


Alterações induzidas por plátano maturado com carbureto de cálcio na concentração plasmática de eletrólitos e na função renal em ratos

Calcium carbide-ripened plantain induced alterations in plasma electrolytes concentration and kidney function in rats

Autores

Osezele C. Ugbeni¹ 

Chidube A. Alagbaoso¹ 

¹Universidade de Benin,
Faculdade de Ciências da Vida,
Departamento de Bioquímica,
Cidade de Benin, Nigéria.

RESUMO

Introdução: Agentes de maturação artificial como etanol, etileno, etefon e carbureto de cálcio (CaC_2) são comumente empregados para estimular o amadurecimento de frutas. Atualmente, há uma escassez de informações a respeito dos efeitos de diversos métodos artificiais de maturação de frutas no estado de saúde dos consumidores. Neste estudo, investigaram-se os efeitos fisiológicos e possíveis riscos à saúde associados ao consumo de plátano maturado por CaC_2 e outros métodos não químicos nos rins. **Métodos:** O plátano artificialmente amadurecido foi misturado com ração de rato e fornecido a ratos albinos Wistar por quatro semanas, e determinaram-se os níveis de eletrólitos plasmáticos (Na^+ , HCO_3^- , K^+ , e Cl^-), ureia, creatinina, bem como alterações histológicas nos rins. **Resultados:** Ratos alimentados com plátano amadurecido com carbureto apresentaram um nível significativamente maior de bicarbonato plasmático (HCO_3^-) em comparação com ratos controle, mas não houve diferença no nível plasmático de sódio (Na^+). Entretanto, os níveis plasmáticos de potássio (K^+) e cloreto (Cl^-) foram significativamente baixos em ratos alimentados com plátano maturado com CaC_2 comparados com ratos controle. Além disso, os níveis de ureia e creatinina foram significativamente mais elevados em ratos alimentados com plátano amadurecido com CaC_2 , em comparação com os animais controle. Análises histológicas mostraram atrofia glomerular e necrose tubular em rins de ratos alimentados com plátano amadurecido com CaC_2 , indicando assim ainda mais toxicidade aos rins. **Conclusões:** Evidências histológicas e alterações nos eletrólitos plasmáticos, ureia e creatinina sugerem que o consumo de frutas amadurecidas com carbureto de cálcio pode ser prejudicial aos rins.

Descritores: Amadurecimento artificial; Carbureto de cálcio; Plátano; Maturação; Função renal.

ABSTRACT

Introduction: Artificial fruit ripening agents such as ethanol, ethylene, ethephon, and calcium carbide (CaC_2) is usually employed in stimulating the fruit ripening process. Currently, there is a paucity of information regarding the effects of various artificial fruits ripening methods on the health status of consumers. In this study, the physiological effects and possible health hazards associated with the consumption of plantain ripened by CaC_2 and other non-chemical methods on the kidneys were investigated. **Methods:** Artificially ripened plantain was mixed with rat feed and fed to Wistar albino rats for four weeks, and the levels of plasma electrolytes (Na^+ , HCO_3^- , K^+ , and Cl^-), urea, creatinine, as well as histological changes in the kidneys were determined. **Results:** Results indicated that rats fed with carbide-ripened plantain had a significantly high level of plasma bicarbonate (HCO_3^-) compared to control rats, but there was no difference in the level of plasma sodium (Na^+). However, the levels of plasma potassium (K^+) and chloride (Cl^-) were significantly low in rats fed with CaC_2 -ripened plantain as compared to the control rats. Furthermore, the levels of urea and creatinine were significantly high in rats fed with CaC_2 -ripened plantain compared to the control animals. Histological analyses showed glomeruli atrophy and tubular necrosis in kidneys of rats fed with CaC_2 -ripened plantain, thereby further indicating toxicity to the kidneys. **Conclusions:** Histological evidence and alterations in the level of the plasma electrolytes, urea, and creatinine suggest that consumption of fruits ripened with calcium carbide may be harmful to the kidneys.

Keywords: Artificial ripening; Calcium carbide; Plantain; Ripening; Kidney function.

Data de submissão: 17/06/2022.

Data de aprovação: 17/11/2022.

Data de publicação: 13/01/2023.

Correspondência para:

Osezele C. Ugbeni.

