

INFLUÊNCIA DA ESTRUTURA QUÍMICA DE CORANTES SINTÉTICOS NA SUA TOXICIDADE PARA SEMENTES DE ALFACE

Márcio Daniel Nicodemos Ramos⁽¹⁾

Graduado em Engenharia de Bioprocessos - Universidade Federal de Itajubá (UNIFEI)

Mestre e Doutorando em Engenharia Química - Universidade Federal de São Carlos (UFSCar)

Luiz Felipe Junqueira Ferraz⁽²⁾

Graduando em Engenharia Química - Universidade Federal de Itajubá (UNIFEI)

Paulo Sergio Marques⁽³⁾

Graduado em Gestão Pública - Uninter

Mestre em Engenharia de Materiais - Universidade Federal de Itajubá (UNIFEI)

André Aguiar⁽⁴⁾

Engenheiro Químico - Universidade de São Paulo (USP/EEL)

Doutor em Biotecnologia Industrial - Universidade de São Paulo (USP/EEL)

Professor Associado IV - Universidade Federal de Itajubá (UNIFEI)

Endereço⁽⁴⁾: Av. BPS, 1303 - Pinheirinho - Itajubá - MG - CEP: 37500-903 - Brasil - Tel: +55 (35) 3629-1803 - e-mail: aguiar@unifei.edu.br

RESUMO

Lavanderias comerciais geram grande quantidade de efluente que geralmente é descartado na rede de esgoto. Tal água residuária contém corantes que se desprendem das peças têxteis durante a lavagem e no processo de tingimento. Essas moléculas podem ser tóxicas para diferentes organismos-teste, além de muitas serem mutagênicas/carcinogênicas. Este trabalho avaliou a toxicidade de dez corantes sintéticos em solução aquosa ($40 \mu\text{mol.L}^{-1}$), sendo comparados entre si quanto aos seus diferentes grupos funcionais e massa molecular. Os testes de toxicidade utilizaram sementes de *Lactuca sativa* (Alface Americana e Alface Giovana) como organismos-teste por 5 dias a 25 °C. A toxicidade para as duas sementes de alface apresentaram diferenças marcantes. Considerando o crescimento radicular, o Amarelo Reativo 2 foi inibitório para a alface Giovana, mas estimulante para a Americana. A maioria dos corantes apresentou efeito inibitório para as duas sementes ao considerar o crescimento de ambos radícula e hipocótilo. Amarelo Reativo 2, Preto Reativo 5 e Vermelho Congo apresentaram efeito oposto para alface Americana, enquanto somente o Pardo de Bismarck Y estimulou o crescimento do hipocótilo da alface Giovana. Não houve relação entre toxicidade e grupos funcionais (por exemplo $-\text{NH}_2$, $-\text{N}=\text{N}-$, SO_3^-) presentes nas moléculas dos corantes e de suas massas moleculares.

PALAVRAS-CHAVE: Corantes, Toxicidade, Efluente de lavanderia.

INTRODUÇÃO

O saneamento básico compreende desde o abastecimento de água, esgotamento sanitário, serviços de coleta e tratamento, coleta e descarte de resíduos sólidos municipais, limpeza urbana, além de drenagem e gestão de água da chuva. Cerca de 80% da água distribuída para consumo humano é convertido em esgoto doméstico, ao qual são incorporados diferentes resíduos, matéria orgânica e nutrientes. Para o ano de 2022, o Sistema Nacional de Saneamento (SNIS) havia divulgado que 6 bilhões de m^3 de esgoto foram coletados, atendendo 55,8% da população brasileira (SNIS, 2023).

Um efluente que é comumente descartado na rede coletora de esgoto doméstico é aquele gerado pelas lavanderias comerciais. Um problema deste tipo de efluente é a presença de diversos corantes sintéticos que se desprendem dos tecidos no processo de lavagem ou aqueles provenientes de etapas de tingimento (Braga e Varesche, 2014; Nascimento et al., 2019). Tais moléculas prejudicam a qualidade estética dos corpos hídricos quando o esgoto descartado não é tratado. Além disso, esses poluentes aumentam a concentração de matéria orgânica, prejudicam a fotossíntese, inibem o crescimento de plantas, podem se bioacumular em tecido vivo, e muitos deles apresentam toxicidade, mutagenicidade e/ou carcinogenicidade (Al-Tohamy et al, 2022).

