

Reis, R.C. et al.



PESQUISA

Determinação das propriedades tóxicas e oxidante da gasolina comum e aditivada pelo teste *Allium cepa*

*Determination of the toxic and oxidation properties of the regular and leaded gas by the test *Allium cepa**

*Determinación de las propiedades tóxicas y oxidante de la gasolina común y aditivo por prueba de *Allium cepa**

Renandro de Carvalho Reis¹, Diego Mayer Viana Rocha², Saphira Xavier Baptista³, Tamilla Bezerra de Menezes Pinho Reis⁴, Ag-Anne Pereira Melo de Menezes⁵, Ana Amélia de Carvalho Melo Cavalcante⁶

RESUMO

A gasolina é um combustível fóssil derivado do petróleo constituído por hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. A gasolina aditivada é acrescida de aditivos detergentes e dispersantes. O objetivo principal do estudo foi a identificação dos efeitos tóxicos, citotóxicos e mutagênicos do composto em questão. Nos testes de *allium cepa* e levedura podemos avaliar a toxicidade e danos oxidativos provocados por tais substâncias. No primeiro teste foi utilizado gasolina comum e aditivada puras, e diluídas em etanol nas concentrações de 50% e 1%, bem como o etanol puro. No segundo foram utilizadas 6 linhagens de *Saccharomyces cerevisiae*, que foram submetidas a contato com as concentrações a 100% e 1%, além do etanol. Não foi constatado, ao final, crescimento de raízes em nenhum dos bulbos de *A. cepa*, confirmando a toxicidade das substâncias. Todas as soluções inibiram, por oxidação, crescimento nas leveduras.

Descritores: Gasolina. *Allium cepa*. *Saccharomyces cerevisiae*.

ABSTRACT

Gas is a fossil fuel derived from petroleum constituted by polycyclic aromatic hydrocarbons. The leaded gas is increased by detergent and dispersant additives. The *Allium cepa* and yeast tests can evaluate the toxicity and oxidative damage caused by such substances. The main objective of the study was to identify the toxic, cytotoxic and mutagenic effects of the compound in question. In the first test we used pure regular and leaded gas, such as diluted in ethanol at 50% and 1% concentrations, as well as in pure ethanol. In the second one, 6 strains of *Saccharomyces cerevisiae* were used, and they have been subjected to contact with the 100% and 1% concentrations, in addition to ethanol. It was not found, in the end, root growth in any of the bulbs of *A. cepa*, confirming the toxicity of substances. All solutions inhibited, by oxidation, growth in yeasts.

Descriptors: Gas. *Allium cepa*. *Saccharomyces cerevisiae*.

RESUMEN

La gasolina se deriva de un aceite combustible fóssil que comprende hidrocarburos aromáticos policíclicos. La gasolina con plomo contiene aditivos detergentes y dispersantes. El objetivo principal del estudio fue identificar los efectos tóxicos, citotóxicos y mutagênicos del compuesto en cuestión. En las pruebas de *Allium cepa* y levedura puede evaluar el daño toxicidad y oxidativo causado por tales sustancias. En la primera prueba se utilizó la gasolina regular y el aditivo puro, y diluidas en etanol a concentraciones de 1% a 50% y etanol puro, y etanol puro. En la segunda línea se utilizaron 6 de *Saccharomyces cerevisiae*, fueron sometidos a ponerse en contacto con las concentraciones de 1% y 100%, además de etanol. No se ha encontrado, en el final, crecimiento de raíz en cualquiera de los bulbos de *A. cepa*, lo que confirma la toxicidad de las sustancias. Todas las soluciones inhibidas por la oxidación en el crecimiento de levedura.

Descritores: Gasolina regular. *Allium cepa*. *Saccharomyces cerevisiae*.