E-mail: osezele.ugbeni@uniben.edu

DOI: <https://doi.org/10.1590/2175-8239-JBN-2022-0101pt>



INTRODUÇÃO

O processo natural de maturação da fruta envolve uma combinação de processos fisiológicos, bioquímicos e moleculares¹⁻³. O amadurecimento da fruta envolve a coordenação de diferentes processos metabólicos, com ativação e desativação de vários genes, levando à alteração da cor, aumento do teor de açúcar, diminuição da acidez, amolecimento da fruta e aumento do sabor e do aroma²⁻⁵. Estes processos tornam a fruta colorida, macia, comestível, nutritiva e palatável¹.

A maturação artificial é feita para obter um amadurecimento mais rápido, uniforme e controlado, e os produtos podem ser disponibilizados de acordo com a demanda, controlando diferentes parâmetros⁶. Frutas artificialmente amadurecidas podem desenvolver uma cor de superfície uniforme e atraente, mas o tecido no interior permanece verde e as frutas geralmente têm uma vida útil mais curta⁷.

Os comerciantes de frutas amadurecem artificialmente as frutas verdes mesmo durante a alta temporada para atender à alta demanda e obter maiores lucros com as frutas sazonais⁸. O transporte e distribuição de frutas dos pomares dos agricultores para as cestas dos consumidores pode levar vários dias. Durante este período, frutas naturalmente amadurecidas podem se tornar excessivamente maduras e não comestíveis. Uma parte das frutas naturalmente maturadas também pode ser danificada por condições de transporte adversas. Para minimizar essa perda, os comerciantes de frutas às vezes preferem colher a fruta antes que ela esteja totalmente madura e maturá-la artificialmente antes de vendê-la aos consumidores⁹. Como o plátano é uma fruta climatérica, geralmente é colhida no estágio pré-climatérico e amadurecida artificialmente para fins comerciais. O amadurecimento artificial permite aos comerciantes minimizar perdas durante o transporte e liberar o produto a tempo no estágio de amadurecimento desejado. Os plátanos podem ser amadurecidos artificialmente por diferentes agentes de maturação¹⁰.

Com o avanço da ciência e da tecnologia, vários métodos têm sido desenvolvidos para estimular artificialmente o processo de amadurecimento. Agentes de maturação artificial como etanol, metanol, metil jasmonato, etilenoglicol, etefon e CaC_2 são usados para amadurecer frutas e vegetais^{11,12}. A árvore do plátano é uma importante planta tropical e subtropical climatérica, e pertence à família *Musaceae*, gênero *Musa*, e espécie *paradisiaca*¹³. Estima-se que o plátano

forneça mais de 200 calorias por dia a cerca de 60 milhões de pessoas na África¹⁴. As diversas formas em que são consumidos também indicam a longa associação entre o homem e a lavoura¹⁵. Sendo um alimento básico comum, o plátano é submetido ao amadurecimento artificial com diferentes agentes de maturação comuns para atender à demanda de muitos consumidores.

O plátano é um alimento comumente consumido em muitas partes do mundo. Fornece as calorias necessárias e os micronutrientes essenciais. É altamente perecível e tem uma vida útil curta, levando a altas perdas pós-colheita, de cerca de 20–50%, devido ao mau manuseio e deterioração da qualidade^{16,17}. A fim de reduzir as perdas pós-colheita, o plátano é colhido quando verde, mas maduro, e maturado artificialmente com o uso de agentes de maturação quando necessário. Os agentes de maturação são substâncias que aceleram o processo de amadurecimento. Alguns exemplos incluem gás etileno, etefon, etilenoglicol e carbureto de cálcio¹⁸. O uso de agentes de maturação artificial pode dar às frutas uma cor mais agradável do que as frutas naturalmente amadurecidas¹⁹.

Nos últimos anos, o amadurecimento artificial de frutas tem sido considerado motivo de preocupação devido a várias questões relacionadas à saúde^{12,20}. O CaC_2 é comumente usado para amadurecer frutas, especialmente em países em desenvolvimento como a Nigéria. A razão de seu uso é simplesmente porque ocorre a produção de etileno quando a água é adicionada ao carbureto. O etileno é um fitormônio que estimula e regula o processo de amadurecimento nas plantas. Portanto, como o carbureto de cálcio produz etileno na presença de água, geralmente ele é adicionado às frutas e borrifado com água, para estimular forçadamente o amadurecimento²¹.