Uma forma de avaliar se uma dada molécula pode causar danos à uma planta é realizar ensaios de fitotoxicidade, que consistem em manter a molécula em contato com o vegetal (geralmente com sementes) sob condições controladas de pH e temperatura. Tal efeito pode ser avaliado como um atraso na germinação das sementes sob análise, inibição do crescimento vegetativo ou efeito adverso causado por substâncias específicas denominadas fitotoxinas (Blok et al., 2008).

Diante desse contexto, o presente estudo teve como objetivo comparar diferentes corantes sintéticos, preparados separadamente em concentrações iguais em solução aquosa, quanto aos seus efeitos tóxicos sobre sementes de alface, um vegetal muito usado em ensaios de toxicidade (Nippes et al., 2021; Santos et al., 2020). Deve-se enfatizar, que o presente trabalho possui relevância, pois vai ao encontro de dois dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável: o sexto que é “Água potável e saneamento” e o décimo quarto “Vida na água” (ROMA, 2019).

METODOLOGIA

Como organismos teste nos ensaios de toxicidade, este estudo avaliou duas espécies de sementes comerciais de alface (*Lactuca sativa*): Americana e Giovana. Inicialmente, os ensaios de fitotoxicidade foram avaliados para soluções contendo apenas os corantes sintéticos ($40 \mu\text{mol.L}^{-1}$) em pH 7,0. Os corantes avaliados e algumas de suas características são mostrados na Tabela 1. Adicionalmente, dois controles foram feitos, um com o uso de água deionizada como controle negativo e o outro com ácido bórico 3% m/v como controle positivo (Santos et al., 2020).

Tabela 1 – Características moleculares dos corantes estudados.

| Corante | Massa molecular (g.mol^{-1}) | Concentração (mg.L^{-1}) | Classe | -N=N- | Anel Aromático | -SO ₃ Na | -OH | -CH ₃ | -NH ₂ |
|----------------------|---|-------------------------------------|-------------------------|-------|----------------|---------------------|-----|------------------|------------------|
| Vermelho de Fenol | 354,38 | 14,18 | Trifenilmetileno | 0 | 3 | 1 | 2 | 0 | 0 |
| Preto Reativo 5 | 991,82 | 20,67 | Azo | 2 | 4 | 4 | 1 | 0 | 1 |
| Pardo de Bismarck Y | 388,47 | 15,54 | Azo | 2 | 3 | 0 | 0 | 0 | 4 |
| Rodamina B | 479,02 | 19,16 | Xanteno | 0 | 2 | 0 | 1 | 4 | 0 |
| Alaranjado de Metila | 327,33 | 13,09 | Azo | 1 | 2 | 1 | 0 | 2 | 0 |
| Safranina T | 350,84 | 14,03 | Tiazina | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 | 2 |
| Cromotrope 2R | 468,37 | 18,73 | Azo | 1 | 2 | 2 | 2 | 0 | 0 |
| Amarelo Reativo 2 | 831,02 | 33,24 | Azo | 2 | 3 | 3 | 1 | 1 | 0 |
| Vermelho Congo | 696,66 | 27,87 | Azo | 2 | 6 | 2 | 0 | 0 | 2 |
| Azul de Metileno | 319,85 | 12,79 | Heterocíclico (Tiazina) | 0 | 1 | 0 | 0 | 4 | 0 |

Fonte: Autores.

Em placas de Petri (60 x 15 mm) foram dispostas 6 sementes em contato com 4 mL de amostra (solução de corantes ou controles) sob um papel de filtro. Após 120 h (5 dias) de incubação a 25 °C no escuro (Nippes et al., 2021), foram contabilizadas as sementes germinadas ou não. Sementes em que as radículas não eram aparentes ou menores que 0,2 mm não foram consideradas germinadas. Das sementes germinadas, os comprimentos de hipocótilo e radícula foram medidos com o auxílio de um paquímetro digital (Stainless Hardened, Jomarca), além de quantificar o número de cotilédones presentes.

