



USO DE EXTRATO DE BETERRABA COMO CORANTE NATURAL EM LÂMINAS HISTOLÓGICAS DE TECIDO ANIMAL

Bruna C. MORAIS¹; Giovanna B. FALVELLA²; Maiara F. F. MARTINS³; Polyana de F. CARDOSO⁴; Geórgia M. MAGALHÃES⁵

RESUMO

A beterraba (*Beta vulgaris*) é amplamente utilizada como matéria-prima na confecção de corantes para uso industrial, cosmético e alimentício, sendo estudada a fim de verificar seu potencial de coloração para uso citológico e histológico. O objetivo deste estudo foi procurar uma metodologia para aplicação do extrato de beterraba na coloração histológica em substituição à hematoxilina, buscando maior sustentabilidade, menor risco aos manipuladores e obtenção de corantes com baixo custo. Foram testadas mais de uma metodologia e não foi possível obter um corante que substituísse a Hematoxilina. Os corantes sintéticos ainda são as melhores opções para as colorações histológicas.

Palavras-chave:

Betalainas; *Beta vulgaris*; Coloração; Hematoxilina; Histologia.

1. INTRODUÇÃO

A coloração histológica consiste em uma etapa essencial do exame anatomopatológico, sendo a hematoxilina e eosina os principais componentes utilizados para coloração. A hematoxilina é classificada como um corante básico, sendo extraída do cerne da árvore *Haematoxylum campechianum* e possui afinidade por estruturas ácidas das células, como ácidos nucleicos, glicosaminas e glicoproteínas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013). Após a extração, é necessário que ocorra a oxidação da hematoxilina em hemateína, no entanto, para que este processo ocorra de forma natural são necessários meses, por este motivo, são utilizados oxidantes sintéticos que aceleram este processo (AVWIORO, 2011). Em contrapartida, a eosina é classificada como corante sintético ácido, empregado na coloração de estruturas básicas como, mitocôndrias, grânulos citoplasmáticos e colágeno (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

Apesar da hematoxilina e eosina serem amplamente utilizadas, os corantes sintéticos oferecem diversos riscos aos manipuladores, podendo causar alergias cutâneas e respiratórias, bem como infecções e irritações do trato respiratório, possuindo potencial cancerígeno devido a exposição residual de produtos tóxicos (SOWMYA et al., 2021). Além do potencial risco à saúde humana, em períodos atípicos como a pandemia, o país vivenciou maior dificuldade de obtenção do corante sintético e quando obtido, verificou-se qualidade inferior, demonstrando a necessidade de buscar alternativas de fácil disponibilidade, maior viabilidade econômica e com potencial para a

¹Bolsista FAPEMIG/CNPq, IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho. E-mail: brunamorais0027@gmail.com

²Aprimoranda, IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho. E-mail: brambilla.falvella@gmail.com

³Aprimoranda, IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho. E-mail: maiara-franca@hotmail.com

⁴Técnica de laboratório, IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho. E-mail: polyana.cardoso@muz.ifsuldeminas.edu.br

⁵Orientadora, IFSULDEMINAS - Campus Muzambinho. E-mail: georgia.magalhaes@muz.ifsuldeminas.edu.br.

coloração histológica (SACHDEV et al., 2021).

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Nos últimos anos houve um crescimento nos estudos acerca das betalainas como corantes histológicos e citológicos, no entanto, estas já são muito utilizadas como corantes nas indústrias farmacêuticas, alimentícias e cosméticas (CHENG; SAAD; ABDULLAH, 2014).

Segundo Sachdev et al. (2021) as antocianinas são pigmentos naturais pertencentes ao mesmo grupo dos corantes químicos que a hemateína, sendo este o principal cromóforo da hematoxilina e de várias flores e vegetais, como por exemplo a beterraba. A beterraba vermelha (*beta vulgaris*), consiste em um importante fonte de pigmentos, sendo a betanina vermelha e a vulgaxantina I amarela os dois principais (SADOWSKA-BARTOSZ; BARTOSZ, 2021).

Deste modo, o presente estudo teve como objetivo avaliar a aplicabilidade do extrato de beterraba para coloração de tecidos de origem animal em substituição ao corante hematoxilina.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi submetido e aprovado ao CEUA nº 2317020523. Selecionou-se 20 fragmentos de pele de cães do arquivo do Laboratório de Patologia Animal, sendo estes provenientes de biópsias e necropsias. Em seguida, foram cortadas no micrótomo duas lâminas em parafina de cada fragmento cutâneo para receberem a coloração com o corante à base de beterraba. As amostras foram distribuídas em grupos:

Grupo A: 20 lâminas confeccionadas com a coloração Hematoxilina e Eosina (Grupo controle);

Grupo B: 20 lâminas confeccionadas com a coloração a base de beterraba.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As beterrabas (*Beta vulgaris*) utilizadas para elaboração do corante foram obtidas no comércio local da cidade de Muzambinho MG, sendo estas raladas frescas e com casca, visto que segundo Sadowska-Bartosz e Bartosz (2021), estas apresentam maior quantidade de pigmento na porção superficial da beterraba do que na raiz.

Realizou-se a diluição de 30g de beterraba em 5 soluções contendo 100 mL cada, sendo estas: água (B1), álcool 60% (B2), 70% (B3), 80% (B4) e álcool absoluto (B5). Outra metodologia para confecção do corante, adaptada de Rohde et al. (2006), consistiu na imersão de 30g de beterraba em 100mL de álcool etílico 96% (B6), onde os frascos foram vedados e protegidos da luz, sendo posteriormente, submetidos a agitação por 24 horas. Após este período a solução foi submetida a filtração à vácuo e utilizada imediatamente para coloração das lâminas.