Foram relatados diversos casos de distúrbios estomacais após a ingestão de mangas amadurecidas por carbureto¹². O CaC_2 comercial é conhecido por ser contaminado por produtos químicos tóxicos, como arsênico e hidreto de fósforo²². Portanto, adicionar CaC_2 às frutas para estimular o processo de maturação pode ser uma prática perigosa, pois pode afetar a saúde dos consumidores. Assim, os seres humanos correm o risco de efeitos na saúde a curto e longo prazo simplesmente por comerem frutas que são amadurecidas artificialmente. Devido ao aumento da demanda por frutas como fonte dietética de minerais, vitaminas e fibras alimentares, o uso de métodos

artificiais para amadurecer frutas também aumentou significativamente, independentemente dos possíveis riscos à saúde que podem resultar de tais métodos.

No entanto, os efeitos desses agentes artificiais de maturação sobre os valores nutricionais das frutas, a possível toxicidade e os riscos associados à saúde ainda não foram totalmente compreendidos⁹. Este estudo, portanto, teve como objetivo compreender as alterações ou efeitos do consumo de plátano amadurecido artificialmente nas funções renais, utilizando modelos animais.

MATERIAIS E MÉTODOS

PLÁTANO E MÉTODOS DE MATURAÇÃO

O plátano utilizado para este estudo foi obtido da Universidade de Benin, Nigéria. O mesmo foi identificado e autenticado como *Musa paradisiaca* por um botânico do Departamento de Biologia Vegetal e Biotecnologia da Universidade de Benin. Os plátanos foram divididos em quatro grupos: amadurecidos na árvore (maturação na árvore), amadurecidos no solo após a colheita (maturação no solo), induzidos por CaC₂ (maturação por carbureto), e amadurecidos usando saco de polietileno (maturação em saco de polietileno). Para a maturação na árvore, o plátano foi deixado na árvore para amadurecer naturalmente por cerca de 2 semanas, e depois colhido. Para a maturação por carbureto, o plátano foi colocado dentro de uma caixa vazia, borrifado com 218 g de CaC₂ seguido de uma pequena borrifada de água, e a caixa foi devidamente coberta e colocada em um armário escuro. Para a maturação por polietileno, o plátano foi colocado em um saco de polietileno e deixado em um armário escuro até amadurecer, enquanto para a maturação no solo, o plátano foi colocado no solo e deixado para amadurecer por conta própria, sem indutor.

PREPARAÇÃO DA DIETA DOS RATOS

Após três dias de armazenamento, o plátano naturalmente maturado havia amadurecido completamente, mas foram necessários cinco dias para que o plátano induzido por polietileno e CaC₂ amadurecesse. As cascas do plátano foram removidas e descartadas, e o peso das amostras de plátano descascado foi registrado. O plátano foi então seco no forno e pulverizado. O plátano pulverizado foi utilizado para fazer a ração animal. A ração animal foi composta

por 500 g de plátano em pó e 500 g de ração para ratos normal, que foi transformada em uma pasta com 50 mL de água destilada, e posteriormente transformada em pellets. Os pellets foram secos por vários dias até endurecerem e depois usados para alimentar os animais.

ANIMAIS E DIETA

Ratos Wistar albinos fêmeas foram comprados e utilizados para este estudo. Os ratos foram divididos em cinco grupos de três animais cada. Foi permitido que os animais se aclimassem por duas semanas com livre acesso à água e ao alimento. Os animais foram mantidos em gaiolas limpas, e alojados em uma sala bem ventilada, com condições de vida padrão, com alimento e água trocados todos os dias. O desenho experimental/grupo de animais e dietas são mostrados na Tabela 1.

Os animais foram alimentados com essas dietas por quatro (4) semanas. Após quatro semanas, os animais foram anestesiados com clorofórmio e sacrificados. Foram coletadas amostras de sangue e colhidos tecidos para processamento e análise posteriores. A concentração de eletrólitos plasmáticos (Na⁺, HCO₃⁻, K⁺ e Cl⁻), os níveis de ureia e creatinina foram determinados usando kits de diagnóstico padrão e seguindo os protocolos do fabricante. Este estudo foi realizado de acordo com o Procedimento Padrão da Universidade de Benin para o Uso, Bem-Estar e Regulamentação Animal.