Por meio dos dados mencionados acima foi calculado o Índice de Germinação (IG) (Equação 1) conforme Nippes et al. (2021). O Índice de Crescimento Relativo (ICR) do hipocótilo e da radícula foi calculado usando a Equação 2. Os resultados do ICR foram classificados conforme mostra a Tabela 2.

$$IG (\%) = \left(\frac{N^{\circ} \text{ de sementes germinadas}}{N^{\circ} \text{ de sementes totais}} \right) \times 100 \quad (1)$$

$$ICR = \frac{\text{Comprimento médio da raiz/caule da amostra}}{\text{Comprimento médio da raiz/caule do controle negativo}} \quad (2)$$

Tabela 2 – Classificação do efeito relacionado ao valor de ICR.

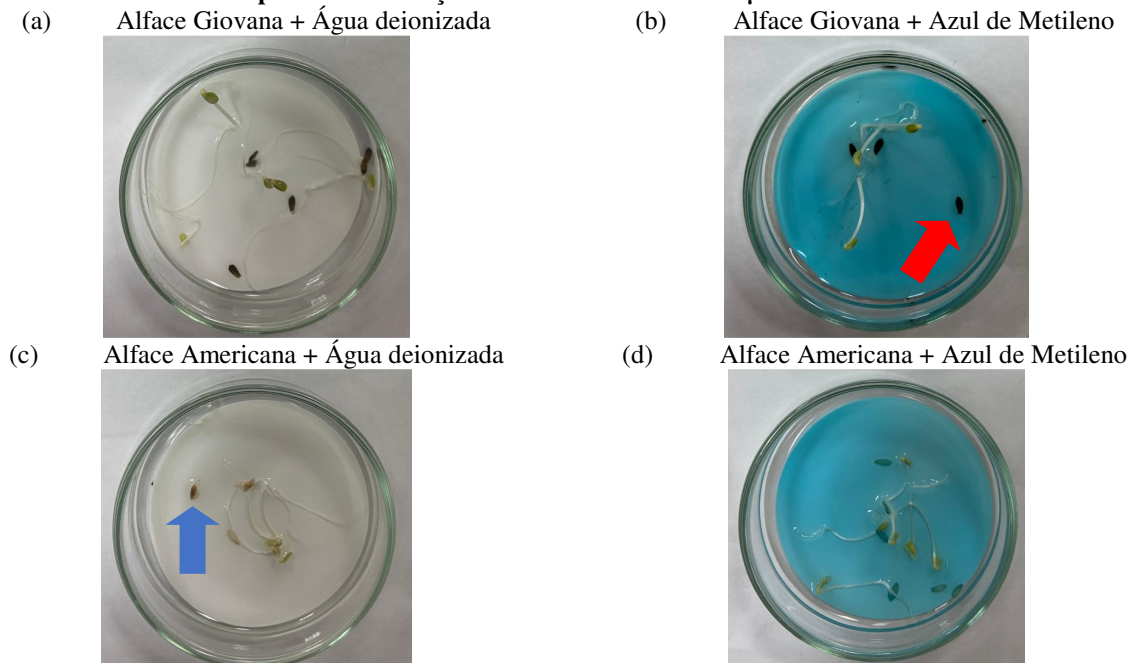
| Valor do ICR | Efeito |
|-------------------|-------------------|
| $0 < ICR < 0,8$ | Inibição |
| $0,8 < ICR < 1,2$ | Não significativo |
| $ICR > 1,2$ | Estimulação |

Fonte: Priac et al. (2017) e Sá et al. (2021).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente, foi realizada uma análise qualitativa das sementes de alface. Um exemplo está presente na Figura 1 que contempla os experimentos do controle positivo (com água deionizada; Figuras 1a e 1c) e com o corante Azul de Metileno (Figuras 1b e 1d) para ambas as sementes de alface. Visualmente, foi possível perceber que uma semente da alface Giovana não germinou conforme mostra a seta vermelha da Figura 1b. Vale destacar que, após germinar, uma película da semente se soltou, a qual não pode ser confundida com a semente não germinada. Essa película pode ser vista na Figura 1c, apontada pela seta azul.