¹ Discente de Biomedicina do Centro Universitário UNINOVAFAPI, Teresina, Piauí, Brasil. Email: renandro1981@hotmail.com. ² Discente do Centro Universitário UNINOVAFAPI, Teresina, Piauí, Brasil. ³ Discente de Biomedicina do Centro Universitário UNINOVAFAPI, Teresina, Piauí, Brasil. ⁴ Discente de Biomedicina do Centro Universitário UNINOVAFAPI, Teresina, Piauí, Brasil. ⁵ Mestranda em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal do Piauí - UFPI ⁶ Professora Doutora em Biologia Celular e Molecular.

Reis, R.C. et al.

INTRODUÇÃO

Com o avanço da indústria automobilística e seu devido desenvolvimento, torna-se inevitável ressaltar o aumento no consumo de combustíveis fósil, especialmente a gasolina. Produto esse mundialmente utilizado para mobilidade urbana e que vem acarretando diversos problemas à saúde humana contato (tanto pela inalação dos gases quanto pelo contato superficial com pele) e ao clima do planeta devido à sua combustão (GUEDES et al., 2010; MACHADO; CUBAS, 2012).

Existem dois tipos de gasolina comum (SILVA, 2014), a gasolina comum é a mais encontrada no mercado nacional, possui coloração amarelada, não possui nenhum tipo de aditivo ou corante e por força de lei federal recebe 25% de Álcool Etilico Anidro Combustível (AEAC). A gasolina aditivada é a gasolina comum que contém aditivos detergentes/dispersantes, tendo por objetivo manter limpo o motor (isento de depósitos) todo o sistema de combustível dos veículos. A gasolina Premium que também pode haver aditivos detergentes/dispersantes difere da aditivada pelo fato de cometer maior nível de octanagem.

A gasolina é uma mistura complexa de mais de 200 compostos, sendo constituída por uma extensa composição de hidrocarbonetos hidrofóbicos relativamente voláteis, com a maior parte dos seus constituintes classificados como cadeias ramificadas de parafinas, cicloparafinas e compostos aromáticos, com destaque para o benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos (conhecidos como BTEX). A poluição de aromáticos pelos hidrocarbonetos aromáticos provocam danos à saúde, principalmente devido à toxicidade, mutagenicidade e carcinogenicidade dos BTEX. Podem atingir os lençóis freáticos e contaminá-los de forma a causar danos à saúde já citados

anteriormente (TIRBUTIUS et al., 2004; LOURENÇO; CARDOSO; MATEUS, 2010).

O benzeno é encontrado na formula de tintas, ceras, lubrificantes, misturas de solventes, agrotóxicos, detergentes, borrachas, graças, resinas, etc. Além disso, pode ser encontrado em alguns derivados do petróleo, incluindo a própria gasolina automotiva (SILVA, 2014). Segundo Andrade (2008), o benzeno ou anel benzênico é considerado o composto fundamental de seus derivados (tolueno, etilbenzeno e xilenos), os quais possuem o hidrogênio do anel benzênico substituído por grupos metil (CH₃) ou etil (-CH₂-CH₃). A Organização Mundial da Saúde (OMS) alerta que o benzeno é um mielotóxico regular, leucemogênico e cancerígeno, não possuindo por tanto limite seguro de exposição, mesmo em baixas concentrações. Acarretam também lesões ao Sistema Nervoso Central alterações citogenéticas em outros órgãos e sistemas (CORRÊA; SANTANA, 2016).

O objetivo principal do estudo é a identificação dos efeitos tóxicos, citotóxicos e mutagênicos do composto em questão, tendo como objetivos secundários: informar aos frentistas para que adotarem medidas de proteção em seu ambiente de trabalho para evitar possíveis danos à saúde, conscientizar a população a não inalar os gases liberados pela gasolina tanto durante o abastecimento do automóvel quanto no seu manuseio e relatar os possíveis malefícios causados pela gasolina.