ANÁLISE HISTOLÓGICA

Uma secção medindo cerca de 3–5 mm de espessura foi cortada do tecido renal, preservada em formalina a 10% e colocada em um cassete histológico. O processador automático de tecidos Leica TP2010 foi utilizado no processamento da secção do tecido por 18 h, e posteriormente, o tecido foi fixado em formalina a 10%, desidratado com concentração crescente de álcool isopropílico, limpo com xileno, e

TABELA 1 GRUPO DE ANIMAIS E DIETAS

Grupos de animais	Dietas
I	Ração normal para ratos (controle)
II	Ração com plátano maturado por CaC ₂ (RPC)
III	Ração com plátano maturado em saco de polietileno (RPSP)
IV	Ração com plátano maturado no solo (RPS)
V	Ração com plátano maturado na árvore (RPA)

depois impregnado com cera de parafina. Os tecidos foram embebidos em cera de parafina com uma máquina automática de embeber tecidos e cortados em secções ultrafinas de cinco micras. As secções foram colocadas em lâminas pré-marcadas, secas durante a noite e submetidas à coloração de hematoxilina e eosina. As lâminas preparadas foram examinadas sob um microscópio com aumentos de $\times 10$ e $\times 40$.

ANÁLISE DE DADOS

Todos os dados são expressos como média \pm EP ($n = 3$). A significância estatística foi determinada usando ANOVA de uma via e GraphPad prism 8 seguido por testes de Tukey-Kramer. Foi considerado estatisticamente significativo o valor de $P < 0,05$.

RESULTADOS

CONCENTRAÇÃO DE ELETRÓLITOS PLASMÁTICOS ALTERADA POR PLÁTANO MATURADO POR CaC_2

Os resultados na Figura 1A indicam que os vários métodos de maturação do plátano não alteraram

a concentração de íons de sódio. No entanto, a concentração plasmática de bicarbonato aumentou significativamente em ratos alimentados com plátano amadurecido por CaC_2 em comparação com ratos dos outros grupos (Figura 1B). Além disso, foi registrada uma redução significativa nas concentrações de potássio e cloreto em ratos alimentados com plátano amadurecido por CaC_2 em comparação com os outros grupos (Figura 1C e D). Estes dados sugerem que o consumo de plátano amadurecido por CaC_2 de cálcio resulta em alterações plasmáticas.

CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE UREIA E CREATININA EM RATOS AUMENTADAS POR PLÁTANO MATURADO POR CaC_2

O efeito de diversos métodos de maturação do plátano na concentração plasmática de ureia e creatinina dos ratos é apresentado na Figura 2. Os resultados indicam que o plátano maturado por CaC_2 aumentou significativamente as concentrações plasmáticas de ureia e creatinina em comparação com os ratos nos outros grupos (Figuras 2A e B). Estes resultados