Figura 1: Ensaios de toxicidade com sementes de Alface Giovana e Americana na presença de água deionizada como controle positivo ou solução de Azul de Metileno $40 \mu\text{mol.L}^{-1}$.

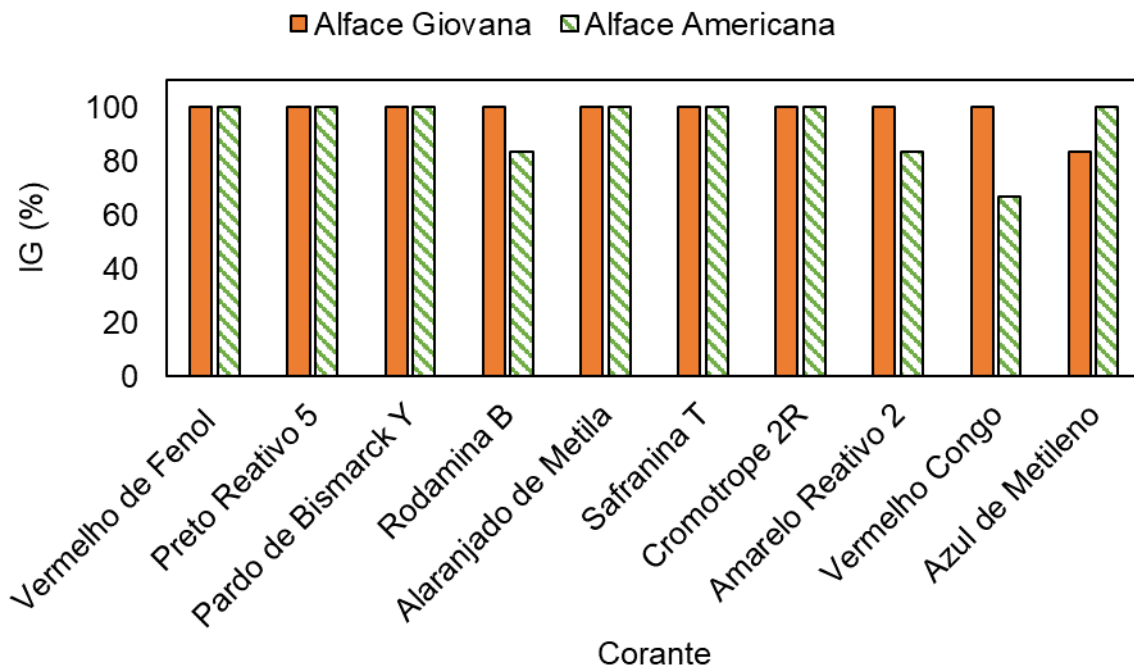


Fonte: Autores.

Conforme mostra a Figura 2, foi verificado que os IGs relacionados a alface Giovana foram maiores que a Americana, exceto para o Azul de Metileno (IG = 83,3%). Para nove dos corantes testados foi verificado 100% de germinação da alface Giovana, enquanto para a Americana foram 7 corantes que permitiram esse mesmo resultado. Com os outros 3 corantes, foram verificados IGs de 83,3% com Rodamina B e Amarelo Reativo 2, e

66,7% com Vermelho Congo. O controle positivo com água deionizada apresentou IG de 100%, enquanto que o controle negativo com ácido bórico 3% teve IG de 0%. Destaca-se que 2 dos corantes que apresentaram IG inferior a 100% de germinação são do tipo azo. Isso indica que espécies diferentes de alface podem apresentar interações distintas com os corantes, sendo que os corantes foram mais tóxicos para a alface Americana a considerar este primeiro índice. Moawad et al. (2003) analisaram a germinação de diferentes plantas-alvo submetidas a diferentes corantes e o efeito adverso máximo encontrado foi devido ao corante amarelo *Fast Scarlet*, sendo que os IGs de sementes de alface e tomate foram reduzidas para 15% e 10% após 6 e 11 dias de contato, respectivamente. O trigo, por sua vez, foi resistente ao corante, pois sua germinação foi alta (85-95%). A germinação das sementes de trevo diminuiu com o aumento da concentração de corantes (50, 150, 300 mg/L) para a maioria dos corantes testados. Ao comparar com os dados do presente estudo, geralmente, a germinação foi alta, pois somente quatro corantes propiciaram germinação inferior a 100%, e para somente um tipo de semente de alface. Nos casos onde houve redução, notou-se queda de 17 e 33% dos IGs. Dentre os três corantes que apresentaram redução, Amarelo Reativo 2 e Vermelho Congo são os corantes em maior concentração (em mg.L⁻¹), podendo haver relação entre concentração de corante e germinação.