METODOLOGIA

A obtenção das gasolinas comum e aditivada foi realizada na aquisição de 500 mL de ambas no posto de gasolina Monte Cristo,

Reis, R.C. et al.

localizado na Avenida Professora Maria Antonieta Burlamaqui e que depois de feito, foram devidamente armazenadas em recipientes apropriados e guardadas juntamente aos reagentes do laboratório de biologia molecular genética da Clínica Biomédica do CIS (Centro Integrado de Saúde) do UNINOVAFAPI no período compreendido entre agosto e outubro de 2014.

Todo o manuseio das gasolinas e demais reagentes utilizados foi realizado na capela a fim de se evitar qualquer risco de inalação dos solventes e possíveis futuros riscos à saúde.

A pesquisa foi realizada em duas etapas. Primeiro: Os testes de *Allium cepa* e levedura para a avaliação tóxica, citotóxica e mutagênica da gasolina comum e aditivada. Segundo: Utilizou-se cultivo de *Saccharomyces cerevisiae* para quantificar a ação oxidativa da gasolina.

O uso de raízes de *Allium cepa* permite identificar, entre outros, o efeito sobre o mecanismo reparador do DNA. As vantagens desse teste deve-se a fácil obtenção das cebolas, baixo custo e não exigência de maquinaria complexa para realização. O teste foi realizado com seis grupos, a saber: Controle positivo com solução de peróxido de hidrogênio, controle negativo com solução de salina, grupo 1 contendo etanol, grupo 2 com 100% de gasolina, grupo 3 com 50% de gasolina diluída em 50% de Álcool Etílico e grupo 4 com 1% de gasolina e 99% de Álcool Etílico, sendo realizado tais grupos tanto para a gasolina comum como a aditivada. concluindo então a toxicidade do produto utilizado para o teste do *Allium cepa*.

O teste com *S. cerevisiae* fora realizado com a adição de leveduras em um meio de cultura do tipo YEPD em uma Placa de Petrick, delimitando seis estrias a partir do centro da placa, para adição das leveduras nas mesmas, sendo cada uma das leveduras contendo os genes SOD wt, SOD1, SOD2, SOD1/SOD2, CAT, SOD1/CAT, logo depois adicionado o disco central contendo a gasolina comum e aditivada. Após ser

conservado em estufa para o crescimento das colônias de leveduras foi realizada a medição do crescimento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO DE DADOS

Em nenhuma das três concentrações do *Allium cepa* foi observado o crescimento de raízes, indicando que até mesmo a menor concentração estudada (1% de gasolina) se mostrou ser tóxica aos constituintes/solventes do combustível.

Partindo dos resultados do teste *Allium cepa*, fora realizado o teste com *S. cerevisiae* nas concentrações de 100% e 1%, por se tratarem da maior e menor concentração, resultando em: superóxido dismutase (fig. 1) proficiente para a enzima superóxido dismutase defendeu os possíveis danos oxidativos induzidos pelo etanol, pela gasolina comum e aditivada, ambas a 1%. Entretanto, danos oxidativos para essa linhagem pela exposição a gasolina comum foram estatisticamente significantes para $P < 0,05$ e $P < 0,0001$, respectivamente. Para a linhagem mutada para a produção da superóxido dismutase citoplasmática (*Sod1Δ*) todos os produtos derivados do petróleo testado induziram significativamente danos oxidativos de forma similar ao peróxido de hidrogênio (fig. 2). Para superóxido dismutase mitocondrial (*Sod2*), a gasolina comum e a aditivada a 1% não induziram danos oxidativos (fig. 3), as demais, especialmente a gasolina aditivada induziram oxidação ao DNA. Para o duplo mutante catalase e superóxido dismutase (*Sod1Cat1Δ*) todos os produtos testados oxidaram o material genético (fig. 4).

Reis, R.C. et al.

