

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

LETÍCIA SCALA FRÂNCICA

**ECOTOXICIDADE DOS CORANTES AZUL BRILHANTE FCF E VERDE FOLHA
FRENTE A *Artemia salina* Leach, *Lactuca sativa* L. E *Allium cepa* L.**

CAMPO MOURÃO

2020

LETÍCIA SCALA FRÂNCICA

**ECOTOXICIDADE DOS CORANTES AZUL BRILHANTE FCF E VERDE FOLHA
FRENTE A *Artemia salina* Leach, *Lactuca sativa* L. E *Allium cepa* L.**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Ambiental, do Câmpus Campo Mourão, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientadora: Prof. Dr. Ana Paula Peron

Co-orientadora: Prof. Dr. Flávia Vieira da Silva Medeiros

CAMPO MOURÃO

2020



**TERMO DE APROVAÇÃO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO
INTITULADO**

ECOTOXICIDADE DOS CORANTES AZUL BRILHANTE FCF E VERDE FOLHA
FRENTE A *Artemia salina* Leach, *Lactuca sativa* L. E *Allium cepa* L.

DA DISCENTE
LETÍCIA SCALA FRÂNCICA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado no dia 02 de dezembro de 2020 ao Curso Superior de Engenharia Ambiental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Campo Mourão. A acadêmica foi arguida pela Comissão Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a comissão considerou o trabalho aprovado.

Avaliadora 1 – Prof^ª. Dr^ª. Cristiane Kreutz

Avaliadora 2 – Prof^ª. Dr^ª. Morgana Suszek Gonçalves

Co-orientadora – Prof^ª. Dr^ª. Flávia Vieira da Silva
Medeiros

Orientadora – Prof^ª. Dr^ª. Ana Paula Peron

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer minha família: ao meu pai Ronaldo Frâncica Filho, a minha mãe Viviane Scala Frâncica, a minha avó Yolanda Guilen, ao meu irmão Felipe Scala Frâncica e minha cunhada Ana Carolina Pazzotto Abe, que fizeram desse sonho possível e estiveram ao meu lado em todos os momentos, bons e ruins, a vocês meu mais sincero obrigada! Amo vocês!

Agradeço minha orientadora Prof^a Dr^a Ana Paula Peron, foram três anos de caminhada entre projeto de iniciação científica e trabalho de conclusão de curso que não vão ser esquecidos.

Agradeço a minha co-orientadora Prof^a Dr^a Flávia Vieira da Silva Medeiros; a professora responsável de TCC, Prof^a Marcia Aparecida de Oliveira e as avaliadoras da minha banca, a Prof^a Dr^a Cristiane Kreutz e a Prof^a Dr^a Morgana Suszek Gonçalves.

Agradeço ao Prof. Dr. Paulo Agenor Alves Bueno pela ajuda no trabalho e pelas dicas de vida.

Agradeço a todos os professores que passaram por mim e de alguma forma deixaram um pedacinho de vocês comigo. Vocês são incríveis por simplesmente se empolgarem em partilhar o conhecimento de vocês conosco, obrigada.

Agradeço ao Talles Neves de Toffoli, que mesmo sem me citar no TCC dele, mereceu esse espaço reservado só pra ele, pois sem o seu apoio, ajuda, suporte e muita paciência eu não teria chegado até aqui. Obrigada, eu amo você!

Agradeço ao meu amigo Felipe Macedo Alves, que foi meu maior parceiro nesses cinco anos, sem você eu não seria metade da pessoa que eu sou hoje. Agradeço também a minha amiga Bianca Wallid Gonçalves Awada, que chegou na minha vida só na metade do curso, mas fez meu período de faculdade extremamente mais feliz e suportável.

Agradeço especialmente ao meu colega, amigo, parceiro de casa, parceiro de estudos, parceiro de TCC: Éderson Vecchietti Gonçalves, o jeito que a gente não se aguenta mais é a forma mais sincera da nossa amizade, obrigada por tudo, te levarei pra sempre comigo!

Agradeço meus colegas e amigos que fizeram parte do projeto/TCC e de alguma forma contribuíram para que esse trabalho fosse realizado, a vocês, Éderson Vecchietti Gonçalves, Yuri Souza Vicente, Leonardo Borges Coletto Correia, Ana Caroline Zago Pestana, João Victor Nunes Nicola e Sabrina Altmeyer Mendes! Todos

os dias e noites no laboratório foram cansativos, mas vocês tornaram tudo mais divertido.

Agradeço ao meu amigo João Paulo Vitório Bianchi, mesmo longe nossa amizade ficou intacta, obrigada por estar sempre ao meu lado, amo você!

Agradeço a Universidade Tecnológica Federal do Paraná, pública, gratuita e de qualidade, pela incrível estrutura e oportunidades únicas!

Enfim, sintam-se agradecidos todos aqueles que se fizeram fundamentais na minha trajetória pela faculdade. Obrigada!

“Eu quero ser tudo que sou capaz de me tornar.”

(Katherine Mansfield)

RESUMO

O crescimento industrial pode acarretar o aumento da poluição do meio ambiente, principalmente com relação aos poluentes emergentes despejados no meio hídrico. Corantes alimentícios e aqueles utilizados como excipientes na indústria farmacêutica são de difícil degradação, persistentes em meio aquoso e de ação tóxica pouco conhecida às espécies de ambientes aquáticos e terrestres, sendo categorizados como poluentes emergentes. Em vista disso, a ecotoxicologia tem como objetivo estudar os efeitos tóxicos de substâncias poluentes no meio ambiente. Realizou-se no presente estudo avaliações de toxicidade aguda em náuplios de *Artemia salina* Leach e a classificação da concentração letal mediana (CL₅₀) dos náuplios. Também foi realizado o teste de fitotoxicidade em sementes e radículas de *Lactuca sativa* L. e *Allium cepa* L., em que foram classificados os valores do Índice de Germinação (IG) e do Índice de Comprimento Relativo (ICR) para auxiliar as explicações dos resultados encontrados. Os testes foram aplicados para os corantes artificiais Azul Brilhante FCF e Verde Folha, bem como da associação entre eles. Em *A. salina* as concentrações testadas para o corante Verde Folha não apresentaram toxicidade; para o corante Azul Brilhante foi encontrada mortalidade de 3,33% dos náuplios nas concentrações de 50 e 100 mg·L⁻¹; e, em relação a associação dos corantes foi considerada a mortalidade de 10% dos náuplios nas concentrações de 10, 50 e 100 mg·L⁻¹. Para todas as concentrações dos corantes avaliados não houve a inibição na taxa de germinação de sementes de *L. sativa* e *A. cepa*. No entanto, promoveram inibição do crescimento radicular da espécie *L. sativa*, demonstrando potencial fitotóxico. Em relação a inibição das radículas para a espécie *A. cepa*, não foi verificada a fitotoxicidade. Os resultados obtidos no presente estudo sinalizam para a necessidade de mais testes ecotoxicológicos em diferentes bioensaios e concentrações para a determinação do risco ambiental quanto a presença desses corantes no ambiente.

Palavras-chave: ecotoxicologia; poluentes emergentes; corantes artificiais; bioindicadores.

ABSTRACT

Industrial growth can lead to an increase in environmental pollution, especially with regard to emerging pollutants dumped into the water environment. Food dyes and those used as excipients in the pharmaceutical industry are difficult to degrade, persistent in water environments and have little known toxicity in aquatic and terrestrial species, being categorized as emerging pollutants. In view of this, ecotoxicology aims to study the toxic effects of polluting substances on the environment. In the present study, acute toxicity assessments were carried out on *Artemia salina* Leach and the classification of the median lethal concentration (CL₅₀) of nauplii. Was also performed the test of phytotoxicity on seeds and roots of *Lactuca sativa* L. and *Allium cepa* L., and the values of the Germination Index (IG) and the Relative Length Index (ICR) were classified to help explain the results found. The tests were applied to artificial dyes Brilliant Blue FCF and Green Leaf, as well as the association between them. In *A. salina* the concentrations tested for the dye Green Leaf did not present toxicity; for the dye Brilliant Blue, mortality of 3.33% of nauplii was found at concentrations of 50 and 100 mg·L⁻¹; and, in relation to the association of dyes, mortality of 10% of nauplii was found in concentrations of 10, 50 and 100 mg·L⁻¹. The evaluated dyes did not inhibit the germination rate of *L. sativa* and *A. cepa* seeds. However, they promoted significant inhibition or reduction of root growth of the species *L. sativa*, demonstrating phytotoxic potential. In relation to root inhibition for species *A. cepa*, phytotoxicity was not verified. The results obtained in the present study indicate the need for more ecotoxicological tests in different bioassays and concentrations to determine the environmental risk regarding the presence of these dyes in the environment.

Keywords: ecotoxicology; emerging pollutants; artificial dyes; bioindicators.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura molecular do corante Azul Brilhante FCF	19
Figura 2 - Estrutura molecular do corante Amarelo Tartrazina	20
Figura 3 - Estrutura molecular do corante Azul Indigotina.....	21
Figura 4 - Náuplios de <i>Artemia salina</i> Leach recém-eclodidos.....	23
Figura 5 - Estrutura morfológica do estágio de germinação e plântula de <i>Lactuca sativa</i> L.	24
Figura 6 - Estrutura morfológica do estágio de germinação de <i>Allium cepa</i> L.	25
Figura 7 - Exemplo de tubos de ensaio em quintuplicata contendo corante e náuplios de <i>Artemia salina</i> Leach	28
Figura 8 - Exemplo de crescimento de radículas de <i>Lactuca sativa</i> L. após sete dias de incubação	30
Figura 9 - Exemplo de crescimento de radículas de <i>Allium cepa</i> L. após sete dias de incubação	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Porcentagem de mortalidade frente a náuplios de <i>Artemia salina</i> Leach após 24 horas de exposição aos corantes	32
Tabela 2 - Índice de Germinação de sementes de <i>Lactuca sativa</i> L. sobre o corante Azul Brilhante FCF, Verde Folha e a associação entre eles	33
Tabela 3 - Média dos comprimentos de radículas e desvio padrão e Índices de Crescimento de Radícula em <i>Lactuca sativa</i> L. sobre o corante Azul Brilhante FCF, Verde Folha e a associação entre eles	34
Tabela 4 - Índice de Germinação de sementes de <i>Allium cepa</i> L. sobre o corante Azul Brilhante FCF, Verde Folha e a associação entre eles	35
Tabela 5 - Média dos comprimentos de radículas e desvio padrão e Índices de Crescimento de Radícula em <i>Allium cepa</i> L. sobre o corante Azul Brilhante FCF, Verde Folha e a associação entre eles.....	36

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	13
3 JUSTIFICATIVA	14
4 REVISÃO DE LITERATURA	15
4.1 Poluentes emergentes em recursos hídricos	15
4.2 Corantes artificiais das indústrias farmacêuticas e alimentícias: problemática ambiental	16
4.2.1 Corante Azul Brilhante FCF.....	18
4.2.2 Corante Verde Folha	19
4.3 Bioensaios de toxicidade de compostos químicos e avaliação da qualidade ambiental	22
4.3.1 Avaliação de toxicidade de poluentes emergentes em <i>Artemia salina</i> Leach	22
4.3.2 Avaliação de fitotoxicidade de poluentes emergentes em <i>Lactuca sativa</i> L. ...	24
4.3.3 Avaliação de fitotoxicidade de poluentes emergentes em <i>Allium cepa</i> L.	25
5 MATERIAL E MÉTODOS	27
5.1 Teste de toxicidade em náuplios de <i>Artemia salina</i> Leach	27
5.2 Teste de fitotoxicidade em sementes e plântulas de <i>Lactuca sativa</i> L. e <i>Allium cepa</i> L.	29
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
7 CONCLUSÃO	38
REFERÊNCIAS	39

1 INTRODUÇÃO

Crescente é a preocupação da comunidade científica frente aos problemas ambientais, uma vez que o crescimento populacional e o aumento da atividade industrial e agrícola tornam os recursos naturais gradativamente escassos, caracterizando-os, cada vez mais, como um bem finito (OLIVEIRA; COELHO; MELO, 2018).

A água é um bem vital à saúde de seres vivos, porém, a ação antrópica tem comprometido a quantidade e a qualidade de águas naturais. Sabe-se que a atividade industrial favorece a disposição de compostos químicos poluentes em corpos d'água, e conseqüentemente interfere na dinâmica de diferentes ecossistemas. Alguns destes compostos são chamados de poluentes emergentes, ou seja, poluentes que se instalam no meio ambiente e são de difícil degradação (GARCÍA et al., 2011; LEAL et al., 2019). Dentre essas substâncias estão os pesticidas, compostos presentes em produtos de higiene pessoal, compostos presentes em protetores solares, medicamentos, hormônios, surfactantes, cafeína e aditivos alimentares e excipientes, como os corantes (DA SILVA; COLLINS, 2011; QUEIROZ; SOUSA; CORREIA, 2017).

Em geral, os corantes utilizados pelas indústrias de alimentos e farmacêutica, assim como pela indústria têxtil, são considerados poluentes emergentes, em função de possuírem estrutura química complexa de difícil degradação, e por serem persistentes em meio hídrico (SILVA et al., 2020). Tais poluentes são aditivos orgânicos constituídos por várias cadeias cíclicas, o que os tornam estáveis no ambiente. Também possuem grupos funcionais, como os grupos sulfônicos, que os proporcionam boa solubilidade em água (ADITIVOS E INGREDIENTES, 2009; CARDOSO et al., 2011).