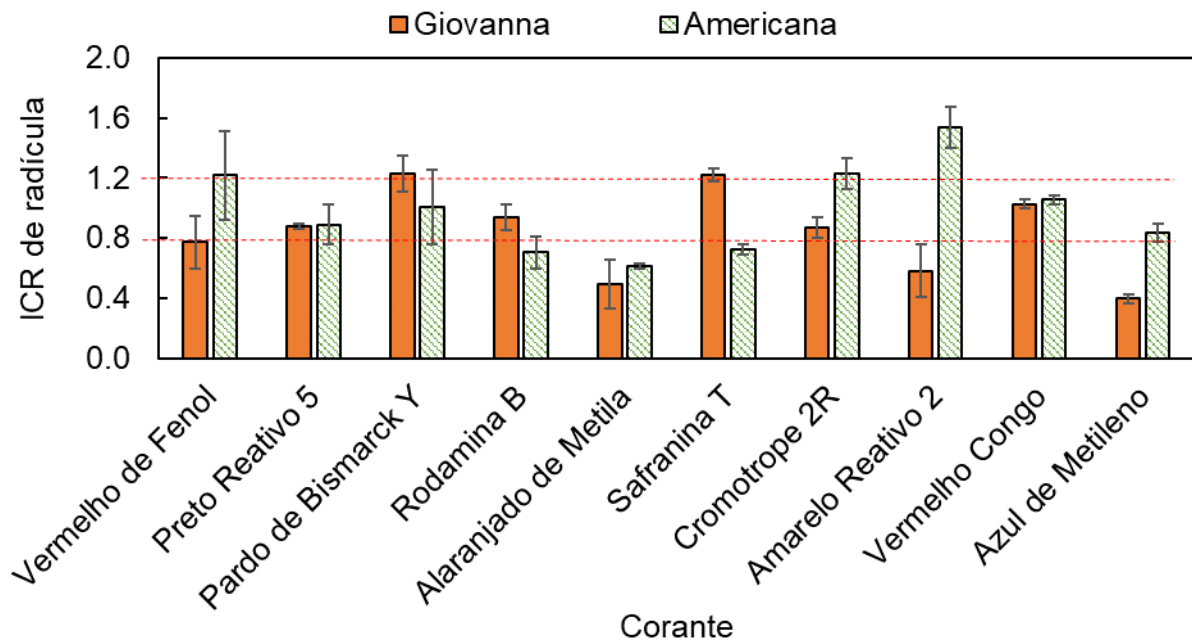
Figura 2: IGs obtidos em testes de fitotoxicidade com dois tipos de semente de alface na presença de dez corantes sintéticos.



Fonte: Autores.

Como pode ser visto na Figura 3, os valores de ICR da radícula apresentaram variações significativas. Ao analisar o ICR da radícula da alface Giovana foi notado que os corantes Alaranjado de Metila, Amarelo Reativo 2, Azul de Metileno foram inibitórios, pois apresentaram valores de ICR inferiores a 0,8 (0,49; 0,58; 0,40; respectivamente). Os dois primeiros corantes são azo e o terceiro é heterocíclico. Com os demais corantes os efeitos não foram significativos. Para a alface Americana, somente os corantes Alaranjado de Metila e Safranina T apresentaram inibição, sendo os valores iguais a 0,61 e 0,73, respectivamente. O ICR para o Amarelo Reativo 2 foi de 1,54, indicando que este corante estimulou o crescimento da radícula. Nesse caso, destaca-se que os demais corantes não apresentam efeito significativo, pois os valores variaram entre 0,8 e 1,2.

Figura 3: ICR obtido a partir dos dados da radícula em testes de fitotoxicidade com dois tipos de semente de alface na presença de diferentes corantes sintéticos.