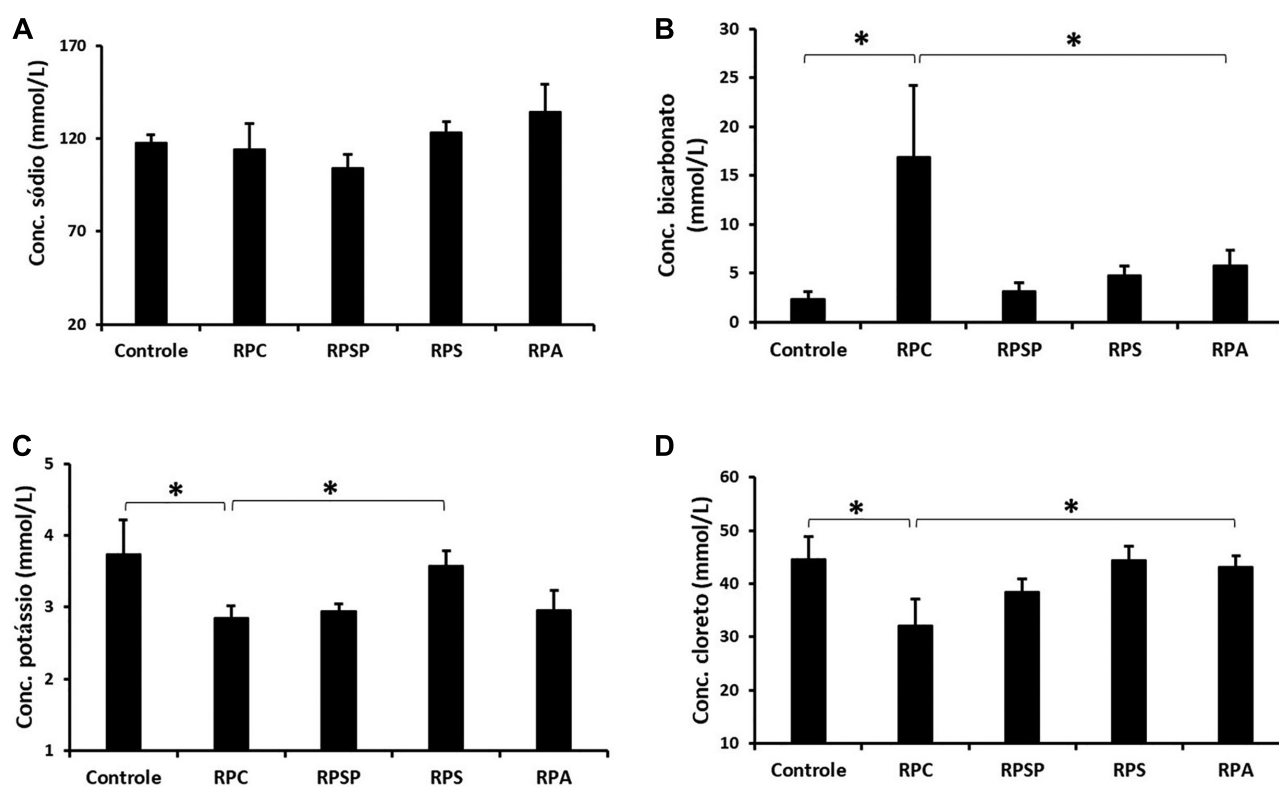


Figura 1. Alterações na concentração plasmática de eletrólitos induzidas por plátano maturado por CaC_2 . (A) Concentração de íons de sódio. (B) Concentração de íons bicarbonato. (C) Concentração plasmática de íons potássio. (D) Concentração plasmática de íons cloreto. RPC: Ração com plátano maturado por carbureto; RPSP: Ração com plátano maturado em saco de polietileno; RPS: Ração com plátano maturado no solo; RPA: Ração com plátano maturado na árvore. Todos os dados são expressos como média \pm EP ($n = 3$). * $p < 0,05$.