Para o cumprimento dos padrões de lançamento de efluentes de acordo com a Resolução nº 430 de 2011 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), os efluentes das indústrias devem passar por tratamento antes de serem despejadas nos corpos d'água (BRASIL, 2011). No entanto, sabe-se que os corantes presentes nos efluentes industriais não são totalmente degradados por tratamentos convencionais físico-químico e biológico, de forma que parte desses aditivos são liberados em corpos hídricos, condição que pode ser significativamente tóxica a diferentes espécies (OLIVEIRA; COELHO; MELO, 2018).

Na indústria, os corantes possuem diferentes categorias, conforme a Resolução Nº 44 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA) (BRASIL, 1977), e do Informe Técnico Nº 68 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), onde 16 corantes são classificados como artificiais, dentre os quais estão o Azul Brilhante FCF, a Tartrazina e o Azul Indigotina (BRASIL, 2015).

A Tartrazina e Azul Indigotina podem ser utilizados nas indústrias alimentícias, farmacêuticas e têxteis combinados entre si, dando origem ao corante Verde Folha (CHARAMBA et al., 2018). Estes corantes são muito estudados em relação aos efeitos adversos causados aos seres humanos, porém, poucas são as informações sobre a toxicidade desses aditivos a outras espécies.

A ecotoxicologia tem como objetivo avaliar o potencial tóxico de substâncias poluentes a partir de ensaios com organismos vivos (MARIANI, 2019). Dessa forma, os náuplios de *Artemia salina*, por exemplo, são organismos testes com alta sensibilidade e utilizados em todo o mundo para avaliar a ecotoxicidade de poluentes de águas naturais, efluentes industriais e domésticos e de compostos químicos (MEYER et al., 1982, ROCHA et al., 2019). Possuem boa adaptação às condições ambientais adversas que resultam em altas densidades populacionais desses microcrustáceos, tornando esses organismos importantes indicadores de qualidade ambiental (MIODUSKI, 2014; ROSA et al., 2016).

Além disso, entre os testes internacionalmente aceitos pela *US Environmental Protection Agency* para a avaliação da qualidade ambiental estão os bioensaios em *Lactuca sativa* (alface) e *Allium cepa* (cebola) (LE et al., 2012; HERRERO et al., 2012). Suas sementes e plântulas são utilizados rotineiramente para determinar os efeitos tóxicos de compostos presentes em ambientes terrestres e corpos hídricos, sendo sensíveis inclusive a baixas concentrações (ZHAO et al., 2016).

Com base no que foi abordado, torna-se relevante avaliar a ecotoxicidade dos corantes Azul Brilhante FCF e Verde Folha frente aos sistemas testes mencionados.

2 OBJETIVOS

Avaliar os corantes Azul Brilhante FCF e Verde Folha, individualmente e associados entre si, em diferentes concentrações, frente à bioensaios de avaliação ecotoxicológica.

Para o cumprimento do objetivo geral, estabeleceu-se os seguintes objetivos específicos:

- Avaliar a toxicidade dos corantes por meio da taxa de mortalidade e determinação da concentração letal mediana (CL₅₀) em náuplios de *Artemia salina* Leach;
- Avaliar a fitotoxicidade dos corantes frente a germinação de sementes e alongamento de radículas em *Lactuca sativa* L.;
- Avaliar a fitotoxicidade dos corantes frente a germinação de sementes e alongamento de radículas em *Allium cepa* L..

3 JUSTIFICATIVA

Considerando a estrutura química complexa e de difícil degradação por processos convencionais de tratamento de efluentes habitualmente utilizados em indústrias, bem como à escassez de estudos sobre os efeitos adversos causados ao ambiente pelos corantes Azul Brillhante FCF e Verde Folha, justifica-se a avaliação da toxicidade causada por esses aditivos frente a diferentes bioensaios de análise ecotoxicológica.

As avaliações toxicológicas podem ser diferentes a partir de cada bioindicador (MAGALHÃES; FERRÃO FILHO, 2008). Dessa forma, os náuplios de *A. salina* e as sementes e radículas de *L. sativa* e *A. cepa* são boas opções de utilização para avaliação de ecotoxicidade de poluentes emergentes (MA et al., 2014; RAJABI et al., 2015; BORTOTI et al., 2016).

As diferentes concentrações testadas permitem que os resultados obtidos por meio desses bioensaios podem gerar subsídios que vão auxiliar na determinação do risco ambiental de poluentes emergentes, como os corantes, e podem contribuir na construção de regulamentos que estabelecem critérios para a liberação desses compostos no ambiente.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Poluentes emergentes em recursos hídricos

Os poluentes emergentes podem ser definidos como substâncias de origem natural ou sintética, que fazem parte de uma classe de novos compostos potencialmente tóxicos (SOUSA, 2011; NASCIMENTO; ARAÚJO; ALVAREZ, 2015). Têm-se como exemplo dessas substâncias os compostos químicos, presentes em produtos farmacêuticos, cafeína, produtos de higiene pessoal, hormônios, pesticidas, herbicidas, surfactantes e corantes (DA SILVA; COLLINS, 2011; QUEIROZ; SOUSA; CORREIA, 2017).

Esses poluentes são tema de preocupação para a comunidade científica e agências regulamentadoras, pois o acúmulo dessas substâncias, continuamente descarregadas nas matrizes ambientais, podem causar efeitos tóxicos ainda não determinados (HERRERO et al., 2012; GEISSEN et al., 2015; LIMA; STACHIW; MILITÃO, 2019). Os poluentes emergentes podem ser despejados no ambiente por meio de efluentes domésticos e industriais (DURIGAN; VAZ; PERALTA-ZAMORA, 2012; PINTO et al., 2016). Em relação aos efluentes industriais, têm-se a Resolução Nº 430 do CONAMA que dispõe sobre os valores permitidos para o despejo em corpos d'água, desde que exista um processo de tratamento (BRASIL, 2011).

Quando uma substância potencialmente tóxica é despejada em meio hídrico, por exemplo, ela pode não sofrer degradação biótica ou abiótica tornando-se persistente no meio (LELES, 2017). Ademais, de acordo com Bolong et al. (2009) as estações de tratamento de água e esgoto no Brasil não foram projetadas para remover poluentes emergentes, em razão de serem micropoluentes presentes em baixas concentrações, e se tornam difíceis de remover devido a sua natureza química.

Dessa forma, Heberle et al. (2019) afirmam que existe um incentivo na utilização de Processos Oxidativos Avançados (POAs) no tratamento de efluentes industriais e domésticos para prevenir/controlar o prejuízo ambiental causado pelos poluentes emergentes. Porém, o uso de POAs combinados a outros processos de tratamento de efluentes são pouco utilizados pelo alto valor de custo para as empresas (BRILLAS, 2014).

Muitos trabalhos científicos são desenvolvidos com o intuito de identificar poluentes de classe emergente em recursos hídricos, tal qual o trabalho de Campanha

et al. (2014) que avaliaram os poluentes encontrados no Rio Monjolinho, Estado de São Paulo, Brasil. Os poluentes que mais apareceram neste rio foram a cafeína, o paracetamol e atenolol, seguidos de baixas concentrações de hormônios como estrona e 17- β -estradiol. Peña-Guzmán et al. (2019) verificaram que a presença da cafeína em rios foi prejudicial para os diferentes níveis tróficos, e esta foi encontrada em vários países da América Latina, incluindo o Brasil.

Outras substâncias bastante encontradas nas águas de rios são as provenientes da composição química de produtos de higiene pessoal. No estudo de Silva, Emídio e Marchi (2015) verificou-se na água potável de Araraquara, Estado de São Paulo, Brasil a presença da benzofenona-3, do salicilato de etilhexila e do etilhexil metoxicinamato, compostos estes encontrados em enxaguantes bucais, em pasta de dentes, em xampus e cosméticos. Montes-Grajales, Fennis-Agudelo e Miranda-Castro (2017) também detectaram a presença desses compostos em águas classe II e em água potável em diferentes países distribuídos nos cinco continentes.

Deste modo, Geissen et al. (2015) ressaltaram que devido a persistência dos poluentes emergentes em recursos hídricos, são necessários mais estudos de avaliação de ecotoxicidade dessas substâncias e que se determine processos combinados de tratamento de efluentes para a retirada efetiva desses compostos do ambiente, de maneira acessível às indústrias e estações de tratamento de efluentes.

Porém, é importante mencionar que apesar de haver estudos sobre a toxicidade de poluentes emergentes de várias classes químicas, são escassos os estudos de ecotoxicidade envolvendo os corantes utilizados em indústrias alimentícias e indústrias farmacêuticas.

4.2 Corantes artificiais das indústrias farmacêuticas e alimentícias: problemática ambiental

Corantes são todas as substâncias que conferem, intensificam ou restauram a cor de um produto (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2016). Eles podem ser utilizados nas indústrias têxteis, de cosméticos, alimentícias e farmacêuticas (RUIZ, 2011; QUEIROZ et al., 2019).

Na indústria farmacêutica, os corantes são aditivos sem potencial farmacológico, adicionados em medicamentos apenas para colorir ou alterar a cor original (OLIVEIRA; SCARPA, 1995; STEFANI et al., 2009). Porém, alguns estudos

mostram que o uso de excipientes, como corantes, em medicamentos pode causar diversas reações negativas ao ser humano, como reações alérgicas, intolerância e imunotoxicidade (BALBANI; STELZER; MONTOVANI, 2006; ARAUJO; BORIN, 2012).

Da mesma forma, em alimentos industrializados, os corantes artificiais são aditivos sem valor nutritivo com o objetivo único de conferir cor (HAMERSKI; REZENDE; SILVA, 2013; FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2016). No entanto, sabe-se que os corantes sintéticos utilizados em alimentos processados podem causar: alergias, alterações do funcionamento do trato digestivo, efeitos mutagênicos e até carcinogênicos em mamíferos (GOMES et al., 2013; MARQUES et al., 2015).

No Brasil, os corantes são regulamentados para uso e consumo pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (PINHEIRO; ABRANTES, 2012). Para uso de corantes nas indústrias alimentícias, a Resolução Nº 44 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (BRASIL, 1977) fornece informações e classifica-os nos seguintes tipos: corante orgânico natural, corante orgânico sintético, corante inorgânico, caramelo e caramelo amônia. Dentro da classificação de corantes orgânicos sintéticos existem os corantes artificiais.

Apesar dos efeitos toxicológicos em animais serem conhecidos e constantemente avaliados, verifica-se que os efeitos desses aditivos ao ambiente, principalmente ao meio hídrico, são pouco explorados. Dessa forma, estudos como o de Silva et al. (2020), no qual se avaliou a toxicidade, citotoxicidade e genotoxicidade dos corantes Carmin Colchonilha e Caramelo Amônia, presentes nas indústrias alimentícias e farmacêuticas, caracterizam a necessidade de se analisar a ecotoxicidade de corantes em ambientes naturais receptores de águas residuais.

Os corantes são persistentes em meio hídrico devido às suas estruturas químicas complexas, e são essas as características que dificultam a sua biodegradação, podendo representar relevante potencial tóxico para os organismos que são expostos a eles (ALMEIDA, 2013). Além disso, os tratamentos convencionais das estações de tratamento de efluentes (processos físicos, químicos e biológicos) não são capazes de remover totalmente os corantes (NAPOLEÃO; CHARAMBA; SANTANA, 2018).

De acordo com Oliveira, Coelho e Melo (2018), quando as substâncias corantes são dispostas em meios hídricos elas podem afetar a transparência da água, contribuindo para a mudança de cor e limitando à irradiação solar. Assim, a atividade fotossintética fica comprometida e os ciclos biogeoquímicos sofrem interferência,

causando a diminuição do oxigênio na água e afetando os seres vivos daquele meio (GONÇALVES et al., 2014; QUEIROZ et al., 2019).

Queiroz et al. (2019) classificam a importância de combinar processos oxidativos avançados como fase de pré-tratamento de efluentes em indústrias, de forma que aumente a degradação de corantes e de seus subprodutos. Os subprodutos gerados podem ser ainda mais perigosos e de grande persistência ao meio ambiente (LELES, 2017). Dentre os corantes sintéticos utilizados na indústria de alimentos e na indústria farmacêuticas estão o Azul Brillhante FCF e o Verde Folha.

4.2.1 Corante Azul Brillhante FCF

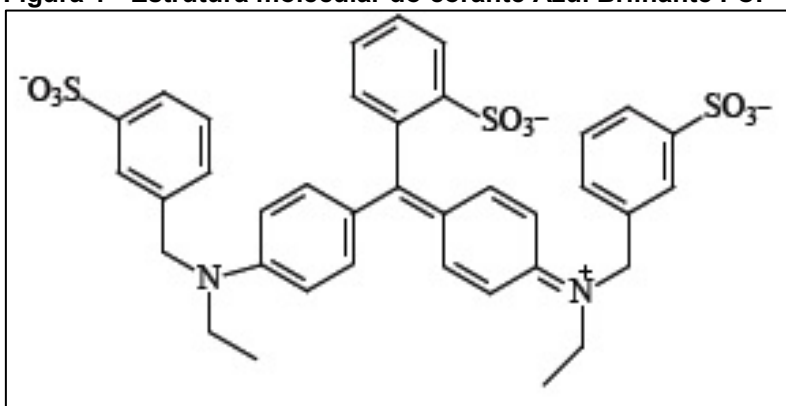
O corante artificial azul brilhante pertence à família do trifenilmetanos, que apresentam características xenobióticas, alta estabilidade química em meio aquoso e são constituídos de hidrocarbonetos aromáticos derivados do petróleo (MAIAN, 2020). É utilizado principalmente para corar alimentos como balas, cereais, licores, gelatinas e refrescos, além de cosméticos e alguns medicamentos (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2016).