Fonte: Autores.

Ao avaliar o ICR do hipocótilo (Figura 4), também foi possível verificar variações significativas. Para a alface Giovana, os corantes Vermelho de Fenol, Rodamina B e Safranina T apresentaram inibição (ICR = 0,54; 0,56; 0,66; respectivamente). O corante Pardo de Bismarck Y apresentou efeito de estimulação com um ICR de 1,34, enquanto os demais foram insignificantes. Para a alface Americana, nenhum dos corantes apresentou inibição, enquanto o Preto Reativo 5, Amarelo Reativo 2 e Vermelho Congo estimularam o desenvolvimento do hipocótilo, com valores de ICR iguais a 1,48, 1,58 e 1,44, respectivamente.

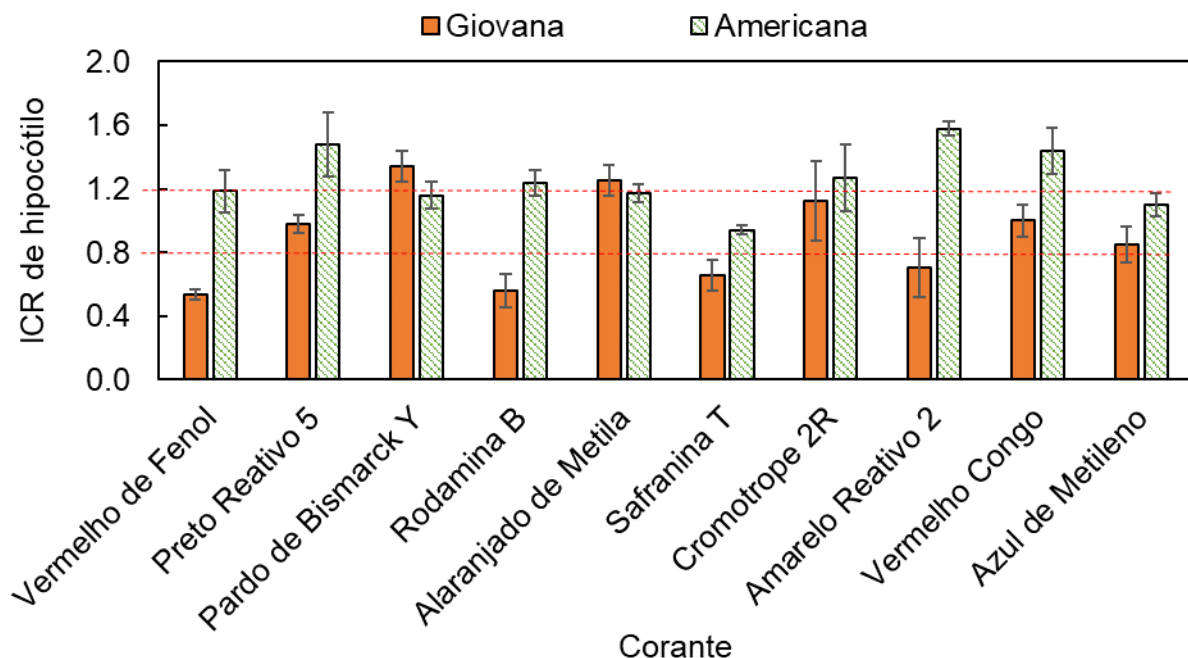
Em relação ao número de cotilédones, como as alfases só apresentaram 1 ou 2 cotilédones após a germinação, não foi possível notar algum efeito de toxicidade. Diante de todos os dados em estudo, foi notado que os corantes causaram diferentes efeitos nas duas sementes de alface.

