

Fitotoxicidade do corante alimentar Verde Rápido (INS – 143) a plantas superiores

Phytotoxicity of the food colorant Fast Green (INS - 143) to higher plants

Gabrielle Cristina dos Santos Gonçalves do Nascimento¹, Ana Paula Peron²

RESUMO

O corante alimentar Verde Rápido é amplamente utilizado pela indústria farmacêutica e de alimentos, e liberados em diferentes compartimentos ambientais por meio de efluentes industriais, uma vez que tratamentos convencionais não o retira de forma eficiente de águas residuárias. Não há na literatura estudos de efeitos adversos desse aditivo a plantas. Objetivou-se avaliar esse corante, nas concentrações 10, 100 e 1000 µg/L, em *Cucumis sativus*, *Avena fatua*, *Lycopersicon esculentum*, *Lactuca sativa*, *Daucus carota* e *Taraxacum officinale*. As concentrações não afetaram a germinação e o crescimento radicular em *C. sativus*. Em *T. officinale* não permitiram o alongamento radicular e em *L. sativa*, *A. fatua*, *L. esculentum* e *D. carota* reduziram significativamente a germinação das sementes e o crescimento radicular, mostrando-se fitotóxicos. O corante verde rápido demonstra perigo para as plantas bem como na regulação da sua liberação no meio ambiente.

PALAVRAS-CHAVE: Aditivo alimentar; corante; toxicidade.

ABSTRACT

The food colorant Fast Green is widely used by the pharmaceutical and food industries and is released into different environmental compartments through industrial effluents, since conventional treatments do not efficiently remove it from wastewater. There are no studies in the literature on the adverse effects of this additive on plants. The aim was to evaluate this dye at concentrations of 10, 100 and 1000 µg/L on *Cucumis sativus*, *Avena fatua*, *Lycopersicon esculentum*, *Lactuca sativa*, *Daucus carota* and *Taraxacum officinale*. The concentrations did not affect germination and root growth in *C. sativus*. In *T. officinale* they did not allow root elongation and in *L. sativa*, *A. fatua*, *L. esculentum* and *D. carota* they significantly reduced seed germination and root growth, proving to be phytotoxic. The fast green dye demonstrates danger to plants as well as regulating its release into the environment.

KEYWORDS: Food additive; dye; toxicity.

INTRODUÇÃO

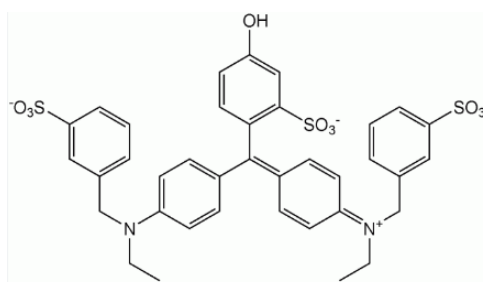
De acordo com Rodila (2019) a presença de poluentes orgânicos de caráter emergente em recursos hídricos e no solo é um problema global. Eles são onipresentes e transportados por longas distâncias, sendo encontrados em muitos meios bióticos e abióticos. Esta propriedade é derivada de sua persistência no meio ambiente.

Dentre os corantes amplamente utilizados pela indústria alimentícia e farmacêutica está o Verde Rápido (INS – 143). Trata-se de um corante com estrutura química complexa (Figura 1) continuamente lançado em recursos hídricos e no solo em concentrações na faixa de ng/L a µg/L. Escassos são os estudos de avaliação de efeitos adversos causados por esse aditivo a organismos terrestres (FRÂNCICA et al., 2022).

¹ Bolsista da Fundação Araucária. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil. E-mail: gabriellecristina@alunos.utfpr.edu.br ID. ID Lattes: <http://lattes.cnpq.br/2758741108116517>

² Docente no Departamento de Biodiversidade e Conservação da Natureza (DABIC). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil. E-mail: anaperon@utfpr.edu.br. ID Lattes: <http://lattes.cnpq.br/3605560420792065>.

Figura 1- Estrutura Química do Verde Rápido (INS-143)



Fonte: Sociedade Brasileira de Química
Química Nova Interativa (s/d.)