A ingestão excessiva desse corante pode acarretar hiperatividade em crianças, bem como doenças respiratórias (ELDDINE et al., 2015; SANTOS, 2016). De acordo com Silva (2017), várias pesquisas buscam comprovar os efeitos negativos à saúde humana ao se consumir quantidades excessivas de corantes artificiais, principalmente os da classe de trifenilmetanos, que podem causar urticárias, asma, reações alérgicas e câncer.

Segundo Brito (2019), o corante azul brilhante apesar de ser liberado para uso em diversos países é reconhecido como uma substância potencialmente tóxica, seja para o ambiente ou para os seres humanos. Dessa forma, nota-se que os processos de tratamento de água residuais que contenham este corante necessitam de um tratamento eficiente e completo.

Na Figura 1 está demonstrada a estrutura química do corante azul brilhante, também conhecido pelo código E-133, *Acid Blue 9* ou *FD&C Blue #1* (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2016).

Figura 1 - Estrutura molecular do corante Azul Brilhante FCF



Fonte: Villada e Hormaza (2015).

O corante Azul Brilhante à 25 °C possui boa solubilidade em água, glicerina e propileno (20 g a cada 100 mL), porém baixa solubilidade em álcool (0,15 g a cada 100 mL) (MAIAN, 2020). Segundo Aditivos e Ingredientes (2009), o que confere a característica de alta solubilidade em água desse aditivo são os grupos sulfônicos presentes em sua estrutura química.

O processo de remoção desse corante de águas residuais se torna difícil, pois além da estrutura química complexa, apresentam baixa estabilidade oxidativa (YILMAZ; AK; SANLIER, 2012). Por isso, necessita-se de técnicas combinadas para remoção eficiente, como por exemplo, processos com fontes de radiação UV-C e POAs combinados (AQUINO et al., 2018). Sá e Nunes (2017) a partir de um tratamento fotolítico, como a radiação ultravioleta, mostraram que a remoção do corante Azul Brilhante em tratamentos residuais pode chegar a 97% de eficiência, confirmando a necessidade de outro tipo de processo combinado, para que se torne possível a total remoção e degradação do corante.

4.2.2 Corante Verde Folha

O corante verde folha é um *mix* de dois corantes orgânicos sintéticos, o amarelo tartrazina (E-102) e o azul indigotina (E-132), pertencentes aos grupos cromóforos azo e indigóide, respectivamente (CHARAMBA et al., 2018). Ambos os corantes da mistura são utilizados em medicamentos, coloração de alimentos e em cosméticos (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2016).

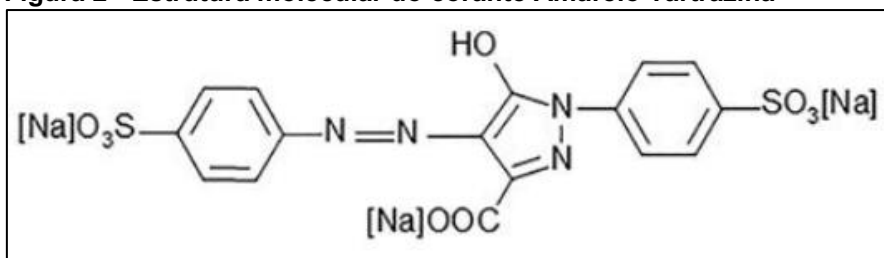
De acordo com o Instituto Brasileiro de Defesa do Consumidor (2011), o corante amarelo tartrazina pode ser causador de reações alérgicas como asma,

bronquite, rinite, e dessa forma, para que seu uso seja permitido no Brasil, o corante deve ser informado nos rótulos dos produtos. Além disso, segundo Pinheiro e Abrantes (2012), ele foi indicado como potencial carcinogênico em mamíferos.

O corante amarelo tartrazina é classificado como azo, constituído por um anel de naftaleno conectado a outro anel de benzeno por uma ligação azo (GOMES et al., 2013). Os corantes azo, embora muito utilizados nas indústrias de alimentos brasileiras por ter baixo custo, podem exibir potencial toxicológico em animais (SANTANA et al., 2018).

Este aditivo apresenta boa estabilidade à luz, calor e ácido e pode ser descolorido na presença de ácido ascórbico e dióxido de enxofre (ADITIVOS E INGREDIENTES, 2009). Possui boa solubilidade em água, na qual, à 25 °C chega a solubilizar 20 g em 100 mL (FREITAS, 2012). Na estrutura química molecular do corante amarelo tartrazina é possível visualizar vários anéis benzênicos acompanhados de grupamentos laterais a base de enxofre, como pode ser visto na Figura 2.

Figura 2 - Estrutura molecular do corante Amarelo Tartrazina



Fonte: Rosa e Scheleder (2016).

Rosa e Scheleder (2016) afirmam que este corante é de difícil fixação nos produtos devido às suas estruturas complexas e a capacidade de ser solúvel em água. Dessa maneira, existe a necessidade de se utilizar grande quantidade do corante para coloração de produtos, fazendo com que a quantidade de resíduo do corante continue presente no efluente, dificultando o seu tratamento e disposição final (QUEIROZ et al., 2019).

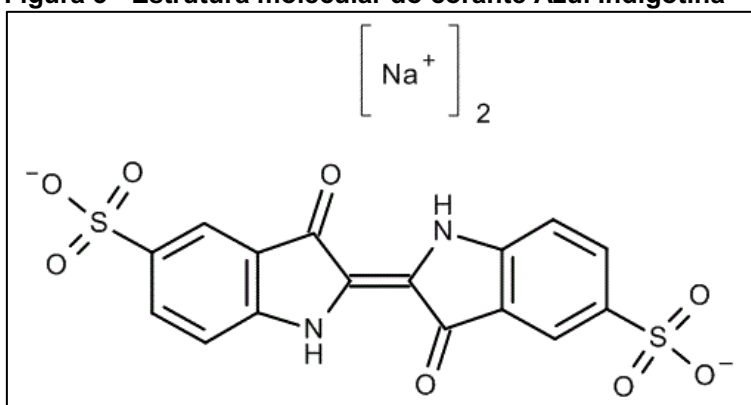
O segundo corante que compõe a mistura de formação do corante Verde Folha é o azul indigotina, um sal dissódico, também conhecido por índigo carmim, indigotina ou pelo código FD&C *Blue #2* (LOPES et al., 2014). De acordo com Aditivos e Ingredientes (2009), este possui estabilidade ao calor, luz e ácido e baixa estabilidade oxidativa. Este corante é muito utilizado em tingimento de fios de algodão na indústria

têxtil e em procedimentos médicos, como na coloração de fios de sutura, além de serem amplamente utilizados na coloração de alimentos como balas, chicletes, refrescos e outros (PASCHOAL; TREMILIOSI-FILHO, 2005; PINHEIRO; ABRANTES, 2015).

A presença do corante azul indigotina provoca mudanças significativas na cor e no cheiro da água. Além disso, por ser considerada uma molécula refratária, é preciso um tratamento químico eficiente para a eliminação deste corante em efluentes (ORTIZ et al., 2016). De acordo com Donneys-Victoria et al. (2018), este corante é um dos poluentes mais encontrados em efluentes industriais, e a coloração azul é de difícil remoção, permanecendo no efluente mesmo após tratamentos habituais utilizados em indústrias.

A estrutura química molecular do corante azul indigotina está descrita na Figura 3. De acordo com Albuquerque (2009), o grupo cetônico (C=O) é a característica que torna a molécula solúvel em água.

Figura 3 - Estrutura molecular do corante Azul Indigotina



Fonte: Merck (2020).

Não há estudos na literatura científica que avaliem o potencial tóxico, fitotóxico, citotóxico e genotóxico do corante Verde Folha. Também é importante mencionar que em indústrias de alimentos os corantes Azul Brilhante e Verde Folha quase sempre são utilizados em associação na coloração de alimentos industrializados (MAIAN, 2020), gerando efluentes com a presença dos dois aditivos. Porém, não foram encontrados estudos de avaliação da toxicidade sistêmica e celular considerando a junção dos dois corantes.

4.3 Bioensaios de toxicidade de compostos químicos e avaliação da qualidade ambiental

A ecotoxicologia é uma área de monitoramento ambiental que permite avaliar a contaminação ambiental por diversas fontes, sejam elas: efluentes agrícolas, industriais ou domésticos. É a partir de ensaios toxicológicos que se pode detectar a capacidade de um agente tóxico de causar efeitos deletérios nos organismos vivos (MAGALHÃES; FERRÃO FILHO, 2008).

A escolha dos organismos-teste para avaliação de toxicidade deve se basear em seus conhecimentos prévios dentro de um ecossistema, como por exemplo suas características biológicas, fisiológicas, seu comportamento em relação ao meio e em relação a outros organismos e seus hábitos alimentares. Também é levado em consideração a resistência desses organismos no meio, seu ciclo de vida curto e a facilidade de se cultivar em laboratório (VILAS-BOAS; SENRA; DIAS, 2020).

Quando os organismos-teste apresentam características fisiológicas, morfológicas ou comportamentais diferentes das características comuns, nota-se que o teste pode ser aplicado com sucesso. As avaliações toxicológicas podem ser diferentes a partir de cada organismo, tornando a viabilidade de se estudar maneiras diferentes a partir de bioindicadores diferentes, podendo-se citar o microcrustáceo *A. salina*, e as sementes e plântulas de *L. sativa* e *A. cepa* (MAGALHÃES; FERRÃO FILHO, 2008).

4.3.1 Avaliação de toxicidade de poluentes emergentes em *Artemia salina* Leach

Artemia salina é um crustáceo da ordem Anostraca, que não possui carapaça, vive em lagos de água salgada e sobrevivem à alta concentração de sal na água, tolerando entre 3,5 a 70% (MILANI; ZIOLLI, 2007). São seres filtradores que consomem detritos orgânicos, algas e bactérias microscópicas (MIODUSKI, 2014). São resistentes às variações no ambiente e servem de alimento para diversos animais, ou seja, sua ausência pode causar grandes danos ao ambiente, por interferir diretamente na cadeia trófica em recursos hídricos (ATES et al., 2012; SILVA et al., 2020).

O corpo de uma artêmia divide-se em cabeça, tórax e abdômen (VINATEA, 1994). O tamanho médio de um indivíduo é de 0,45 mm, sendo as fêmeas maiores

que os machos. No tórax estão presentes onze pares de toracópodos que servem para locomoção, respiração e alimentação. É a partir da falta de mobilidade dos toracópodos que se determina a toxicidade do meio ou da substância de interesse (KOKKALI; KATRAMADOS; NEWMAN, 2011).

O uso de *A. salina* em avaliações de toxicidade é vantajoso por tolerarem baixas concentrações de oxigênio. Apresentam ciclo de vida rápido (eclosão de cistos em torno de 24 horas), são de baixo custo e podem ser obtidas comercialmente em casas de criação e venda de peixes ornamentais (CAVALCANTE et al., 2000; ROCHA et al., 2019). A Figura 4 apresenta náuplios de *A. salina* recém-eclodidos.

Figura 4 - Náuplios de *Artemia salina* Leach recém-eclodidos



Fonte: Microbiotests INC (2020).

É possível medir a toxicidade por meio de *A. salina*, como feito no estudo de Rosa et al. (2016), em que as obtenções dos resultados mostraram que o teste é um bom substituto aos testes feitos em mamíferos e roedores. Rajabi et al. (2015) afirmam que *A. salina* é um dos organismos-teste mais utilizados em relação à testes ecotoxicológicos.

Além disso, nota-se que este é um importante bioindicador para medição de poluentes emergentes, conforme reportado nos trabalhos de Vitorino (2015) sobre compostos à base de ferro, assim como no trabalho de Santos et al. (2018) a respeito de substâncias presentes em antibióticos e no trabalho de Silva et al. (2020) acerca de corantes sintéticos utilizados na indústria alimentícia.

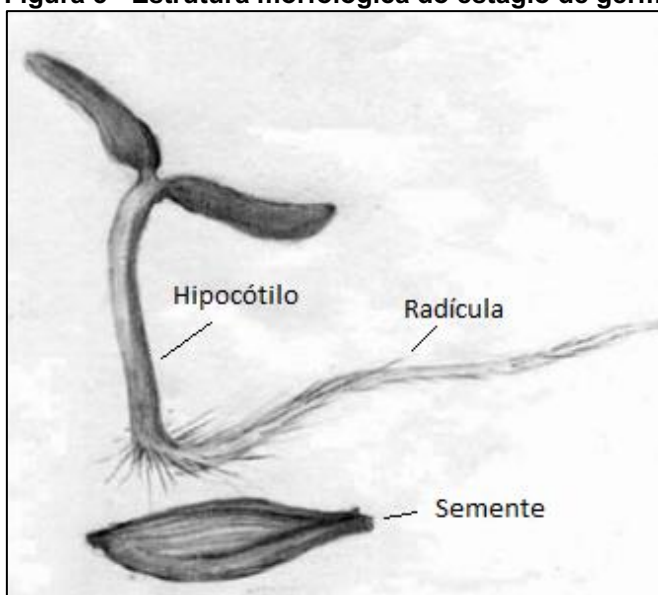
4.3.2 Avaliação de fitotoxicidade de poluentes emergentes em *Lactuca sativa* L.