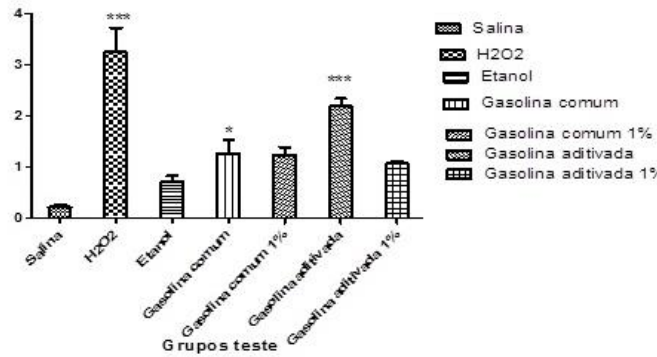


Figura 1 -Linhagem SODWT. Legenda: Diferença estatisticamente significativa em relação ao controle negativo ao nível de * $p < 0,05$ e *** $p < 0,0001$ (Dunnett's Multiple Comparison Test).

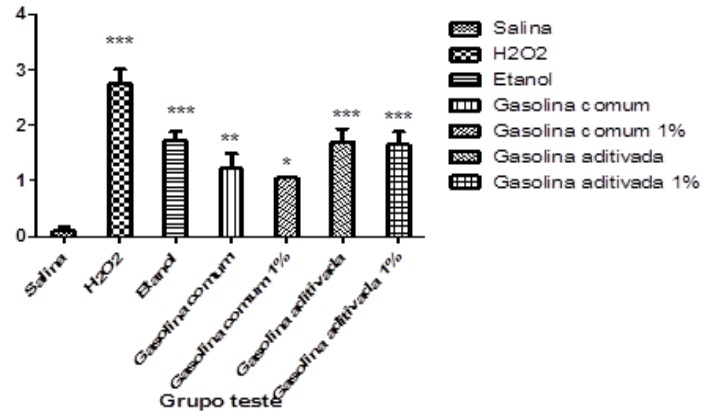


Figura 4 - Linhagem CAT1 SOD1. Legenda: Diferença estatisticamente significativa em relação ao controle negativo ao nível de * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,0001$ (Dunnett's Multiple Comparison Test).

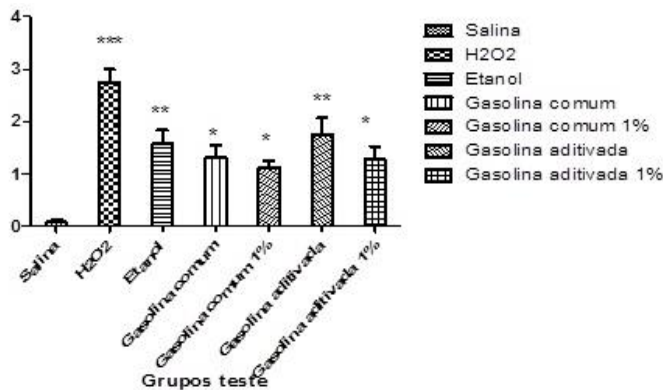


Figura 2 - Linhagem SOD 1. Legenda: Diferença estatisticamente significativa em relação ao controle negativo ao nível de * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,0001$ (Dunnett's Multiple Comparison Test).

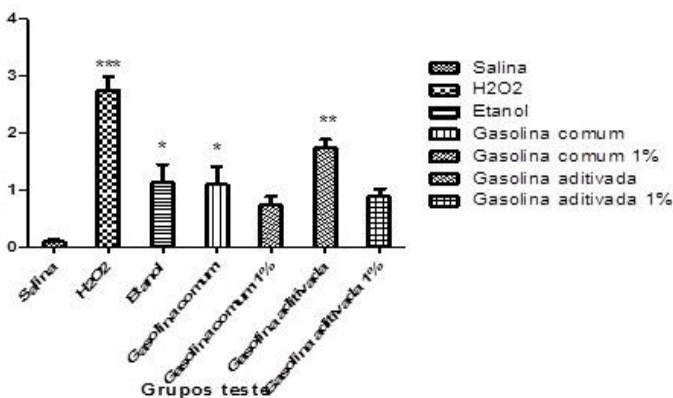


Figura 3 - Linhagem SOD2. Legenda: Diferença estatisticamente significativa em relação ao controle negativo ao nível de * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,0001$ (Dunnett's Multiple Comparison Test).