Dentre os dez corantes sintéticos, sete apresentaram efeito de inibição: Alaranjado de Metila, Amarelo Reativo 2, Vermelho Congo, Vermelho de Fenol, Azul de Metileno, Rodamina B, Safranina T. Tais corantes pertencem à classes diferentes: os três primeiros são azocorantes, o quarto é um trifenilmetileno, o quinto é heterocíclico, depois um xanteno e um tiazina, respectivamente. Por outro lado, os azo corantes Amarelo Reativo 2, Preto Reativo 5 e Vermelho Congo apresentaram efeito de estimulação. Destaca-se que existem corantes que apresentaram inibição ou estimulação dependendo da espécie de alface, demonstrando que uma mesma molécula causa efeitos distintos em plantas-alvo diferentes. Foi observado também que os efeitos de estimulação ou inibição não são relacionados a uma determinada classe de corantes. Em relação aos diferentes grupos funcionais e suas quantidades nas moléculas dos corantes (Tabela 1), não foi observada influência de nenhum deles na fitotoxicidade. Ao compara a concentração dos corantes utilizados no presente trabalho, Azul de Metileno e Alaranjado de Metila que foram utilizados em menores concentrações (em torno de 13 mg.L⁻¹) apresentaram menor ICR de radícula. Ou seja, mesmo em menor quantidade, já foram tóxicos para as sementes em estudo.

Foi possível também verificar que, mesmo sendo testados em baixa concentração, 40 µmol.L⁻¹ (13-33 mg.L⁻¹) muitos corantes foram tóxicos. Moawad et al. (2003) reportaram que, embora os valores do comprimento da radícula tenham diminuído devido a qualquer aplicação do corante amarelo *Fast Scarlet*, os efeitos de toxicidade significativos foram registrados com as concentrações mais altas desses poluentes (150-300 mg.L⁻¹). Baptistella et al. (2021) estudaram a toxicidade dos corantes Azul de Metileno e Preto Reativo 5 na

concentração de 20 mg.L⁻¹, enquanto aqui foram estudadas as concentrações de 12.79 e 20.67 mg.L⁻¹, respectivamente. Os IGs reportados por esses autores foi de 63% e 107%, enquanto o ICR da radícula foi igual a 0,61 e 1,03, respectivamente. Comparando estes dados com os dados da alface Giovana do presente trabalho, foi notado que os valores referentes ao Preto Reativo 5 foram bem semelhantes, mas a toxicidade do Azul de Metileno foi maior para os dados de Baptistella et al. (2021) quando a concentração foi um pouco maior, corroborando o que foi observado por Moawad et al. (2003). Adicionalmente, foi notado que o comportamento do Azul de Metileno ser mais tóxico que o Preto Reativo 5 foi semelhante para com os experimentos com Alface Giovana com base nos dois índices (IG e ICR) avaliados no presente trabalho. Ao comparar com os dados da alface Americana, não foi observado esse mesmo perfil, pois o IG foi de 100% para ambos. É importante ressaltar que na literatura não se costuma especificar a espécie da semente de alface testada, não estando explícito se é Giovana, Americana ou outra e isso prejudica uma mais apropriada análise comparativa.

Figura 4: ICR obtido a partir dos dados do hipocótilo em testes de fitotoxicidade com dois tipos de semente de alface na presença de diferentes corantes sintéticos.



Fonte: Autores.