A alface (*Lactuca sativa*) pertence à família Asteraceae, da qual representa a maior família de dicotiledôneas. É uma planta herbácea, amplamente cultivada e utilizada para alimentação humana e animal, além de ser um bom organismo-teste por ser resistente a contaminações ambientais (MORAES, 2015; VIANA et al., 2017).

O uso das sementes de *L. sativa*, por exemplo, tem aplicação para testes de fitotoxicidade de efluentes, solos ou sedimentos, devido a sua rápida germinação e rápido crescimento. Apresenta baixo custo para cultivo em laboratório e podem apresentar uma resposta rápida sobre a toxicidade de um composto ou substância (PALÁCIO et al., 2012). O teste em sementes de *L. sativa* é mais eficiente do que os testes em algas ou plantas submersas pelo fato de não necessitar de um tratamento prévio quando exposto a substâncias coloridas ou com alta turbidez (SOBRERO; RONCO, 2004).

De acordo com Sobrero e Ronco (2008), os primeiros dias de avaliação toxicológica em *L. sativa* são importantes, pois as estruturas chamadas de radícula e hipocótilo (Figura 5) são extremamente sensíveis a substâncias tóxicas. Têm-se que baixas quantidades de soluções tóxicas podem não afetar a taxa de germinação, mas permitem uma boa avaliação em relação ao crescimento e desenvolvimento da radícula e do hipocótilo (SOBRERO; RONCO, 2008).

Figura 5 - Estrutura morfológica do estágio de germinação e plântula de *Lactuca sativa* L.



Fonte: Adaptado de Sobrero e Ronco (2004).

Constata-se que *L. sativa* é um bom indicador de poluentes emergentes, como os corantes, já mencionado no trabalho de Bortoti et al. (2016) que utilizou as sementes de *L. sativa* para testar se o processo Foto-Fenton é eficiente na remoção da coloração de um efluente com corantes. O teste de fitotoxicidade em *L. sativa* também foi aplicado para análise de 15 substâncias farmacológicas no trabalho de Pino et al. (2016).

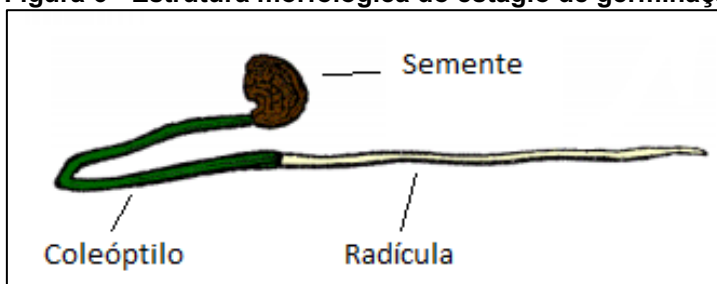
4.3.3 Avaliação de fitotoxicidade de poluentes emergentes em *Allium cepa* L.

A espécie *Allium cepa* (cebola) é uma planta monocotiledônea, pertencente à família Alliaceae e está entre os vegetais superiores mais utilizados como modelos-teste de toxicidade, além de se destacar por sua elevada sensibilidade e por possuir boa relação com outros testes toxicológicos (ARRAES; LONGHIN, 2012). São fáceis de manusear e possuem baixo custo para estudo em laboratório. Os testes em *A. cepa* são eficazes em avaliações macroscópicas que demonstram alterações na germinação e no crescimento das raízes (BARBOSA, 2016).

De acordo com Leles (2017) o teste de fitotoxicidade em *A. cepa* é considerado relativamente novo, pois geralmente seu uso se remete a testes citogenotóxicos utilizando os bulbos ao invés das sementes. Porém, o autor relata que o teste em *A. cepa* pode ser útil para análises de compostos puros ou misturados, como o caso dos corantes em análises de fitotoxicidade.

Na Figura 6 demonstra-se a estrutura morfológica de *A. cepa*, da qual pode ser visto a semente, o coleóptilo e a radícula. Segundo Merino et al. (2018) a taxa de inibição do crescimento das raízes e interferência sobre o coleóptilo de *A. cepa* tem maior significância toxicológica do que a taxa de germinação.

Figura 6 - Estrutura morfológica do estágio de germinação de *Allium cepa* L.



Fonte: Adaptado de Leubner (2007).

Nota-se no trabalho de Borgati et al. (2013) realizado com sementes e raízes de *A. cepa* que este se mostrou um teste eficaz de fitotoxicidade em compostos derivados de triazólicos, principalmente quando comparado à alta eficiência do mesmo teste em *L. sativa*. Da mesma forma, no estudo de Ma et al. (2014) sobre di-*n*-butilftalato (DnBP) e bis (2-etilhexil) ftalato (DEHP), dois poluentes ambientais, verificou-se que o teste de fitotoxicidade em *A. cepa* foi representativo e significativo quando comparado a fitotoxicidade em trigo (*Triticum aestivum* L.), alfafa (*Medicago sativa* L.), azevém perene (*Lolium perenne*), rabanete (*Raphanus sativus* L.), pepino (*Cucumis sativus* L.), aveia (*Avena sativa*).

5 MATERIAL E MÉTODOS

O potencial ecotóxico, individual e em associação, dos aditivos de cor Azul Brilhante FCF e Verde Folha foi avaliado em várias concentrações em três bioensaios. Os bioensaios utilizados para essa avaliação foram o microcrustáceo *A. salina* e as sementes e radículas de *L. sativa* e *A. cepa*. As análises foram realizadas no Laboratório de Ecologia Molecular da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campus Campo Mourão.

Os corantes avaliados neste estudo foram doados, na forma pura (metais pesados ausentes) e em pó, pela empresa Duas Rodas[®], indústria especializada na fabricação e comercialização nacional e internacional de aditivos sintéticos para alimentos e de excipientes para produtos farmacêuticos.

As concentrações foram definidas levando-se em consideração as concentrações utilizadas na indústria. Assim, para *A. salina*, *L. sativa* e *A. cepa* as concentrações testadas foram: 0,5; 1; 10; 50 e 100 mg·L⁻¹. As concentrações foram preparadas em água deionizada. A solução inicial foi preparada com a diluição de 100 mg de corante em 1 L de água deionizada e a partir dessa solução foram feitas diluições para o estabelecimento das outras concentrações, e para a associação entre os corantes foi utilizada a proporção de 1:1 para alcançar as concentrações indicadas.

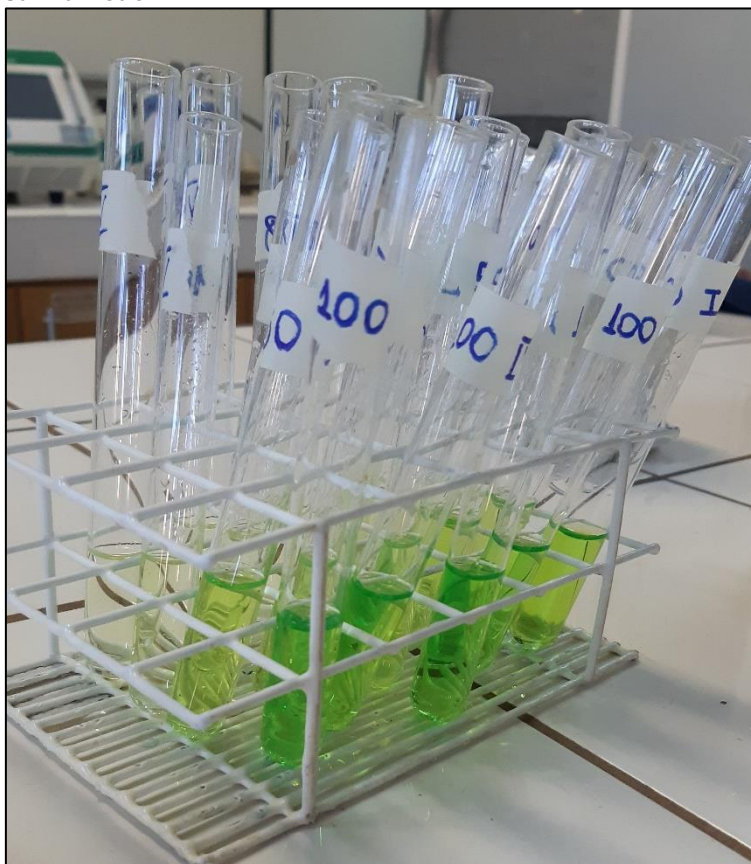
5.1 Teste de toxicidade em náuplios de *Artemia salina* Leach

A metodologia seguida para o teste em *A. salina* foi adaptada de Meyer et al. (1982). Foram adquiridos comercialmente cistos de *A. salina* considerados ovos de alta eclosão. Estes foram incubados em um frasco de vidro com água salina previamente preparada com 25 g de sal para cada 1 L de água deionizada.

O pH da água foi ajustado entre 8,0 e 9,0 por meio de solução de hidróxido de sódio (NaOH) à 1%. Manteve-se iluminação artificial durante todo o período de eclosão, por meio de uma luminária fluorescente de 9 W, e foi mantida uma aeração constante da água por meio de uma bomba para aquário.

Dez náuplios de *A. salina*, previamente eclodidos, foram colocados em tubos de ensaio contendo cada concentração de corante, com auxílio de uma pipeta *Pasteur*. O controle negativo foi realizado utilizando-se apenas água deionizada. Os testes foram realizados em quintuplicatas (Figura 7).

Figura 7 - Exemplo de tubos de ensaio em quintuplicata contendo corante e náuplios de *Artemia salina* Leach



Fonte: Aatoria própria (2020).

Para análise dos organismos-teste de *A. salina* contabilizou-se náuplios com e sem mobilidade. A contagem dos indivíduos foi realizada após exposição de 24 horas nas soluções de interesse. Com base no número de indivíduos considerados mortos (sem mobilidade) estabeleceu-se a concentração letal mediana (CL₅₀).

Para o cálculo da porcentagem (%) de mortalidade de náuplios utilizou-se os métodos de Sani et al. (2018). As CL₅₀ dos corantes em *A. salina* após 24 h de exposição (com limites de confiança de 95%) foram calculadas com base em equação de regressão. Para isso considerou-se a correlação do *log* das concentrações (X) e a porcentagem correspondente de mortalidade (Y). Ao valor de Y atribui-se metade do máximo de óbitos possíveis ($\frac{n}{2}$), e ao resultado de X obtido aplica-se o antilogaritmo, resultando no valor final de CL₅₀ (RAJEH et al., 2012).

A toxicidade dos corantes foi classificada de acordo com o método apresentado por Amarante et al. (2011), onde a CL₅₀ > 500 mg·L⁻¹ representa baixa toxicidade; a

CL₅₀ de 100 a 500 mg·L⁻¹ representa toxicidade moderada e a CL₅₀ < 100 mg·L⁻¹ representa alta toxicidade.

5.2 Teste de fitotoxicidade em sementes e plântulas de *Lactuca sativa* L. e *Allium cepa* L.

Foram utilizadas as metodologias adaptadas de Sobrero e Ronco (2004) para o teste em *L. sativa* e Macías, Castellano e Molinillo (2000), para o teste em *A. cepa*.

As sementes de *L. sativa* e *A. cepa* (das marcas comerciais Grand Rapids TBR e Isla[®], respectivamente) foram obtidas em casa agropecuária e estavam isentas de qualquer tipo de pesticida. A taxa de germinação dos lotes foi de 98%, de acordo com informações dos fornecedores. Os testes foram realizados em placas de Petri de vidro, de tamanho 100 x 15 mm, previamente esterilizadas em autoclave. Em cada placa foi colocado duas folhas de papel filtro Whatman[®], número 3, para servirem como suporte para as sementes.

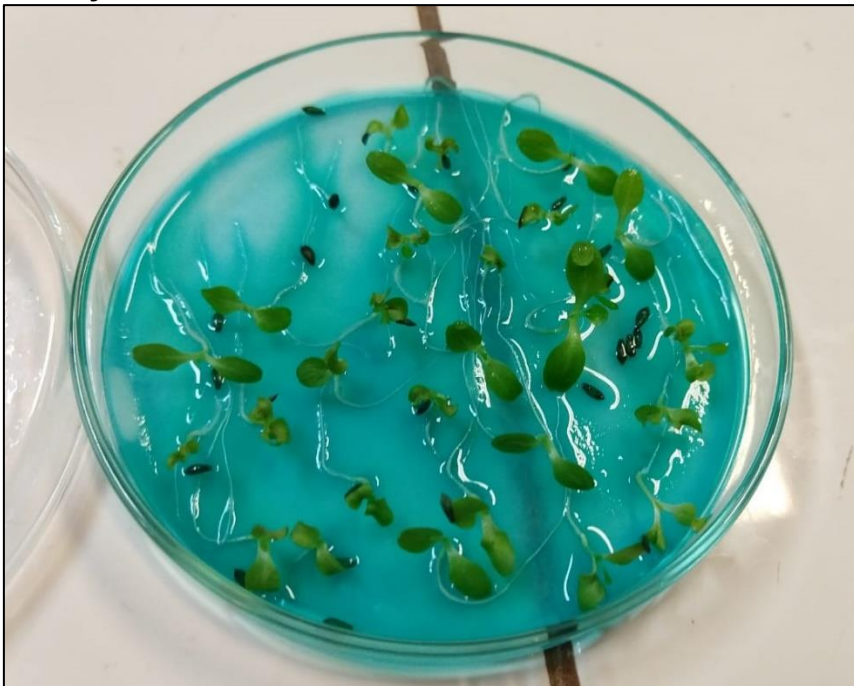
Para cada concentração separou-se 30 sementes de *L. sativa* e 20 sementes de *A. cepa* de tamanhos semelhantes e não danificadas. A quantidade de sementes foi diferente devido a quantidade disponível. As sementes foram colocadas sobre o papel filtro onde se adicionou 5 mL de solução de cada concentração de corante em cada placa, e em seguida as placas foram tampadas. Preparou-se um controle negativo com água destilada. Os testes foram realizados em triplicatas e as placas foram incubadas em câmara de germinação tipo BOD a 24 ± 1 °C, com fotoperíodo de 12 horas, por sete dias.