Segundo Hussain et al. (2020), no solo a contaminação por Verde Rápido ocorre principalmente pela incorporação de lodo de esgoto urbano em solo de cultivo e pela utilização de águas residuárias em irrigação, bem como pela lixiviação de solos contaminados e pelo despejo de efluentes brutos diretamente no solo.

Cucumis sativus L. (pepino), *Avena fatua* L. (aveia-dos-pássaros), *Lycopersicon esculentum* Mill. (tomate), *Lactuca sativa* L. (alface), *Daucus carota* L. (cenoura), e *Taraxacum officinale* F.H. Wigg. (dente-de-leão) são biomodelos recomendados pela Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD, 1984; 2006) e pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (US EPA, 1996) para avaliação do potencial fitotóxico de xenobióticos, como poluentes emergentes.

Diante do exposto o objetivo deste trabalho foi avaliar a fitotoxicidade do corante Verde rápido a *C. sativus*, *A. fatua*, *L. esculentum*, *L. sativa*, *D. carota* e *T. officinale*. Espera-se que este estudo contribua para a compreensão do perigo do Verde rápido para as plantas terrestres, e auxilie órgãos de controles a regularem sua liberação no ambiente.

MATERIAIS E MÉTODOS

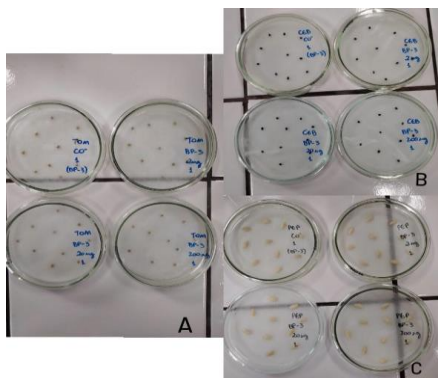
O corante Verde Rápido (INS – 143) foi adquirido puro da empresa de aditivo alimentares Duas Rodas localizada em Jaguará do Sul em Santa Catarina. As concentrações avaliadas foram: 10, 100 e 1000 ug/L, definidas com base nos estudos de Jonh et al. (2023) e Hussain et al. 2020, que avaliaram a presença e concentração de corantes alimentares no solo e em águas superficiais. As concentrações foram preparadas em água destilada.

A fitotoxicidade foi estabelecida de acordo com (OECD, 2006). Os parâmetros considerados foram germinação de sementes e alongamento radicular.

Sementes de *C. sativus*, *A. fatua*, *L. esculentum*, *L. sativa*, *D. carota*, e *T. officinale*, da marca Isla®, foram obtidas em casa agropecuária e encontravam-se isentas de pesticidas. Em todo o tempo de análise, para as seis espécies, utilizou-se sementes do mesmo lote. A taxa de germinação informada nas embalagens das sementes era superior a 95%. Para cada planta selecionou-se, por meio de lupa estereoscópica, sementes de tamanhos semelhantes que em seguida foram esterilizadas em HgCl₂ 0,1%, segundo protocolo de Nascimento et.al (2023).

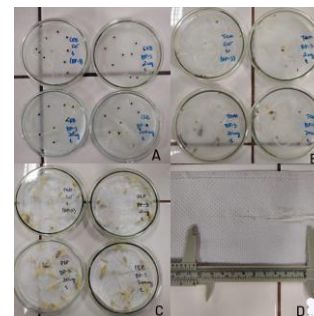
Após a esterilização lavou-se as sementes com água destilada por cinco vezes. Cada placa recebeu 20 sementes, distribuídas em distâncias semelhantes como mostra a figura 2 abaixo. Para todo tratamento utilizou-se cinco repetições (cinco placas) totalizando 100 sementes para o controle e para cada concentração analisada. Como controle utilizou-se água destilada.

Figura 2- Sementes em placa para germinação germinadas.



Fonte: Autoria própria.

Figura 3 – Medição das raízes de sementes



Fonte: Autoria própria.