Exposição ocupacional à gasolina

Em um estudo levantado por Cerqueira et al. (2013) com 34 frentistas de uma cidade da região centro sul do estado do Ceará foi detectado que apenas 3 dos frentistas utilizavam EPI's, um dado alarmante pois as manifestações clínicas devido à exposição ocupacionais gasolina verificou-se que 58,8% dos entrevistados apresentaram anorexia, 50% distúrbios gastrointestinais como náuseas e vômitos, além de sintomas que caracterizam a anemia como algia em membros inferiores, tontura e astenia.

Ao analisar a correlação entre as variáveis, Gonçalves et al. (2012) notaram que o perfil lipídico, circunferência abdominal e idade havia uma correlação significativa com as taxas de peróxido de hidrogênio, evidenciando que a gasolina é, nesse caso, a responsável pelo estresse oxidativos. Este fato é corroborado com a correlação do peróxido de hidrogênio com o tempo de serviço do frentista.

Dib et al. (2007) levantaram um estudo com 30 frentistas, da cidade de Goiânia-GO, com idade entre 20 e 50 anos e que trabalharam por no mínimo um ano. Os resultados dos exames de espermocitograma mostraram alterações nas seguintes variáveis: aspecto após liquefação, viscosidade, liquefação, pH, motilidade

Reis, R.C. et al. espermiática. No questionário sobre o estado de saúde geral dos frentistas foi observado comprometimento em relação aos problemas gastrintestinais, vertigem e principalmente problemas respiratórios.

Soares Filho et al. (2014) analisaram o perfil hematológico e possíveis danos ao DNA de 40 frentistas da cidade Campo Maior-PI divididos em dois grupos: G1 compreendia 20 trabalhadores do setor administrativo que não eram expostos à gasolina e G2 com 20 frentistas expostos à gasolina, com a observação de que nenhum utilizava Equipamentos de Proteção Individual (EPIs). Desses, os pesquisadores puderam observar uma diferença significativa em lesões de células da mucosa bucal por parte do G2 em comparação ao G1, sendo elas micronúcleos, binucleação e cariólise.

BTEX e seus riscos a saúde humana

No Brasil, a ação cancerígena do benzeno foi também reconhecida oficialmente a partir de 1994, pela portaria da Secretaria de Segurança e Saúde no Trabalho (SSST nº3), de 10 de março de 1994. A sua capacidade em provocar danos cromossômicos e à medula óssea já foram amplamente demonstradas em seres humanos e animais. Foram observadas alterações cromossômicas numéricas e estruturais em linfócitos e células da medula óssea de trabalhadores expostos ao benzeno (MILITÃO; RAFAELI, 2000).

A presença destes hidrocarbonetos no ambiente é um perigo para a saúde pública e para o ecossistema, devido a sua toxicidade e habilidade de bioacumular ao longo da cadeia alimentar (ANDRADE, 2008). Cerca de 200 ppm de etil-benzeno em vapor pode ocasionar irritação na pele, olhos e aumento da respiração. A absorção sistêmica causa náusea, vômito e dores de cabeça.

Em trabalhos descritos na literatura, foram mencionadas alterações metabólicas e funcionais ocasionados pela exposição à gasolina, óleo diesel e álcool, em diferentes sistemas biológicos apresentados ao organismo, como respiratório, hepático, reprodutor, nervoso, renal, hematológicos, ópticos, imunológicos, de desenvolvimento e outros, podendo até a levar ao câncer e a morte. Quando o contato é realizado por via oral, os efeitos mais encontrados são os cardiovasculares, respiratórios, gastrintestinais, hematológicos, hepáticos, renais, neurológicos, câncer, até mesmo a morte (CERQUEIRA, 2010; DIG et al., 2007).