A contabilização do número de sementes germinadas foi realizada após os períodos de 24 horas de incubação para *L. sativa* e 72 horas de incubação para *A. cepa*, de forma que esses dados foram utilizados para o cálculo do Índice de Germinação (IG), de acordo com Hoekstra, Bosker e Lantinga (2002), dado pela Equação 1.

$$IG = ICR \times 100 \times \left(\frac{\text{Número de sementes germinadas na amostra}}{\text{Número de sementes germinadas no controle negativo}} \right) \quad \text{Eq. (1)}$$

Após sete dias de incubação, foram escolhidas aleatoriamente dez sementes germinadas de *L. sativa* (Figura 8) e *A. cepa* (Figura 9), para que fosse feita a medição do comprimento das raízes com um paquímetro.

Figura 8 - Exemplo de crescimento de radículas de *Lactuca sativa* L. após sete dias de incubação



Fonte: Autoria própria (2020).

Figura 9 - Exemplo de crescimento de radículas de *Allium cepa* L. após sete dias de incubação



Fonte: Autoria própria (2020).

Para cada concentração fez-se a média dos comprimentos das raízes e dividiu-se por 3. Dessa forma, foi calculado o Índice de Comprimento Relativo (ICR), de acordo com Hoekstra, Bosker e Lantinga (2002), por meio da Equação 2.

$$\text{ICR} = \frac{\text{Comprimento da raiz da amostra}}{\text{Comprimento da raiz do controle negativo}} \quad \text{Eq. (2)}$$

Os valores observados de ICR foram diferenciados em duas categorias, adaptado de Biruk et al. (2017), dessa forma, tem-se que: $0 < \text{ICR} \leq 0,8$ inibição do crescimento de raiz em função do tratamento; e $0,8 < \text{ICR} \leq 1,2$ sem efeito significativo do crescimento das radículas em função do tratamento. O termo “tratamento” refere-se as concentrações testadas no presente estudo.

A fitotoxicidade foi determinada com base nos dados obtidos de germinação de sementes e/ou alongamento de radículas. Para análises tanto de ICR quanto de IG foi realizado o teste ANOVA seguido do teste a *posteriori* de Dunnet com 95% de confiança. Os testes foram realizados por meio do *software* BioEstat®, versão 5.3.

Em suma, para melhor visualização da metodologia utilizada no presente estudo foi realizada uma síntese das informações, dispostas no Quadro 1.

Quadro 1 - Síntese das informações de metodologias utilizadas no presente estudo

Organismo-teste	Metodologia adaptada	Procedimentos	Corantes	Concentrações
<i>Artemia salina</i> Leach	Meyer et al. (1982)	Contagem da mortalidade após 24 horas	Azul Brillhante FCF Verde Folha Associação entre os corantes Azul Brillhante FCF e Verde Folha	0,5 mg·L ⁻¹ 1 mg·L ⁻¹ 10 mg·L ⁻¹ 50 mg·L ⁻¹ 100 mg·L ⁻¹
	Sani et al. (2018)	Cálculo da Concentração Letal Mediana (CL ₅₀)		
<i>Lactuca sativa</i> L.	Sobrero e Ronco (2004)	Contagem da germinação após 24 horas		
		Medição do comprimento da raiz no sétimo dia		
<i>Allium cepa</i> L.	Macías, Castellano e Molinillo (2000)	Contagem da germinação após 72 horas		
		Medição do comprimento da raiz no sétimo dia		

Fonte: Autoria Própria (2020).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do ensaio de toxicidade aguda frente a microcrustáceos de *A. salina* estão descritos na Tabela 1. Não se observou mortalidade dos náuplios diante das concentrações avaliadas do corante Verde Folha. Somente as concentrações 50 e 100 mg·L⁻¹ do Azul Brilhante causaram mortalidade em 3,33% dos náuplios.

Tabela 1 - Porcentagem de mortalidade frente a náuplios de *Artemia salina* Leach após 24 horas de exposição aos corantes

Corantes	Concentrações (mg·L ⁻¹)				
	0,5	1	10	50	100
Controle Negativo (%)	0	0	0	0	0
Verde Folha (%)	0	0	0	0	0
Azul Brilhante (%)	0	0	0	3,33	3,33
Associação entre Azul Brilhante e Verde Folha (%)	0	0	10	10	10

Fonte: A autoria própria (2020).

Ainda, quando os corantes Verde Folha e Azul Brilhante foram associados, a mortalidade observada para as concentrações 10, 50 e 100 mg·L⁻¹ foi de 10%. Com base nesses resultados, nas condições de análises estabelecidas, os corantes Verde Folha e Azul Brilhante, individualmente e associados, apresentaram CL₅₀ > 100 mg·L⁻¹, portanto não foi caracterizada alta toxicidade frente a *A. salina*.

Corroborando aos resultados obtidos no presente estudo, Pavanelli (2010) não observou toxicidade do corante Azul Brilhante a náuplios dessa espécie. No entanto esse autor relata que após tratamento por ozonólise de água residuárias com a presença de corante observou-se mortalidade dos náuplios frente aos efluentes gerados. Vakili-Saatloo et al. (2015), ao avaliar esse corante em *A. salina* constataram que o corante Azul Brilhante apresentou 74,2% de mortalidade na concentração de 100 mg·L⁻¹, caracterizando alta toxicidade. Porém, esses autores enfatizaram em seus trabalhos que esse corante foi obtido em lojas de varejo especializadas na revenda de aditivos alimentares, o que sugere a presença de metais pesados na composição desse aditivo de cor.

Conforme previamente mencionado, não foram encontrados na literatura estudos de avaliação de toxicidade sobre o Verde Folha, somente dos corantes que fazem parte da sua composição. Andrade (2015) ao avaliar diferentes concentrações do azul indigotina, antes e após processos de degradação, em *A. salina* verificou CL₅₀

> 100 mg·L⁻¹ para esse aditivo. Entretanto, Lima, Almeida e Paula (2017) observaram toxicidade no crescimento de raízes de *L. sativa* sobre efeito do corante indigotina acima de 100 mg·L⁻¹.

Para o aditivo tartrazina, Cubas (2020) verificou a toxicidade aguda em *Daphnia magna*, na concentração de 50 mg·L⁻¹, diferenciando do resultado obtido no presente estudo. Joshi e Katti (2017) avaliando a tartrazina em diferentes concentrações em *D. rerio*, verificaram que esse corante foi tóxico a esses animais em doses acima de 100 mg·L⁻¹. Motta et al. (2019) verificaram ação tóxica do corante tartrazina em doses acima de 100 mg·L⁻¹ frente a *A. salina* e *D. rerio*.

Assim, verifica-se similaridade entre os resultados aqui obtidos para *A. salina* e os resultados observados por outros pesquisadores que utilizaram como bioensaios artêmias de água salgada, artêmias de água doce e embriões de peixes. Pode-se questionar o porquê de não ter sido testado concentrações acima de 100 mg·L⁻¹ dos corantes Azul Brilhante e Verde Folha em *A. salina*. Explica-se tal condição em função da pequena quantidade de cada corante doado pela empresa Duas Rodas®.

Em relação aos resultados de germinação de sementes para a espécie *L. sativa*, descritos na Tabela 2, verifica-se que para os dois corantes analisados individualmente, bem como, para a associação entre o Azul Brilhante e Verde Folha, quando comparadas ao índice de germinação do controle negativo, não inibiram significativamente a germinação, de acordo com os testes estatísticos.

Tabela 2 - Índice de Germinação de sementes de *Lactuca sativa* L. sobre o corante Azul Brilhante FCF, Verde Folha e a associação entre eles

Concentrações (mg·L ⁻¹)	Índice de Germinação (IG) após 24 horas (em %)		
	Corante Azul Brilhante FCF	Corante Verde Folha	Associação entre Azul Brilhante e Verde Folha
0,5	80,57 ^a	78,60 ^a	55,88 ^a
1	80,81 ^a	79,00 ^a	55,25 ^a
10	83,43 ^a	86,48 ^a	62,20 ^a
50	70,43 ^a	63,07 ^a	60,11 ^a
100	71,62 ^a	105,88 ^a	84,74 ^a

Letras minúsculas diferentes entre si indicam que os resultados são estatisticamente diferentes.

Fonte: Autoria própria (2020).

Na Tabela 2 é possível observar que a concentração 100 mg·L⁻¹ do corante Verde Folha teve índice de germinação maior que as outras concentrações avaliadas. Sabe-se que o potencial osmótico em semente é crucial para o crescimento e

desenvolvimento do embrião (SEGLIAS; FINCH; KRAMER, 2020). Sugere-se que com aumento da concentração desses aditivos houve maior hidratação das sementes, e conseqüentemente maior taxa de germinação.

Na Tabela 3, com base nos ICRs obtidos, observa-se que todas as concentrações testadas para o corante Azul Brilhante e para a associação dos corantes, causaram inibição no crescimento das radículas, demonstrando relevante fitotoxicidade. Para o corante Verde Folha, apenas as concentrações de 1 e 50 mg·L⁻¹ demonstraram valores de inibição de raiz, estatisticamente, em comparação ao controle negativo.

Tabela 3 - Média dos comprimentos de radículas e desvio padrão e Índices de Crescimento de Radícula em *Lactuca sativa* L. sobre o corante Azul Brilhante FCF, Verde Folha e a associação entre eles

Concentrações do corante Azul Brilhante FCF (mg·L⁻¹)	Média do Comprimento das Radículas (cm)	Índice de Crescimento de Radícula (ICR)
0,5	4,47±1,15 ^b	0,78
1	4,48±1,56 ^b	0,78
10	4,74±1,42 ^b	0,80
50	4,31±1,32 ^b	0,75
100	4,33±1,94 ^b	0,75
Controle Negativo	5,75±0,97 ^a	-
Concentrações do corante Verde Folha (mg·L⁻¹)	Média do Comprimento das Radículas (cm)	Índice de Crescimento de Radícula (ICR)
0,5	4,81±1,62 ^a	0,84
1	4,54±1,50 ^b	0,79
10	5,51±1,35 ^a	0,96
50	3,81±1,41 ^b	0,66
100	6,24±1,63 ^a	1,09
Controle Negativo	5,75±0,97 ^a	-
Associação do Azul Brilhante e Verde Folha (mg·L⁻¹)	Média do Comprimento das Radículas (cm)	Índice de Crescimento de Radícula (ICR)
0,5	3,33±1,12 ^b	0,58
1	3,14±0,77 ^b	0,55
10	3,86±1,28 ^b	0,67
50	3,78±1,37 ^b	0,66
100	4,64±1,42 ^b	0,80
Controle Negativo	5,75±0,97 ^a	-

Letras minúsculas diferentes entre si indicam que os resultados são estatisticamente diferentes.

Fonte: Autoria própria (2020).

De acordo com Adam e El-Ashry (2010) e Bhat et al. (2017) a inibição no crescimento de raízes está estreitamente relacionado a frequência de divisão celular em suas regiões meristemáticas. A redução no índice de divisão celular em

meristemas de raízes também caracteriza citotoxicidade dos compostos testados (RODRIGUES et al., 2013).

Em relação aos resultados obtidos para o corante Azul Brilhante, Santos (2016) e Aquino et al. (2019) também verificaram inibição no crescimento de raízes de *L. sativa* induzida por esse corante em águas residuárias em concentrações acima de 60 mg·L⁻¹. É importante mencionar que esses autores fizeram o tratamento dessas águas por meio de diferentes POAs e verificaram toxicidade superior dos efluentes obtidos quando comparado ao efluente inicial.

Ainda, em um estudo realizado por Borba et al. (2019) com o corante azul indigotina, verificou-se que mesmo após o processo de degradação por Foto-Fenton os efluentes gerados causaram inibição no crescimento de radículas de *L. sativa*. Por outro lado, em relação ao corante tartrazina, Silva et al. (2019), verificaram que a concentração de 15 mg·L⁻¹ desse aditivo causou relevante toxicidade em *L. sativa* antes do tratamento por POA. No entanto, Gomes (2009), em avaliação da toxicidade do corante tartrazina observou que esse aditivo na concentração de 333 mg·L⁻¹ não foi tóxica, permitindo a germinação e o crescimento de radículas de *L. sativa*.