Cada placa recebeu 2 mL de seu respectivo tratamento, o qual umedeceu o filtro sem empapá-lo. As placas de cada tratamento foram envolvidas em parafilme e colocadas em BOD (Demanda Bioquímica de Oxigênio) a 25°C sem a presença de luz, por cinco dias (120 horas). Uma semente foi considerada germinada quando a radícula emergiu. Calculou-se a porcentagem de germinação (G) por meio da Equação 1:

$$G(\%) = \frac{\text{number of seeds germinated}}{\text{number of seeds evaluated}} \times 100 \quad (1)$$

Após as 120 horas de incubação, 10 sementes germinadas foram selecionadas aleatoriamente em cada placa para medição de raízes. Quando não havia 10 sementes com radículas, todas as sementes enraizadas eram medidas. Mediu-se as raízes com paquímetro digital e calculou-se o Índice de Crescimento Relativo (RGI) e o Índice de Germinação (IG%), conforme as Equações 2 e 3. Tais índices foram calculados de acordo com Biruk et al. (2017),

$$RGI = \frac{RLI}{RLC} \quad (2)$$

$$GI(\%) = \frac{RLI \times GSI}{RLC \times GSC} \times 100 \quad (3)$$

RLI significa o comprimento médio de radículas obtidas após exposição as concentrações analisadas e RLC é o comprimento médio de radículas obtidas para o controle. Logo, GSI é o número de sementes germinadas após exposição as concentrações analisadas e GSC é o número de sementes germinadas no controle.

Classificou-se RGI da seguinte forma: Inibição do alongamento radicular (I): $0,1 < RGI < 0,8$; sem efeitos significativos (NSE): $0,8 \leq RGI \leq 1,2$ e Estimulação de alongamento da raiz (S): $RGI > 1,2$.

Outros sinais de toxicidade também foram considerados, como alterações na espessura e cor das raízes, bem como a presença de raízes aduncos e retorcidas.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Em *C. sativus*, o corante Verde Rápido nas concentrações 10; 100; e 1.000 $\mu\text{g/L}$ não causou redução na germinação de sementes, apresentando índice de crescimento relativo (ICR) $> 1,2$ e índice de germinação (IG) $> 50\%$ (Tabela 1). Porém, as raízes obtidas após exposição à concentração de 100 $\mu\text{g/L}$ eram muito finas em relação ao controle, quebrando ao menor toque.

Em *A. fatua*, *L. esculentum*, *L. sativa* e *D. carota*, as três concentrações do corante reduziram a porcentagem de germinação de sementes e causaram redução no alongamento radicular apresentando ICR < 0,8. Além disso, essas quatro espécies tiveram IG < 50%, o que segundo Mañas e Heras (2017) indica toxicidade significativa à planta. Ademais, radículas de *T. officinale* emergiram mas não alongaram, impossibilitando o cálculo do ICR e do IG (Tabela 1). Com base nos resultados, o corante causou fitotoxicidade significativa em *A. fatua*, *L. esculentum*, *L. sativa*, *D. carota* e *T. officinale*.

Tabela 1: Fitotoxicidade do corante alimentar verde rápido (INS – 143), nas concentrações 10; 100; e 1.000 µg/L, para *Cucumis sativus* L., *Avena fatua* L., *Lycopersicum esculentum* Mill., *Lactuca sativa* L., *Daucus carota* L. e *Taraxacum officinale* F.H. Wigg. com base na germinação de sementes, alongamento de raízes e índice de germinação.

