEGIN
    SY:=SY + Y[I]*Y[I];
    STY:=STY + T[I]*Y[I];
    STT:=STT + T[I]*T[I];
  END;

```

```

SYY:=SYY - N*YM*YM;
STT:=STT - N*TM*TM;
STY:=STY - N*TM*YM;
BETA:=STY/STT;
RSS:=SYY - (STY*STY)/STT;
DTA:=SQRT(RSS/(N-2));
DPBETA:=(DTA/SQRT(STT));
IF J=0 THEN BEGIN
  J:=1; N:=M; K2:=(ABS(BETA));
  DPK2:=DPBETA;
  TMEIO:=(LN(2.0)/K2);
  DPTMEIO:=(DPK2/K2)*TMEIO;
  FOR I:=1 TO M DO BEGIN
    T[I]:=(1.0-EXP(-K2*TA[I]));
    Y[I]:=CA[I];
  END;
  GOTO 10;
END
ELSE BEGIN
  FBC:=(ABS(BETA)/CW);
  DPFBC:=(DPBETA/ABS(BETA))*FBC;
  K1:=K2*FBC;
  DPK1:=(DPFBC/FBC + DPK2/K2)*K1;
  T90:=LN(10)/K2; DPT90:=(DPK2/K2)*T90;
END;
CLRSCR; FOR I:=1 TO 10 DO WRITELN; WRITELN;
WRITE('CONSTANTE NA FASE DE ABSORCAO K1 = ');
WRITELN(K1:10:4, ' +/- ', DPK1:10:4); WRITELN;
WRITE('CONSTANTE NA FASE DE ELIMINACAO K2 = ');
WRITELN(K2:10:4, ' +/- ', DPK2:10:4);
WRITELN;
WRITE('FATOR DE BIOCONCENTRACAO FBC = ');
WRITELN(FBC:10:4, ' +/- ', DPFBC:10:4);
WRITELN;
WRITE('TEMPO DE MEIA VIDA T1/2 = ');
WRITELN(TMEIO:10:4, ' +/- ', DPTMEIO:10:4);
WRITELN;
WRITE('TEMPO PARA 90% DO EQUILIBRIO T90 = ');
WRITELN(T90:10:4, ' +/- ', DPT90:10:4); WRITELN;
END.

```