De acordo com a Tabela 4, as concentrações testadas para o Azul Brilhante, o Verde Folha e a combinação entre os corantes não causaram inibição significativa da germinação das sementes de *A. cepa*, de acordo com os testes estatísticos, quando comparadas a taxa de germinação do controle negativo.

Tabela 4 - Índice de Germinação de sementes de *Allium cepa* L. sobre o corante Azul Brilhante FCF, Verde Folha e a associação entre eles

Concentrações (mg·L ⁻¹)	Índice de Germinação (IG) após 72 horas (em %)		
	Corante Azul Brilhante FCF	Corante Verde Folha	Associação do Azul Brilhante e Verde Folha
0,5	127,54 ^a	57,90 ^a	92,29 ^a
1	52,20 ^a	77,97 ^a	77,63 ^a
10	95,01 ^a	41,58 ^a	70,92 ^a
50	84,54 ^a	58,70 ^a	71,00 ^a
100	108,07 ^a	71,68 ^a	100,35 ^a

Letras minúsculas diferentes entre si indicam que os resultados são estatisticamente diferentes.

Fonte: Autoria própria (2020).

As concentrações de 0,5 e 100 mg·L⁻¹ do corante Azul Brilhante e a concentração de 100 mg·L⁻¹ da associação entre corantes tiveram taxa de germinação superior as outras concentrações. Sugere-se que a partir dos resultados encontrados

em concentrações distintas, que o lote de sementes pode ter sofrido interferência e por isso a germinação foi diferente.

Com base na Tabela 5, as concentrações avaliadas dos corantes e da associação entre eles não causaram efeitos significativos no crescimento de radículas de *A. cepa*, de forma que não demonstrou potencial fitotóxico dos aditivos em estudo.

Quando estudada a citotoxicidade dos corantes, Das e Das (2017), Chakravarty et al. (2017) e Koç e Pandir (2018), verificaram inibição da divisão celular em células meristemáticas de raízes de *A. cepa* sobre efeitos dos corantes tartrazina, azul indigotina e azul brilhante, respectivamente, caracterizando-os como citotóxicos.

Tabela 5 - Média dos comprimentos de radículas e desvio padrão e Índices de Crescimento de Radícula em *Allium cepa* L. sobre o corante Azul Brilhante FCF, Verde Folha e a associação entre eles

Concentrações do corante Azul Brilhante FCF (mg·L⁻¹)	Média do Comprimento das Radículas (cm)	Índice de Crescimento de Radícula (ICR)
0,5	3,89±0,78 ^a	1,07
1	3,08±1,00 ^a	0,85
10	3,59±1,09 ^a	0,99
50	3,81±1,24 ^a	1,05
100	3,93±1,31 ^a	1,08
Controle Negativo	3,64±1,05 ^a	-
Concentrações do corante Verde Folha (mg·L⁻¹)	Média do Comprimento das Radículas (cm)	Índice de Crescimento de Radícula (ICR)
0,5	3,65±1,01 ^a	1,00
1	3,88±1,08 ^a	1,07
10	3,28±0,84 ^a	0,90
50	3,70±1,36 ^a	1,02
100	3,99±1,01 ^a	1,10
Controle Negativo	3,64±1,05 ^a	-
Associação do Azul Brilhante e Verde Folha (mg·L⁻¹)	Média do Comprimento das Radículas (cm)	Índice de Crescimento de Radícula (ICR)
0,5	4,36±0,74 ^a	1,20
1	3,67±1,08 ^a	1,01
10	3,19±1,30 ^a	0,88
50	3,36±1,01 ^a	0,92
100	3,95±0,85 ^a	1,09
Controle Negativo	3,64±1,05 ^a	-

Letras minúsculas diferentes entre si indicam que os resultados são estatisticamente diferentes.

Fonte: Autoria própria (2020).

Os resultados obtidos para taxa de germinação e alongamento de radículas em *L. sativa* e *A. Cepa* não corroboraram entre si, sugere-se que a sensibilidade das radículas da planta da alface seja maior do que a de cebola. Com base nesse estudo

pode-se sugerir que mais concentrações de corantes sejam testadas, pois podem ser prejudiciais a plantas terrestres e inibir ou reduzir o alongamento de radículas.

É relevante mencionar que os estudos de avaliação de fitotoxicidade dos corantes em questão frente aos dois bioensaios com plantas não informaram se a composição química dos corantes tinha a presença de metais pesados.

Por fim, para melhor visualização dos resultados encontrados no presente estudo foi realizada uma síntese das informações, e estas estão dispostas no Quadro 2.

Quadro 2 - Síntese de informações sobre os resultados apresentados

Organismo-teste	Corante Azul Brilhante	Corante Verde Folha	Associação entre os corantes Azul Brilhante e Verde Folha
<i>Artemia salina</i> Leach	Mortalidade de 3,33% dos náuplios nas concentrações de 50 e 100 mg·L ⁻¹	Não houve mortalidade	Mortalidade de 10% dos náuplios nas concentrações de 10, 50 e 100 mg·L ⁻¹
<i>Lactuca sativa</i> L.	Não houve inibição de germinação	Não houve inibição de germinação	Não houve inibição de germinação
	Inibição no crescimento de radículas em todas as concentrações	Inibição no crescimento de radículas nas concentrações de 1 e 50 mg·L ⁻¹	Inibição no crescimento de radículas em todas as concentrações
<i>Allium cepa</i> L.	Não houve inibição de germinação	Não houve inibição de germinação	Não houve inibição de germinação
	Não houve inibição no crescimento de radículas	Não houve inibição no crescimento de radículas	Não houve inibição no crescimento de radículas

Fonte: Autoria própria (2020).

7 CONCLUSÃO

As concentrações avaliadas de Azul Brilhante, Verde Folha e a associação entre eles não foram tóxicas aos náuplios de *A. salina* e não causaram redução na taxa de germinação de sementes em *L. sativa* e *A. cepa*.

Em relação ao crescimento de radículas de *L. sativa*, foi obtido que as concentrações dos corantes individualmente e associados apresentaram inibição das mesmas, demonstrando significativo potencial fitotóxico. Para as radículas de *A. cepa* não foi atribuída inibição das raízes, considerando que não houve efeito significativo dos aditivos testados.

A partir dos resultados obtidos, salienta-se a importância da continuação deste trabalho, visando aprofundar os estudos sobre os efeitos dos corantes no meio ambiente, principalmente em relação aos corantes utilizados pelas indústrias alimentícias e farmacêuticas. A partir deste estudo, sugere-se que os corantes sejam testados com concentrações maiores do que $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e em conjunto com outros tipos de testes ecotoxicológicos.

REFERÊNCIAS

- ADAM, F. I. M.; EL-ASHRY, Z. M. Evaluation of Genotoxicity of 4-n-Nonylphenol using *Vicia faba* L.. **Journal of Biological Sciences**, v. 10, n. 4, p. 368-372, 2010.
- ADITIVOS E INGREDIENTES. **Os corantes alimentícios**. 2009. Disponível em: https://aditivosingredientes.com.br/upload_arquivos/201602/2016020457300001454331253.pdf. Acesso em: 15 set. 2020.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Tabela 1 – Relação de corantes permitidos**. 2016. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2954708/Cap%C3%ADtulos+do+Volume+1+-+13+Subst%C3%A2ncias+corantes.pdf/30224e2c-f071-46c0-b415-7e3b0db90823>. Acesso em: 10 mar. 2020.
- ALBUQUERQUE, L. F. **Aplicação da água residuária das Salinas no tratamento de efluente têxtil**. 2009. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2009.
- ALMEIDA, E. J. R. **Estudo da biorremediação dos azo corantes têxteis acid blue 161 e procion red mx-5b por fungos filamentosos em solução simples e solução binária associado a testes de toxicidade com *Lactuca sativa* e *Artemia salina***. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – Microbiologia Aplicada) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro, 2013.
- AMARANTE, C. B.; MÜLLER, A. H.; PÓVOA, M. M.; DOLABELA, M. F. Estudo fitoquímico biomonitorado pelos ensaios de toxicidade frente à *Artemia salina* e de atividade antiplasmódica do caule de aninga (*Montrichardia linifera*). **Acta Amazonica**, v. 41, n. 3, p. 431-434, 2011.
- ANDRADE, F. V. **Tecnologias alternativas para remoção de contaminantes emergentes em meio aquoso**. 2015. Tese (Doutorado em Ciências – Química) - Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.
- AQUINO, R. V. S.; BARBOSA, A. A.; CARVALHO, R. F.; SANTANA, I. L. S.; SILVA, M. G.; ROCHA, O. R. S. Avaliação da degradação fotocatalítica do corante azul brilhante fcf usando os fotocatalisadores dióxido de titânio e óxido de zinco. *In*: XXII Congresso Brasileiro de Engenharia Química. **Anais...** São Paulo, São Paulo, 2018.
- AQUINO, R. V. S.; BARBOSA, A. A.; FELICIANO, A. R. S.; CARVALHO, R. F.; SANTANA, I. L. S.; LUCENA, A. L. A.; ROCHA, O. R. S. Estudo cinético da degradação do corante alimentício Azul Brilhante FCF por fotocatalise combinada de TiO₂ P25/ZnO. *In*: XX Congresso Brasileiro de Catálise. **Anais...** São Paulo, São Paulo, 2019.
- ARAUJO, A. C. F.; BORIN, M. F. Influência de excipientes farmacêuticos em reações adversas a medicamentos. **Brasília Médica**, v. 49, n. 4, p. 267-278, 2012.

ARRAES, A. I. O. M.; LONGHIN, S. R. Otimização de ensaio de toxicidade utilizando o bioindicador *Allium cepa* como organismo teste. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, n. 14, p. 1958-1972, 2012.

ATES, M. DANIELS, J.; ARSLAN, Z.; FARAH, I. O. Effects of aqueous suspensions of titanium dioxide nanoparticles on *Artemia salina*: assessment of nanoparticle aggregation, accumulation, and toxicity. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 185, n. 4, p. 3339-3348, 2012.

BALBANI, A. P. S.; STELZER, L. B.; MONTOVANI, J. C. Excipientes de medicamentos e as informações da bula. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v. 72, n. 3, p. 400-406, 2006.

BARBOSA, L. M. S. **Avaliação da fitotoxicidade e citogenotoxicidade de Iodo gerado no tratamento de efluentes têxteis utilizando *Allium cepa* L.** 2016. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, 2016.

BHAT, S. A.; SINGH, J.; SINGH, K.; VIG, A. P. Genotoxicity Monitoring of Industrial Wastes using Plant Bioassays and Management 5 through Vermitechnology: A Review. **Agriculture and Natural Resources**, v. 51, n. 5, 2017.

BIRUK, L. N.; MORETTON, J.; IORIO, A. F.; WEIGANDT, C.; ETCHEVERRY, J.; FILIPPETTO, J.; MAGDALENO, A. 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**, v. 135, p. 302-311, 2017.

BOLONG, N.; ISMAIL, A. F.; SALIM, M. R.; MATSUURA, T. A review of the effects of emerging contaminants in wastewater and options for their removal. **Desalination**, v. 239, p. 229-246, 2009.

BORBA, F. H.; PELLEZ, L.; BUENO, F.; ANTES, B. S.; INTICHER, J. J. Investigação da Toxicidade Aguda (*Lactuca sativa*) e da Degradação do Corante Índigo Carmim pelo Processo de Oxidação Foto-Fenton. **Journal of Social, Technological and Environmental Science**, v. 8, n. 2, p. 307-332, 2019.

BORGATI, T. F.; ALVES, R. A.; TEIXEIRA, R. R.; FREITAS, R. P.; PERDIGÃO, T. G.; SILVA, S. F.; SANTOS, A. A.; BASTIDAS, A. J. O. Synthesis and Phytotoxic Activity of 1,2,3-Triazole Derivatives. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, n. 6, p. 953-961, 2013.

BORTOTI, A. A.; ROSA, M. F.; BARICCATTI, R. A.; LOBO, V. S. Avaliação do processo foto-Fenton na descoloração de um corante têxtil comercial. **Semina Ciências Exatas e Tecnológicas**, v. 37, n. 1, p. 81-90, 2016.

BRASIL. Agência Nacional De Vigilância Sanitária. **Informe Técnico nº 68 de 3 de setembro de 2015**. Classificação dos corantes caramelos II, III e IV e dos demais corantes autorizados para uso em alimentos. 2015.

BRASIL. Comissão Nacional De Normas E Padrões Para Alimentos. **Resolução nº 44 de 1977**. Considera corante a substância ou a mistura de substâncias que possuem a propriedade de conferir ou intensificar a coloração de alimento (e bebida). Diário Oficial da União, Poder Executivo, de 01 de fevereiro de 1978. 1977.

BRASIL. Conselho Nacional Do Meio Ambiente. **Resolução nº 420 de 13 de maio de 2011**. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. Diário Oficial da União, Poder Executivo, de 13 de maio de 2011. 2011.

BRILLAS, E. A Review on the Degradation of Organic Pollutants in Waters by UV Photoelectro-Fenton and Solar Photoelectro-Fenton. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, n. 3, p. 393-417, 2014.

BRITO, L. R. D. **Remoção de poluentes emergentes (rifampicina e azul brilhante fcf) do meio aquoso usando tecnologias eletroquímicas: estudo dos efeitos dos principais parâmetros na descontaminação de efluentes**. 2019. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2019.