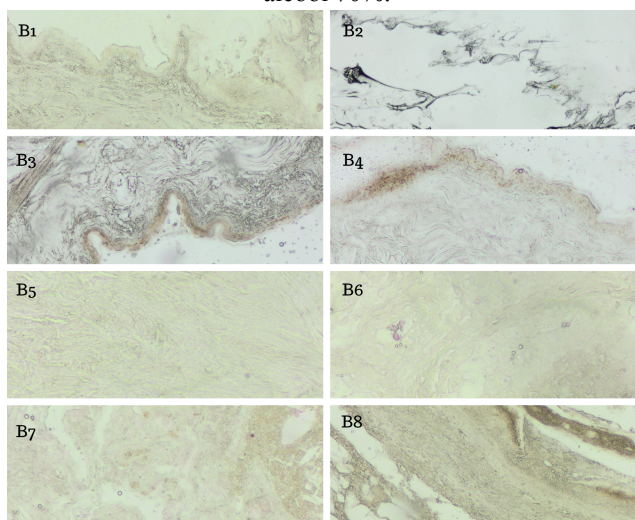
Ainda segundo Singnarpi et al. (2017), adaptou-se a metodologia, realizando a trituração de 50g de beterraba por meio de um liquidificador em conjunto com 100 mL de água (B7) e outra amostra com 50g de beterrabas acrescido de 100mL de álcool 70% (B8). Sendo as lâminas, adicionadas ao álcool ácido 0,8% por 15 minutos para remoção do excesso de corante e mantidas por 30 minutos no álcool absoluto, seguidas da montagem da lâmina e avaliação.

No entanto, assim como Alshamar et al. (2022), que não obteve sucesso na utilização do corante à base de beterraba em substituição ao corante de eosina em esfregaços citológicos, não foi possível evidenciar as estruturas celulares. Diferente dos resultados obtidos por Singnarpi et al. (2017), as estruturas celulares não foram coradas, como observado na imagem (B7 e B8), apresentando baixa intensidade de coloração, pouca clareza nos detalhes celulares e baixa preservação da morfologia celular.

Nesse estudo a utilização da beterraba foi como substituta da hematoxilina, pois segundo Sachdev et al. (2021) a hematoxilina e a beterraba possuem o mesmo cromóforo, sendo esta a substância que fornece a cor.

A partir das metodologias empregadas para extração do corante à base de beterraba, não foi verificada a coloração da morfologia e componentes teciduais. Segundo Alshamar et al. (2022), apesar dos resultados negativos obtidos, o extrato de beterraba possui uma estrutura química que sugere potencial para uso na histologia, no entanto, este verificou que o corante de beterraba se comporta como ácido, sendo um potencial substituto à eosina, sendo necessários mais estudos a fim de determinar o mecanismo químico responsável pelas ligações as estruturas celulares.

Figura 1 - Fotomicrografia de tecidos histológicos com o corante extrato de beterraba: B1: água; B2: álcool 60%; B3: álcool 70%; B4: álcool 80%; B5: álcool absoluto; B6: álcool 96%; B7: 50g de beterraba e água; B8: 50g de beterraba e álcool 70%.



Fonte: O próprio autor.

5. CONCLUSÃO

Portanto, após realização dos testes foi possível verificar que a beterraba não é uma boa

alternativa à substituição da hematoxilina.

REFERÊNCIAS

AVWIORO, Godwin. Histochemical uses of haematoxylin: a review. **Journal of Physics**, Nigeria, v. 1, p 24-34, april-june, 2011.

CHENG, Chew Weng; SAAD, Suhana Md; ABDULLAH, Rosida. Alternative staining using extracts of hibiscus (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) and red beet (*Beta vulgaris* L.) in diagnosing ova of intestinal nematodes (*Trichuris trichiura* and *Ascaris lumbricoides*). **European Journal Of Biotechnology And Bioscience**, Alam, Selangor, v. 5, n. 1, p. 14-18, 20 ago. 2014.

JUNQUEIRA, L. C; CARNEIRO, José. **Histologia Básica**. 12 ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2013. 558p.

SACHDEV, Sanpreetsingh; CHETTIANKANDY, Tabitajoy; SONAWANE, Saranggautam; SARDAR, Manishaahire; KENDE, Prajwalitprakash; PAKHMODE, Vivek. Toward developing natural histologic stains using anthocyanins: a novel approach. **Journal Of Oral And Maxillofacial Pathology**, [S.L.], v. 25, n. 1, p. 199, 2021.

SADOWSKA-BARTOSZ, Izabela; BARTOSZ, Grzegorz. **Biological Properties and Applications of Betalains**. **Molecules**, [S.L.], v. 26, n. 9, p. 2520, 26 abr. 2021.

SOWMYA, Sv; A, LAVANYA; RAO, Roopas; AUGUSTINE, Dominic; HARAGANNAVAR, Vanishric. Natural stain (Kumkum) formulated by the extract of *Curcuma aromatica* and slaked lime in histostaining of oral tissues: an observational study. **Journal Of Oral And Maxillofacial Pathology**, [S.L.], v. 25, n. 1, p. 88, 2021.

ROHDE DC et al. O uso do corante urucum (*Bixa orellana* L.) na técnica de coloração histológica. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, 2006; 38(2): 119-121.

SINGNARPI, Sherin; RAMANI, Pratibha; NATESAN, Anuja; SHERLIN, Herald J; S, Gheena; GIFFRINA; ABHILASHA; ARCHANA, Don. Vegetable Stain as an Alternative to H&E in Exfoliative Cytology. **Journal Of Cytology & Histology**, [S.L.], v. 08, n. 03, ago. 2017. n.p.