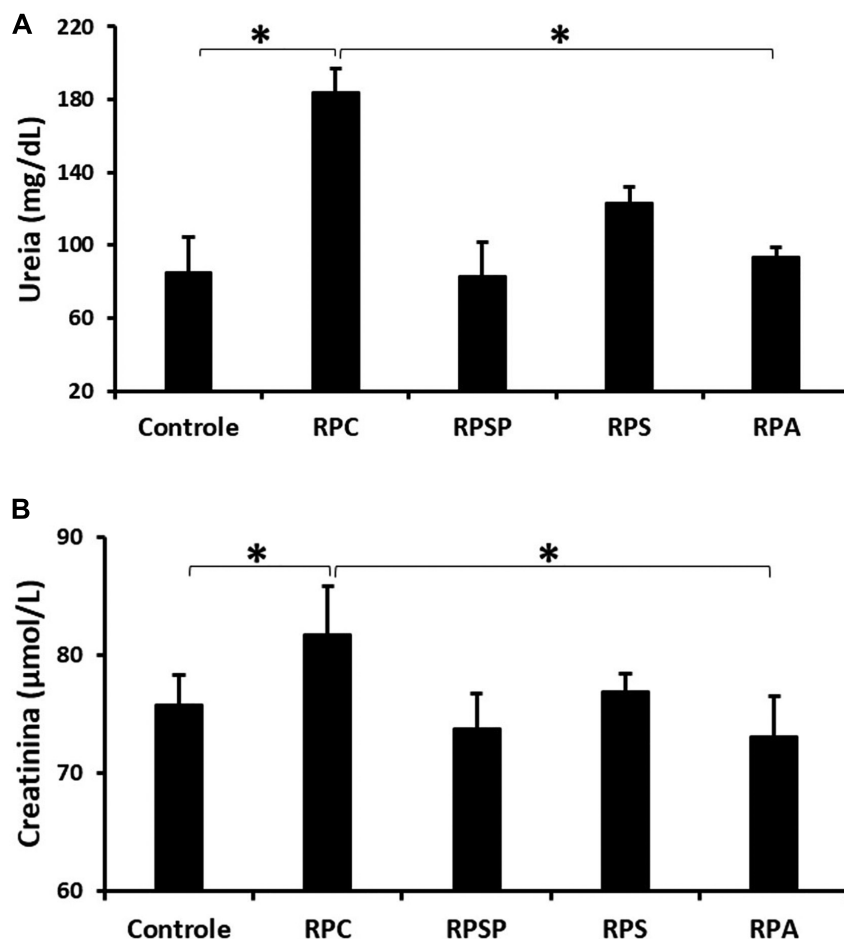


Figura 2. Concentração plasmática de ureia (A) e creatinina (B) aumentada devido ao plátano amadurecido por CaC_2 em ratos. RPC: Ração com plátano maturado por carbureto; RPSP: Ração com plátano maturado em saco de polietileno; RPS: Ração com plátano maturado no solo; RPA: Ração com plátano maturado na árvore. Todos os dados são expressos como média \pm EP (n = 3). *p < 0,05.

sugerem que o consumo de plátano amadurecido por CaC_2 resulta na elevação das concentrações plasmáticas de ureia e creatinina.

ATROFIA GLOMERULAR E NECROSE TUBULAR INDUZIDAS POR PLÁTANO MATURADO POR CaC_2

Rins de ratos que foram alimentados com plátano amadurecido com CaC_2 mostraram atrofia glomerular e necrose tubular. Os rins de ratos dos outros grupos apresentaram corpúsculo renal normal com glomerúlos e túbulos intersticiais e proeminentes normais (Figuras 3A, C–E). Estes resultados indicaram que o plátano amadurecido por CaC_2 foi tóxico para os rins.

DISCUSSÃO

As frutas desempenham um papel vital na nutrição humana¹², e, a fim de atender à crescente demanda por frutas maduras, elas são geralmente submetidas ao

amadurecimento artificial por meio de vários métodos e produtos químicos, tais como CaC_2 e sacos de polietileno²³. Neste estudo, foi investigado o impacto fisiológico do consumo de plátano amadurecido por meios artificiais.

Os eletrólitos são moléculas carregadas positiva ou negativamente chamadas íons, que são encontrados dentro de células e fluidos extracelulares, incluindo o plasma. A concentração desses íons é analisada rotineiramente para determinar o estado funcional dos rins. A função dos rins para manter a homeostase dos eletrólitos e alterações nas concentrações plasmáticas de eletrólitos é um reflexo das mudanças no estado funcional dos rins. A concentração anormalmente elevada de íon de sódio no sangue afeta a pressão osmótica dos fluidos corporais, o que resulta em um aumento da pressão sanguínea²⁴. O sódio é um eletrólito extracelular