CONCLUSÃO

A toxicidade de dez corantes sintéticos usando dois organismos-teste, especificamente duas espécies de *Lactuca sativa* (Alface Americana e Alface Giovana) foi estudada. Ao analisar o Índice de Germinação, Azul de Metileno, Rodamina B, Vermelho Congo e Amarelo Reativo 2 apresentaram toxicidade. Em relação aos Índices de Crescimento Relativo do hipocótilo e da radícula, Alaranjado de Metila, Safranina T, Amarelo Reativo 2, Azul de Metileno, Vermelho de Fenol e Rodamina B apresentaram efeito inibitório. Por outro lado, Vermelho Congo, Amarelo Reativo 2, Preto Reativo 5 apresentaram efeito de estimulação. Com isso, foi possível constatar que alguns corantes inibiram e/ou estimularam dependendo da planta-alvo. Embora os ensaios de toxicidade tenham sido realizados com concentrações bem baixas de corantes (13-33 mg.L⁻¹), essas moléculas presentes em efluentes de lavanderia necessitam ser removidas e/ou degradadas nas estações de tratamento de esgoto pois apresentam toxicidade. Caso o município não possua estações de tratamento, essas substâncias são diretamente descartadas, podendo causar impactos negativos nos cursos hídricos e consequentemente nas diferentes formas de vida ali presentes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AFFAT, S.S. *Classifications, advantages, disadvantages, toxicity effects of natural and synthetic dyes: a review. University of Thi-Qar Journal of Science*, v. 8, n. 1, p. 130-135, 2021.
2. AL-TOHAMY, R., ALI, S.S., LI, F., OKASHA, K.M., MAHMOUD, Y.A.-G., ELSAMAHY, T., JIAO, H., FU, Y. SUN, J. *A critical review on the treatment of dye-containing wastewater: Ecotoxicological and health concerns of textile dyes and possible remediation approaches for environmental safety. Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 231, 113160, 2022.
3. BAPTISTTELLA, A.M.S., ARAUJO, C.M.B., SILVA, M.P., NASCIMENTO, G. F. O., COSTA, G.R.B., DO NASCIMENTO, B.F., COSTA, G.R.B., NASCIMENTO, B.F., GHISLANDI, M.G., MOTTA SOBRINHO, M.A. *Magnetic Fe₃O₄-graphene oxide nanocomposite – synthesis and practical application for the heterogeneous photo-Fenton degradation of different dyes in water. Separation Science and Technology*, v. 56, p. 425–438, 2021.
4. BLOK, C., KREIJ, C.D., BAAS, R., WEVER, G. *Analytical methods used in soilless cultivation. In Soilless Culture: Theory and Practice*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2008.
5. BRAGA, J.K., VARESCHE, M.B.A. *Commercial laundry water characterization, American Journal of Analytical Chemistry*, v. 5, n.1, p. 8-16, 2014.
6. MOAWAD, H., EL-RAHIM, W.M.A., KHALAFALLAH, M. *Evaluation of biotoxicity of textile dyes using two bioassays. Journal of Basic Microbiology*, v. 43, n. 3, p. 218–229, 2003.
7. NASCIMENTO, C.O.C., VEIT, M.T., PALÁCIO, S.M., GONÇALVES, G.C., FAGUNDES-KLEN, M.R. *Combined Application of Coagulation/Flocculation/Sedimentation and Membrane Separation for the Treatment of Laundry Wastewater. International Journal of Chemical Engineering*, v. 2019, 8324710, 2019.
8. NIPPES, R.P., MACRUZ, P.D., SCALIANTE, M.H.N.O. *Toxicity reduction of persistent pollutants through the photo-fenton process and radiation/H₂O₂ using different sources of radiation and neutral pH. Journal of Environmental Management*, v. 289, 112500, 2021.
9. PRIAC, A., BADOT, P.M., CRINI, G. *Évaluation de la phytotoxicité d'eaux de rejets via Lactuca sativa: paramètres des tests de germination et d'élongation. Comptes Rendus – Biol*, v. 340, p. 188–194, 2017.
10. ROMA, J.C. *Os objetivos de desenvolvimento do milênio e sua transição para os objetivos de desenvolvimento sustentável. Ciência e Cultura*, v. 71, n. 1, 2019.
11. SÁ, R.D., RODRÍGUEZ-PÉREZ, A.P., RODRIGUES-SILVA, F., DE PAULA, V.D.C.S., PROLA, L.D.T., FREITAS, A.M., CARVALHO, K.Q., LIZ, M.V. *Treatment of a clinical analysis laboratory wastewater from a hospital by photo-Fenton process at four radiation settings and toxicity response. Environmental Science and Pollution Research*, v. 28, p. 24180-24190, 2021.
12. SANTOS, M.M.M., SILVA, T.D., LUCENA, A.L.A., NAPOLEÃO, D.C., DUARTE, M.M.M. *Degradation of Ketoprofen, Tenoxicam, and meloxicam drugs by photo-assisted peroxidation and photo-Fenton processes: identification of intermediates and toxicity study. Water, Air, & Soil Pollution*, v. 231, 35, 2020.
13. SNIS – SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES SOBRE SANEAMENTO. Diagnóstico temático: Serviços de água e esgoto. Disponível em: <https://www.gov.br/cidades/pt-br/aceso-a-informacao/aco-es-programas/saneamento/snis/diagnosticos-anteriores-do-snis/agua-e-esgotos-1/2021>. Acesso em: 03/06/2024