<i>Cucumis sativus</i> L.			
TR	G/DP (%)	ICR/DP (%)	IG/DP (%)
Co	99.0 ± 0,4	1	100
10 ug/L	83.0 ± 0,9	1.50 ± 0,7*	91.0 ± 0,9
100 ug/L	83.0 ± 0,9	1.49 ± 0,9*	93.5 ± 0,9
1,000 ug/L	88.0 ± 0,8	1.11 ± 0,8*	94.5 ± 0,8
<i>Avena fatua</i> L.			
TR	G/DP (%)	ICR/DP (%)	IG/DP (%)
Co	96.0 ± 0,8	1	100
10 ug/L	46.0 ± 0,9*	0.35 ± 0,5*	16.3 ± 0,5*
100 ug/L	40.0 ± 0,9*	0.32 ± 0,5*	13.3 ± 0,5*
1,000 ug/L	47.0 ± 0,3*	0.75 ± 0,5*	36.7 ± 0,7*
<i>Lycopersicum esculentum</i> Mill.			
TR	G/DP (%)	ICR/DP (%)	IG/DP (%)
Co	99.0 ± 0,5	1	100
10 ug/L	35.0 ± 0,8*	0.50 ± 0,5*	17.6 ± 1,1
100 ug/L	29.0 ± 0,5*	0.60 ± 0,7*	17.5 ± 0,9
1,000 ug/L	33.0 ± 0,5*	0.45 ± 0,5*	15.0 ± 0,9
<i>Lactuca sativa</i> L.			
TR	G/DP (%)	ICR/DP (%)	IG/DP (%)
Co	99.0 ± 0,7	1	100
10 ug/L	49.0 ± 0,7*	0.75 ± 0,6*	36.7 ± 0,9*
100 ug/L	50.0 ± 0,5*	0.79 ± 0,5*	39.8 ± 0,4*
1,000 ug/L	45.0 ± 0,7*	0.61 ± 0,6*	27.7 ± 0,9*
<i>Daucus carota</i> L.			
TR	G/DP (%)	ICR/DP (%)	IG/DP (%)
Co	95.0 ± 1,0	1	100
10 ug/L	49.0 ± 1,3*	0.41 ± 0,6*	20.5 ± 1,0*
100 ug/L	47.0 ± 0,9*	0.40 ± 0,5*	18.9 ± 0,8*
1,000 ug/L	33.0 ± 0,8*	0.43 ± 0,6*	14.9 ± 0,9*
<i>Taraxacum officinale</i> F.H. Wigg.			
TR	G/DP (%)	ICR/DP (%)	IG/DP (%)
Co	90.0 ± 0,9	1	100
10 ug/L	13.0 ± 0,5*	-	-
100 ug/L	9.0 ± 0,8*	-	-
1,000 ug/L	5.0 ± 0,8*	-	-

TR: Tratamento, G: Germinação, DP: Desvio Padrão, ICR: Índice de Crescimento Relativo, IG: Índice de Germinação, Co: Controle. -: não calculado. *Diferenças significativas em relação ao Co segundo teste H de Kruskal-Wallis seguido de teste post hoc de Dunn ($p \leq 0,05$).

Fonte: A autoria própria (2023)

De acordo com Frâncica et al. (2022) o corante Verde Rápido tem capacidade de alterar o ciclo celular em tecidos de intensa proliferação celular, como tecidos meristemáticos em plantas. Tais eventos, segundo Nunes et al., (2016), causam redução significativa no *turn over* celular e alteram a síntese proteica do tecido ou órgão onde ocorrem, prejudicando significativamente o crescimento e desenvolvimento em plantas e animais.

Não foram encontrados estudos de avaliação de toxicidade do corante Verde Rápido em organismos de solo.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados de fitotoxicidade obtidos sugere-se que o Corante Verde Rápido é prejudicial a plantas podendo causar a morte desses organismos em fase inicial de desenvolvimento. Com base na literatura, sugere-se que a redução no alongamento das raízes se dá por distúrbios na divisão celular. Em estudos futuros será de grande valia avaliar o ciclo celular em meristemas de raízes expostos a este corante, bem como o estresse oxidativo causado por ele.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a Universidade Tecnológica Federal do Paraná de Campo Mourão por cada fornecimento, a minha orientadora Ana Paula Peron pelas oportunidades, por tamanho aprendizado e companheirismo durante todo o desenvolvimento dos projetos, foram dois anos de crescimento pessoal e profissional, encerro essa fase com aprendizado e admiração imensuráveis por ela, e agradeço ainda a Fundação Araucária pela oportunidade e ainda aos departamentos por serem extremamente solícitos quando necessário. Ademais, agradeço também aos meus colegas de laboratório por cada auxílio e ensinamento nos momentos que foi preciso. E agradeço também minha família, por tamanho incentivo e apoio, sem eles não teria chego até aqui.