CONCLUSÃO

O teste de *Allium cepa* não resultou em crescimento de raízes, permitindo-se concluir que nas concentrações utilizadas todas eram tóxicas às células das cebolas.

O teste com *S. cerevisiae* permitiu verificar que o etanol utilizado na diluição das gasolinas fora mais tóxico para a linhagem de SOD1 e CAT1 SOD1, bem como também se permitiu verificar que como já era esperado, as gasolinas sem diluição alguma eram mais tóxicas que a gasolina a 1%.

REFERÊNCIA

- ANDRADE, D.M. **Avaliação de bactérias provenientes de um biofiltro de tratamento de vapores de gasolina**. 2008. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental)- Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.
- CERQUEIRA, G.S. et al. Exposição Ocupacional a Gasolina: Um Estudo Transversal. **RevInter Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 6, n. 1, p. 05-14, fev. 2013.
- CERQUEIRA G.S. et al. Exposição ocupacional de trabalhadores de postos de combustíveis do sertão

Reis, R.C. et al.
Paraibano. *Revista Ciência e Saúde*, v. 2, n.1, p. 310-31, 2010.

Submissão: 11/09/2017

CORRÊA, M.J.M.; SANTANA, V.S. Exposição ocupacional ao benzeno no Brasil: estimativas baseadas em uma matriz de exposição ocupacional. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 32, n. 12, 2016.

Aprovação: 23/03/2018

DIB, M.A. et al. Avaliação da qualidade do sêmen e do estado geral de saúde de frentistas de postos de gasolina da cidade de Goiânia. *Estudos vida e Saúde*, Goiânia, v. 34, n.11/12, p. 957-977, nov./dez. 2007.

GONÇALVES, M.B. et al. **Perfil lipídico e peroxidação de lipídeos no plasma de trabalhadores de postos de gasolina do município de Teresina.** Teresina-PI: UFPI, 2012.

GUEDES, C.L.B. et al. Avaliação de biocombustível derivado do bio-óleo obtido por pirólise rápida de biomassa lignocelulósica como aditivo para gasolina. *Química Nova*, São Paulo, v.33, n.4, p.781-786, 2010.

LOURENÇO, E.S.O.; CARDOSO, D.L.; MATEUS, F.H. Ação dos meios reativos peróxido de hidrogênio e carvão ativado na remediação de solos contaminados por BTEX. *Revista Engenharia Agrícola*, Jaboticaba, v.30, n.1, p.130-137, jan./fev. 2010.

MACHADO, M.M.; CUBAS, A.L.V. Decomposição de compostos orgânicos voláteis oriundos de postos de gasolina, por plasma de descarga corona. **Gestão & Sustentabilidade Ambiental.** Florianópolis, v.1, n.1, p.6-18, abr./set. 2012.

MILITÃO, A. G.; RAFAELI, E. A. Neuropatias por intoxicação ocupacional. *Revista Ensaios Ergonomia*, v.1, p.1-14, 2000.

SILVA, E.F. **Gestão ambiental dos postos revendedores de combustíveis no estado do rio de janeiro: uma avaliação crítica na visão ocupacional e ambiental da presença do benzeno na gasolina automotiva.** 2014. Dissertação. (Mestrado profissional em gestão ambiental) - Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ, 2014.

SOARES FILHO, J.M. et al. Avaliação citogenética de frentistas expostos ao benzeno em postos de gasolina de Campo Maior, PI. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, v.46, n.1-4, p.21-29, 2014.

TIBURTIUS, E.R.L.; ZAMORA, P.P.; LEAL, E.S. Contaminação de águas por BTXs e processos utilizados na remediação de sítios contaminados. *Química Nova*, São Paulo, v.27, n.3, p.441-446, 2004.