CAMPANHA, M. B.; AWAN, A. T.; SOUSA, D. N. R.; GROSSELI, G. M.; MOZETO, A. A.; FADINI, P. S. A 3-year study on occurrence of emerging contaminants in an urban stream of São Paulo State of Southeast Brazil. **Environmental Science And Pollution Research International**, v. 22, n. 10, p. 7936-7947, 2014.

CARDOSO, N. F.; LIMA, E. C. PINTO, I. S.; AMAVISCA, C. V.; ROYER, B.; PINTO, R. B.; ALENCAR, W. S.; PEREIRA, S. F. P. Application of cupuassu shell as biosorbent for the removal of textile dyes from aqueous solution. **Journal of Environmental Management**, v. 92, n. 4, p. 1237-1247, 2011.

CAVALCANTE, M. F.; OLIVEIRA, M. C. C.; VELANDIA, J. R.; ECHEVARRIA, A. Síntese de 1,3,5-triazinas substituídas e avaliação da toxicidade frente a *Artemia salina* leach. **Revista Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 20-22, 2000.

CHAKRAVARTY, G.; SHARMA, S.; SRIVASTAVA, P.; SAINI, Y. Cytogenetic Study of Non-Permitted Food Dye- Lead Chromate in Swiss Albino Mice. **Research Journal of Science and Technology**, v. 9, n. 2, p. 234-238, 2017. Disponível em: <https://rjstonline.com/HTMLPaper.aspx?Journal=Research+Journal+of+Science+and+Technology%3bPID%3d2017-9-2-8>. Acesso em: 14 nov. 2020.

CHARAMBA, L. V. C.; SANTANA, R. M. R.; NASCIMENTO, G. E.; CHARAMBA, B. V. C.; MOURA, M. C.; COELHO, L. C. B. B.; OLIVEIRA, J. G. C.; DUARTE, M. M. M. B.; NAPOLEÃO, D. C. Application of the advanced oxidative process on the degradation of the green leaf and purple açai food dyes with kinetic monitoring and artificial neural network modelling. **Water Science & Technology**, v. 78, n. 5, p. 1094-1103, 2018.

CUBAS, P. J. **Semicondutores CuCrO₂ e CuCr₂O₄ e seus compósitos formados com argila bentonita como fotocatalisadores na degradação do azocorante**

tartrazina. 2020. Dissertação (Mestrado em Química Aplicada) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2020.

DA SILVA, C. G. A.; COLLINS, C. H. Aplicações de cromatografia líquida de alta eficiência para o estudo de poluentes orgânicos emergentes. **Revista Química Nova**, v. 34, n. 4, p. 665-676, 2011.

DAS, S.; DAS, B. Decolorization of different food dyes by 12 types of fungi and toxicity evaluation after fungal treatment. **European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 8, p. 1059-1070, 2017.

DONNEYS-VICTORIA, D.; OSPINA-TORO, C. C.; ZAPATA-VILLEGAS, M. V.; MARRIAGA-CABRALES, N.; MACHUCA-MARTINEZ, F.; PERALTA-HERNANDEZ, J. M.; MARTINEZ-HUITLE, C. A. Electrocoagulation of indigo carmine dye solution with magnesium and AZ31 alloy anodes. **DYNA**, v. 85, n. 206, p. 258-267, 2018.

DURIGAN, M. A. B.; VAZ, S. R.; PERALTA-ZAMORA, P. Degradação de poluentes emergentes por processos fenton e foto-fenton. **Revista Química Nova**, v. 35, n. 7, p. 1382-1387, 2012.

ELDDINE, H. A. N.; DAMAJ, Z. K.; YAZBECK, O. A.; TABBARA, M. A.; JAMAL, M. M. E. Kinetic study of the discoloration of the food colorant e131 by k₂s₂o₈ and kio₃. **Portugaliae Electrochimica Acta**, v. 33, n. 5, p. 275-288, 2015.

FOOD INGREDIENTS BRASIL. Dossiê Corantes. **Revista Food Ingredients**, n. 39, p. 24-46, 2016.

FREITAS, A. S. Tartrazina: uma revisão das propriedades e análises de quantificação. **Acta Tecnológica**, v. 7, n. 2, p. 65-72, 2012.

GARCÍA, D. C.; GONZÁLEZ-MENDONZA, D.; CERVANTES-DÍAZ, L.; TREJO, A. M.; JUÁREZ, O. G. Respuesta fisiológica de *Euglena gracilis* al estrés por cobre. **Revista Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1211-1214, 2011.

GEISSEN, V.; MOL, H.; KLUMPP, E.; UMLAUF, G.; NADAL, M.; PLOEG, M. V. D.; VAN DE ZEE, SJOERD E. A. T. M.; RITSEMA, C. J. Emerging pollutants in the environment: a challenge for water resource management. **International Soil and Water Conservation Research**, v. 3, n. 1, p. 57-65, 2015.

GOMES, K. M. S.; OLIVEIRA, M. V. G. A.; CARVALHO, F. R. S.; MENEZES, C. C.; PERON, A. P. Citotoxicity of food dyes Sunset Yellow (E-110), Bourdeaux Red (E-123), and Tartrazine Yellow (E-102) on *Allium cepa* L. root meristematic cells. **Food Science and Technology**, v. 33, n. 1, p. 218-223, 2013.

GOMES, L. M. **Estudo da otimização do processo Fenton para o descolorimento de corantes azo**. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências – Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

GONÇALVES, J. O.; ALVES, C. F.; GIORDANI, T.; GROTH, C. N.; SCALCO, M. T.; DOTTO, G. L.; PINTO, L. A. A. Efeito do ph na adsorção do corante amarelo

tartrazina por quitosana e quitosana modificada com cianoguanidina. *In*: XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química. **Anais...** Florianópolis: Santa Catarina, 2014.

HAMERSKI, L.; REZENDE, M. J. C.; SILVA, B. V. Usando as cores da natureza para atender aos desejos do consumidor: substâncias naturais como corantes na indústria alimentícia. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 3, p. 394-420, 2013.

HEBERLE, A. N. A.; ALVES, M. E. P.; SILVA, S. W.; KLAUCK, C. R.; RORIGUES, M. A. S.; BERNARDES, A. M. Phytotoxicity and genotoxicity evaluation of 2,4,6-tribromophenol solution treated by UV-based oxidation processes. **Environmental Pollution**, v. 249, p. 354-361, 2019.

HERRERO, O.; MARTÍN, J. M. P.; FREIRE, P. F.; LOÓPEZ, L. C.; PEROPADRE, A.; HAZEN, M. J. Toxicological evaluation of three contaminants of emerging concern by use of the *Allium cepa* test. **Mutation Research**, v. 743, p. 20-24, 2012.

HOEKSTRA, N. J.; BOSKER, T.; LANTINGA, E. A. Effects of cattle dung from farms with different feeding strategies on germination and initial root growth of cress (*Lepidium sativum* L.). **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 93, p. 189-196, 2002.

INSTITUTO BRASILEIRO DE DEFESA DO CONSUMIDOR. **Cuidados com os corantes dos alimentos**. 2011. Disponível em: <https://idec.org.br/consultas/dicas-e-direitos/cuidados-com-os-corantes-dos-alimentos>. Acesso em: 13 abr. 2020.

KOÇ, K.; PANDIR, D. All aspect of toxic effect of brilliant blue and sunset yellow in *Allium cepa* roots. **Cytotechnology**, v. 70, p. 449-463, 2018.

KOKKALI, V.; KATRAMADOS, I.; NEWMAN, J. D. Monitoring the Effect of Metal Ions on the Mobility of *Artemia salina* Nauplii. **Biosensors**, v. 1, n. 2, p. 36-45, 2011.

LE, T. T. Y.; PEIJNENBURG, W. J. G. M.; HENDRIKS, A. J.; VIJVER, M. G. Predicting effects of cations on copper toxicity to lettuce (*Lactuca sativa*) by the biotic ligand model. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 31, n. 2, p. 355-359, 2012.

LEAL, M. S.; DIAS, H. C. T.; MINGOTI, R.; FERREIRA, M. P.; TONELLO, K. C. Definition of priority areas for soil and water conservation in the Itanguá watershed, Capão Bonito, SP state, Brazil. **Ciência Florestal**, v. 29, n. 2, p. 531-544, 2019.

LELES, D. **Avaliação ecotoxicológica de efluente têxtil com corante utilizando sementes de *Lactuca sativa* e *Allium cepa***. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2017.

LEUBNER, G. **Endospermic seed structure (Monocots): Alliaceae – onion**. 2007. Disponível em: <http://www.seedbiology.de/structure.asp#onion>. Acesso em: 17 set. 2020.

LIMA, D. R. S.; ALMEIDA, I. L. A.; PAULA, V. I. Degradação de Corantes por Processos Oxidativos Avançados. **Revista Eletrônica Multidisciplinar – FACEAR**, v. 2, n. 6, 2017.

LIMA, J. A. V.; STACHIW, R.; MILITÃO, J. S. L. T. A problemática ambiental dos poluentes emergentes: possíveis impactos por hormônios sexuais. **Nature and Conservation**, v. 12, n. 1, p. 66-74, 2019.

LOPES, M. M. G.; SALES, P. T. F.; CAMPOS, L. C.; SCHIMIDT, F.; SANTIAGO, M. F. Estudo da descoloração do corante FD&C azul no 2 Indigotina pelo tratamento combinado do fungo *Trametes versicolor* e processo de filtração lenta. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 19, n. 2, p. 113-120, 2014.

MA, T.; TENG, Y.; CHRISTIE, P.; LUO, Y. Phytotoxicity in seven higher plant species exposed to di-n-butyl phthalate or bis (2-ethylhexyl) phthalate. **Frontiers of Environmental Science & Engineering**, v. 9, p. 259-268, 2014.

MACÍAS, F. A.; CASTELLANO, D.; MOLINILLO, J. M. G. Search for a Standard Phytotoxic Bioassay for Allelochemicals: Selection of Standard Target Species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 6, p. 2512-2521, 2000.

MAGALHÃES, D. P.; FERRÃO FILHO, A. S. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, n. 3, p. 355-381, 2008.

MAIAN. **Corante Azul Brilhante**. 2020. Disponível em: <https://maian.com.br/services/corante-azul-brilhante/>. Acesso em: 16 set. 2020.

MARIANI, C. F. **Ecotoxicologia**. Portal de Ecologia Aquática – Departamento de Ecologia, IB, USP. 2019. Disponível em: http://ecologia.ib.usp.br/portal/index.php?option=com_content&view=article&id=143&Itemid=419. Acesso em: 10 out. 2019.

MARQUES, G. S.; SILVA, S. I. O.; SOUSA, J. M. C.; FERREIRA, P. M. P.; PERON, A. P. Cytotoxic and genotoxic potential of liquid synthetic food flavorings evaluated alone and in combination. **Food Science and Technology**, v. 35, n. 1, p. 183-188, 2015.

MERCK. **Carmina de indigo (C.I. 73015)**. 2020. Disponível em: https://www.merckmillipore.com/BR/pt/product/Indigo-carmine-C.I.-73015,MDA_CHEM-104724#anchor_Descri%C3%A7%C3%A3o. Acesso em: 03 maio 2020.

MERINO, F. J. Z.; RIBAS, D. F.; SILVA, C. B.; DUARTE, A. F. S.; PAULA, C. S.; OLIVEIRA, M.; DIAS, J. F. G.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. A study of the phytotoxic effects of the aerial parts of *Senecio westermanii* Dusén (Asteraceae) on *Lactuca sativa* L. and *Allium cepa* L. seeds. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 54, n. 3, 2018.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E.; MCLAUGHLIN, J. L. Brine Shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. **Journal of Medicinal Plant Research**, v. 45, p. 31-34, 1982.

MICROBIOTESTS. **ARTOXKIT M**: Artemia toxicity test. 2020. Disponível em: <https://www.microbiotests.com/wp-content/uploads/2019/05/folder-Artokit-M-Artemia-toxicity-test.pdf>. Acesso em: 19 ago. 2020.

MILANI, M. G.; ZIOLLI, R. L. **Avaliação do potencial tóxico de novos compostos e de compostos de interesse ambiental através do ensaio de toxicidade aguda utilizando *Artemia salina***. 2007. Departamento de Química - Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

MIODUSKI, J. **Avaliação da toxicidade de extratos da semente de Moringa oleifera lam. frente aos organismos *Daphnia magna straus.* e *Artemia salina lench.*** 2014. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

MONTES-GRAJALES, D.; FENNIX-AGUDELO, M.; MIRANDA-CASTRO, W. Occurrence of personal care products as emerging chemicals of concern in water resources: A review. **Science of the Total Environment**, v. 595, p. 601-614, 2017.

MORAES, R. M. **Aspectos fisiológicos, metabólicos e alterações no ciclo celular de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae) em resposta ao cobre, peróxido de hidrogênio e óxido nítrico**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Tecnologia Ambiental) – Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, 2015.

MOTTA, C. M.; SIMONIELLO, P.; ARENA, C.; CAPRIELLO, T.; PANZUTO, R.; VITALE, E.; AGNISOLA, C.; TIZZANO, M; AVALLONE, B.; FERRANDINO, I. Effects of four food dyes on development of three model species, *Cucumis sativus*, *Artemia salina* and *Danio rerio*: Assessment of potential risk for the environment. **Environmental Pollution**, v. 253, p. 1126-1135, 2019.