CONFLITO DE INTERESSE - Não há conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

Bacelar, E. A., Santos, D. L., Moutinho-Pereira, J. M., Lopes, J. I., Gonçalves, B. C., Ferreira, T. C., & Correia, C. M. (2007). Physiological behaviour, oxidative damage and antioxidative protection of olive trees grown under different irrigation regimes. *Plant and Soil*, 292, 1-12. <https://doi.org/10.1007/s11104-006-9088-1>. Acesso em: 2023.

Barros, D. G. C., Nascimento, G. C. S. G., Okon C., Rocha, M. B., Santo, D. E., Feitoza, L.L., Junior, O. V., Gonzalez, R. S., Souza, D. C., Peron A.P., (2023). Protetor solar benzofenonay causa fitotoxicidade e citogenotoxicidade em plantas superiores. *Environmental Science and Pollution Research*. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11356-023-30365-3>. Acesso em: outubro de 2023.

Biruk, L. N., Moretton, J., Iorio, A. F., Weigandt, C., Etcheverry, J., Filippetto, J., & Magdaleno, A. (2017). Toxicity and genotoxicity assessment in sediments from the

Matanza-Riachuelo river basin (Argentina) under the influence of heavy metals and organic contaminants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 135, 302-311. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.09.024>. Acesso em: setembro de 2023

Frâncica LS, Gonçalves EV, Santos AA, Vicente YS, Silva TS, Gonzalez RS, Peron AP (2022) Antiproliferative, genotoxic and mutagenic potential of synthetic chocolate flavor for food. *Braz J Biol* 82. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.243628>. Acesso em: agosto de 2023.

Hussain, S., Khan, N., Gul, S., Khan, S., & Khan, H. (2020). Contaminação de recursos hídricos por corantes alimentares e suas tecnologias de remoção. *Química da Água*, 1-14. Acesso em: setembro de 2023.

John, A., Luqman, M., Maomé, S., Hanif, U., Sardar, A. A., Ali, S., ... & Awan, M. U. F. (2023). Genotoxicidade de corantes sintéticos de alimentos sobre bactérias fixadoras de nitrogênio em terras agrícolas irrigadas com águas residuárias de indústrias correspondentes. *Sustentabilidade*, 15(4), 2897. Acesso em: setembro de 2023.

Mañas, P., & Heras, J. (2017). Phytotoxicity test applied to sewage sludge using *Lactuca sativa* L. and *Lepidium sativum* L. seeds. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 15, 273-280. <https://doi.org/10.1007/s13762-017-1386-z>. Acesso em: agosto de 2023.

Nascimento, G. C. S. G., Dusman, E., Gonzalez, R. S., Nicola, J. V., Moura, M. A. S., Oliveira, K. M., Peron, A. P. (2023). Toxicity of methylparaben and its chlorinated derivatives to *Allium cepa* L. and *Eisenia fetida* Sav. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(20), 57850-57861. Acesso em: agosto de 2023.

Rodila, R., Villaverde-de-Saa, E., Cobas, J., Quintana, J. B., Cela, R., & Carro, N. (2019). Legacy and emerging pollutants in marine bivalves from the Galician coast (NW Spain). *Environment International*, 129, 364-375. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.05.018>. Acesso em: Agosto de 2023.

OECD (Organization for Economic Cooperation and Development) 2006. Testing Guideline No. 208: Land Plants: Growth Test. <https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-208-terrestrial>. Acesso em: setembro de 2023.

Santos, A. A. (2022). Citotoxicidade e genotoxicidade do corante alimentar azul jeans a tecido de intensa proliferação celular. <https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/31083>. Acesso em: setembro de 2023.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA. Química Interativa. s/d. Disponível em: https://qnint.s bq.org.br/qni/popup_visualizarMolecula.php?id=p7tZ3jDfmyD0g1_yCoj8pKJyRXzoKql8sEnZzCIEN4Xlducf-_gPZJ6IKCUD-h2wKofg==. Acesso em: outubro de 2023.

USEPA (US Environmental Protection Agency) 1996. Ecological Effects Test Guidelines. 850.4200: Seed germination/root elongation toxicity test. Oppts Eco-Effect Guide, 850 series. https://cfpub.epa.gov/si/si_public_record_Report.cfm?Lab=ORD&dirEntryID=47927 Acesso em: setembro de 2023.