NAPOLEÃO, D. C.; CHARAMBA, L. V. C.; SANTANA, R. M. R. Análise comparativa da eficiência de processos oxidativos avançados empregados na degradação de solução aquosa de corantes alimentícios. *In*: XIV Simpósio Ítalo-Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. **Anais...** Foz do Iguaçu: Paraná, 2018.

NASCIMENTO, L. X; ARAÚJO, R. T.; ALVAREZ, L. D. G. Poluentes Orgânicos Emergentes: impactos e soluções para a saúde humana e o meio ambiente. **Revista Ciência e Tecnologia**, v. 17, n. 24, p.28-34, 2015.

OLIVEIRA, A. G; SCARPA, M. V. Corantes: fundamentos e aplicações farmacotécnicas. **Revista Infarma-Ciências Farmacêuticas**, v. 4, n. 1/6, p. 16-22, 1995.

OLIVEIRA, F. M.; COELHO, L. M.; MELO, E. I. Avaliação de processo adsorptivo utilizando mesocarpo de coco verde para remoção do corante azul de metileno. **Revista Matéria**, v. 23, n. 4, p. 1-14, 2018.

ORTIZ, E.; GÓMEZ-CHÁVEZ, V.; CORTÉS-ROMERO, C.; SOLÍS, H.; RUIZ-RAMOS, R.; LOERA-SERNA, S. Degradation of Indigo Carmine Using Advanced Oxidation Processes: Synergy Effects and Toxicological Study. **Journal of Environmental Protection**, v. 7, p. 1693-1706, 2016.

PALÁCIO, S. M.; NOGUEIRA, D. A.; MANENTI, D. R.; MÓDENES, A. N.; QUIÑONES, F. R. E.; BORBA, F. H. Estudo da toxicidade de efluente têxtil tratado por foto-fenton artificial utilizando as espécies *Lactuca sativa* e *Artemia salina*. **ENGEVISTA**, v. 14, n. 2, p. 127-134, 2012.

PASCHOAL, F. M. M.; TREMILIOSI-FILHO, G. Aplicação da tecnologia de eletrofloculação na recuperação do corante índigo blue a partir de efluentes industriais. **Revista Química Nova**, v. 23, n. 5, p. 766-772, 2005.

PAVANELLI, S. P. **Degradação de Corantes da Indústria Alimentícia por Processos Oxidativos e Redutivos: Monitoramento por Espectrometria de Massas com Ionização Electrospray (ESI-MS)**. 2010. Dissertação (Mestrado em Química – Química Analítica) – Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

PEÑA-GUZMÁN, C.; ULLOA-SÁNCHEZ, S.; MORA, K.; HELENA-BUSTOS, R.; LOPEZ-BARRERA, E.; ALVAREZ, J.; RODRIGUEZ-PINZÓN, M. Emerging pollutants in the urban water cycle in Latin America: A review of the current literature. **Journal of Environmental Management**, v. 237, p. 408-423, 2019.

PINHEIRO, M. C. O.; ABRANTES, S. M. P. Avaliação da exposição aos corantes artificiais presentes em balas e chicletes por crianças entre 3 e 9 anos estudantes de escolas particulares da Tijuca / Rio de Janeiro. **Analytica (online)**, v. 10, n. 58, 2012.

PINHEIRO, M. C. O.; ABRANTES, S. M. P. Determinação dos corantes artificiais presentes em balas consumidas por crianças com idade entre 3 e 9 anos. **Analytica (online)**, v. 13, n. 79, p. 10-23, 2015.

PINO, M. R.; MUÑIZ, S.; VAL, J.; NAVARRO, E. Phytotoxicity of 15 common pharmaceuticals on the germination of *Lactuca sativa* and photosynthesis of *Chlamydomonas reinhardtii*. **Environmental Science and Pollution Research International**, v. 23, n. 22, p. 530-541, 2016.

PINTO, L. H.; CARDOZO, G.; SOARES, J. C.; ERZINGER, G. S. Toxicidade ambiental de efluentes advindo de diferentes laboratórios de uma farmácia magistral. **Revista Ambiente & Água**, v. 11, n. 4, p. 819-832, 2016.

QUEIROZ, M. T. A.; QUEIROZ, C. A.; ALVIM, L. B.; SABARÁ, M. G.; LEÃO, M. M. D.; AMORIM, C. C. Reestruturação na forma de tratamento de efluentes têxteis: uma proposta embasada em fundamentos teóricos. **Gestão & Produção**, v. 26, n. 1, p. 1-14, 2019.

QUEIROZ, V. H. R.; SOUSA, C. P.; CORREIA, A. N. Determinação eletroanalítica do corante sudan I. **Revista Encontros Universitários da UFC**, v. 2, n. 1, p. 1097, 2017.

RAJABI, S.; RAMAZANI, A.; HAMIDI, M.; NAJI, T. *Artemia salina* as a model organism in toxicity assessment of nanoparticles. **DARU Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 23, n. 1, p. 1-6, 2015.

RAJEH, M. A. B.; KWAN, Y. P.; ZAKARIA, Z.; LATHA, L. Y.; JOTHY, S. L.; SASIDHARAN, S. Acute toxicity impacts of *Euphorbia hirta* L extract on behavior, organs body weight index and histopathology of organs of the mice and *Artemia salina*. **Pharmacognosy Research**, v. 4, n. 3, p. 170-177, 2012.

ROCHA, O. R. S.; OLIVEIRA, J. E.; ALMEIDA, L. C.; SILVA, T. D.; SILVA, J. P.; NASCIMENTO JUNIOR, W. J.; DANTAS, R. F. Removal of tributyl phosphate from aqueous solutions by tio₂ heterogeneous photocatalysis supported over a new metal plate with kinetic study. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 36, n. 2, p. 669-680, 2019.

RODRIGUES, L. C. A.; BARBOSA, S.; PAZIN, M.; MASELLI, B. S.; BEIJO, L. A.; KUMMROW, F. Fitotoxicidade e citogenotoxicidade da água e sedimento de córrego urbano em bioensaio com *Lactuca sativa*. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, n. 10, p. 1099-1108, 2013.

ROSA, C. S.; VERAS, K. S.; SILVA, P. R.; LOPES NETO, J. J.; CARDOSO, H. L. M.; ALVES, L. P. L.; BRITO, M. C. A.; AMARAL, F. M. M.; MAIA, J. G. S.; MONTEIRO, O. S.; MORAES, D. F. C. Composição química e toxicidade frente *Aedes aegypti* L. e *Artemia salina* Leach do óleo essencial das folhas *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 1, p. 19-26, 2016.

ROSA, E. A.; SCHELEDER, M. Z. Pinhão, quirera e tapioca: das prateleiras para as bancadas dos laboratórios de química. **Química Nova na Escola**, v. 38, n. 4, p. 383-386, 2016.

RUIZ, A. A. Uso de electrocoagulación para la remoción de tartrazina em soluciones acuosas. **Producción + Limpia**, v. 6, n. 2, p. 58-77, 2011.

SÁ, F. P.; NUNES, L. M. Descoloração de Corantes Alimentícios, Amarelo Crepúsculo e Azul Brillhante, Utilizando Radiação Ultravioleta. **Revista Processos Químicos**, v. 11, n. 21, p. 77-82, 2017.

SANI, Z. M.; ABDULLAHI, I. L.; SANI, A.; Toxicity Evaluation of Selected Dyes Commonly used for Clothing Materials in Urban Kano, Nigeria. **European Journal of Experimental Biology**, v. 8, n. 4:26, 2018.

SANTANA, J. K. G.; SEIXAS, A. L.; RIBEIRO, L. H. G.; CARDOSO, A. C. S.; ROCHA, F. S.; FERNANDES, M. F. G.; MUNIZ, M. F. S. Staining fungal structures with artificial dyes used in the industry of juices. **Revista Ciência Rural**, v. 48, n. 9, 2018.

SANTOS, M. C.; OEHNINGER, I. M; WILLIG, J. C. M; ROSA, M. F. Utilização de fotocatalise heterogênea para a degradação de contaminantes emergentes: cloridrato de norfloxacino. **Revista de Química Industrial**, v. 758, p. 25-35, 2018.

SANTOS, M. M. M. **Degradação dos corantes alimentícios eritrosina e azul brilhante por processos oxidativos avançados fotoquímico e fotocatalítico**. 2016. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Centro de Tecnologia e Geociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016.

SEGLIAS, A. E.; FINCH, J.; KRAMER, A. T. Germination behaviour of forbs native to the southwestern United States following exposure to short-term seed bank conditions (-20°C). **Seed Science Research**, v. 30, n. 2, p. 81-91, 2020.

SILVA, A. P. S.; SILVA, T. S.; SANTOS, A. A.; RIBEIRO, K. G.; MARQUES, M. M. M.; ALMEIDA, P. M.; PERON, A. P. Toxicity of Carmine Cochineal and Caramel IV Dyes to Terrestrial Plants and Micro-crustaceans. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 231, n. 6, 2020.

SILVA, C. P.; EMÍDIO, E. S.; MARCHI, M. R. R. The occurrence of UV filters in natural and drinking water in São Paulo State (Brazil). **Environmental Science And Pollution Research International**, v. 22, n. 24, 2015.

SILVA, E. V. **Potencialidades da pimenta biquinho (*Capsicum chinense*) como aditivo natural**. 2017. Tese (Doutorado em Química) – Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2017.

SILVA, M. G. N.; SANTOS, D. M.; BARBOSA, A. A.; AQUINO, R. V. S.; CARVALHO, R. F.; NASCIMENTO JUNIOR, W. J.; SANTANA, I. L. S.; BENACHOUR, M.; ROCHA, O. R. S. Avaliação da toxicidade na degradação de corante alimentício por sistema fotocatalítico. *In*: 59º Congresso Brasileiro de Química. **Anais...** João Pessoa, Pernambuco, 2019. Disponível em: <http://www.abq.org.br/cbq/2019/trabalhos/5/1304-27992.html>. Acesso em: 03 nov. 2020.

SOBRERO, M. C.; RONCO, A. Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.). *In*: MORALES, G. C. **Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas**. 1. Ed. México. p. 71-80, 2004.

SOBRERO, M. C.; RONCO, A. Ensayo de toxicidad aguda com semillas de lechuga *Lactuca sativa* L. *In*: ROMERO, P. R.; CANTÚ, A. M. **Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas em agua y suelo**. 1. Ed. México. p. 55-67, 2008.

SOUSA, R. C. R. **Contaminantes emergentes: detecção de histamina em solução aquosa e degradação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos da fração solúvel do petróleo utilizando processos oxidativos avançados**. 2011. Tese (Doutorado em Química) – Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011.

STEFANI, G. P.; HIGA, M.; PASTORINO, A. C.; CASTRO, A. P. B. M.; FOMIN, A. B. F.; JACOB, C. M. A. Presença de corantes e lactose em medicamentos: avaliação de 181 produtos. **Revista Brasileira de Alergia e Imunoptologia**, v. 32, n. 1, p. 18-26, 2009.

VAKILI-SAATLOO, N.; SADIGHARA, P.; JAHED-KHANI, G.; EBRAHIMI, N.; NABIZADEH, S. Evaluating the interaction effects of using common synthetic food dyes and aspartame by *Artemia salina* toxicity test. **Jornal of Food Safety and Hygiene**, v. 1, n. 1, p. 13-17, 2015.

VIANA, L. O.; MARTINS, K. G.; SOUSA, K. V.; STROPARO, E. C. Fitotoxicidade de efluente da indústria cervejeira em sementes de *Lactuca sativa* L.. **Revista Internacional de Ciências**, v. 7, n. 2, p. 265-275, 2017.

VILAS-BOAS, J. A.; SENRA, M. V. X.; DIAS, R. J. P. Ciliates in ecotoxicological studies: a minireview. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 32, e202, 2020.

VILLADA, Y.; HORMAZA, A. Análisis simultáneo de la remoción de azul brillante y rojo 40 mediante espectrofotometría de derivadas. **Ingeniería y Desarrollo**, v. 33, n. 1, p. 38-58, 2015.

VINATEA, J. E. **Artemia um ser vivo excepcional**. Paronama da Aquicultura. 1994. Disponível em: <https://panoramadaaquicultura.com.br/artemia-um-ser-vivo-excepcional/#:~:text=MORFOLOGIA%20EXTERNA,em%20cabe%C3%A7a%20t%C3%B3rax%20e%20abd%C3%B4men>. Acesso em: 30 set. 2020.

VITORINO, H. A. **Utilização de fotocatalise heterogênea para a degradação de contaminantes emergentes: cloridrato de norfloxacino**. 2015. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

YILMAZ, H.; AK, G.; SANLIER, S. H. Removal of Hazardous Food Dye, Brilliant Blue Fcf from Aqueous Solution by Magnetic Crosslinked Chitosan Beads. **Hacettepe Journal of Biology & Chemistry**, v. 40, n. 1, p. 111-117, 2012.

ZHAO, L.; ORTIZ, C.; ADELEYE, A. S.; HU, Q.; ZHOU, H.; HUANG, Y.; KELLER, A. A. Metabolomics to Detect Response of Lettuce (*Lactuca sativa*) to Cu(OH)₂ Nanopesticides: Oxidative Stress Response and Detoxification Mechanisms. **Environmental Science & Technology**, v. 50, n. 17, p. 9697-9707, 2016.