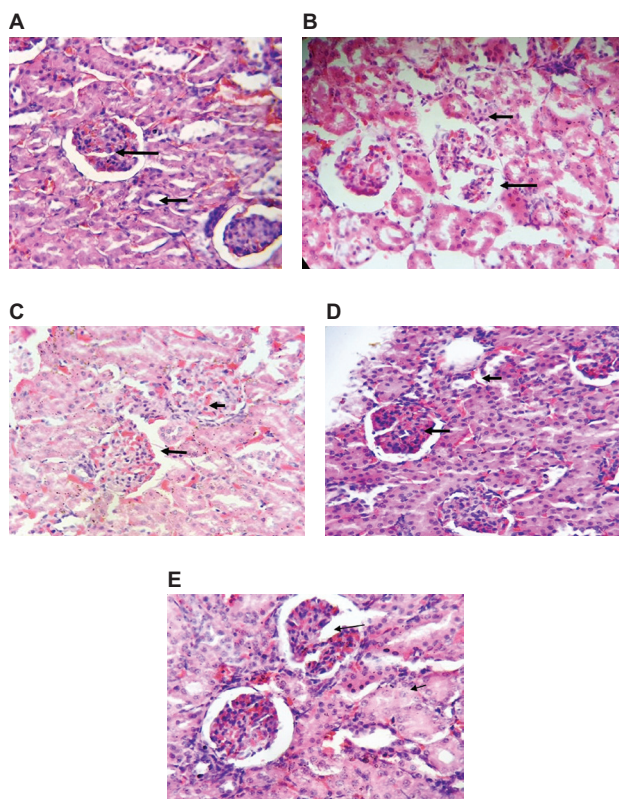


Figura 3. Análise histológica dos rins de ratos que receberam dietas formuladas com plátano. (A) Rim representativo de rato alimentado com ração animal normal. (B) Rim representativo de ratos alimentados com ração com plátano maturado por CaC_2 (RPC). (C) Rim representativo de rato alimentado com ração com plátano maturado no solo (RPS). (D) Rim representativo de rato alimentado com ração com plátano maturado em saco de polietileno (RPSP). (E) Rim representativo de rato alimentado com ração com plátano maturado na árvore (RPA). $n = 3$.

muito importante e sua depleção no sangue leva à desidratação e hipotensão²⁵. Os resultados deste estudo mostraram que as várias formulações de dieta não alteraram significativamente a concentração plasmática de sódio em comparação com ratos do grupo controle (Figura 1A). Nosso resultado está de acordo com o relato de Igbinađuwa e Aikpitanyi-Iduitua²⁶, que mostraram que o plátano maturado artificialmente não produziu uma alteração na concentração plasmática de sódio.

Um aumento significativo na concentração plasmática de bicarbonato foi observado em ratos alimentados com plátano amadurecido por CaC_2 em comparação com os outros grupos (Figura 1B). O íon bicarbonato desempenha um papel na regulação do estado ácido-base do sangue²⁷. O nível plasmático do íon bicarbonato é uma medida do status metabólico dos rins e do fígado²⁸. Alterações na concentração plasmática do íon bicarbonato são

uma indicação de um desequilíbrio no mecanismo regulador do equilíbrio ácido-base do corpo^{29,30}.

A alimentação à base de plátano amadurecido por CaC_2 induziu uma redução significativa na concentração plasmática de potássio em comparação com o grupo controle (Figura 1C). A concentração plasmática de potássio em animais alimentados com RPSP e RPA não foi diferente daqueles que receberam ração com plátano amadurecido com CaC_2 , e a razão para isso não é clara. No entanto, esta redução significativa na concentração de íons potássio é uma indicação de que agentes ou métodos de amadurecimento artificial podem resultar em pressão arterial elevada nos consumidores, uma vez que o potássio também desempenha um papel de proteção na regulação da pressão arterial³¹.

A concentração plasmática de cloreto em ratos alimentados com plátano amadurecido com carbureto foi significativamente menor em comparação com o controle e os outros grupos (Figura 1D), e esta observação está de acordo com o relato de Igbinađuwa e Aikpitanyi-Iduitua²⁶, que também reportaram que o plátano maturado artificialmente produziu um desequilíbrio na concentração plasmática de cloreto. A baixa concentração plasmática de cloreto é uma indicação de um distúrbio no equilíbrio ácido-base³².

A progressão da lesão renal é marcada pelos níveis plasmáticos de duas substâncias químicas importantes: creatinina e ureia. Os níveis plasmáticos de ureia e creatinina são usados para avaliar a taxa de filtração glomerular e subsequentemente a função renal³³. A creatinina é uma base orgânica formada durante o metabolismo da proteína muscular como produto de degradação da creatina fosfato³⁴, enquanto a ureia é o principal produto final nitrogenado do catabolismo de proteínas e aminoácidos no fígado. A ureia é transportada no sangue para os rins onde é filtrada pelo glomérulo e excretada na urina³⁵. Portanto, os rins desempenham um papel na manutenção e regulação da concentração plasmática de ureia³⁶. Os resultados deste estudo indicam que a ração com plátano maturado por CaC_2 induziu um aumento significativo em ambas as concentrações plasmáticas de ureia e creatinina em comparação com os outros grupos (Figuras 2A e B). A elevada concentração plasmática de creatinina é uma indicação de uma filtração glomerular prejudicada, o que, por sua vez, resulta em uma diminuição da capacidade dos rins de excretar produtos residuais. Além disso, a avaliação

histológica dos rins de ratos alimentados com plátano amadurecido por carbureto mostrou atrofia glomerular e necrose tubular, que é uma indicação de lesão renal. Nossas observações suportam as de Ouma et al.³⁷ que demonstraram uma diminuição significativa no volume de células concentradas (PCV, por sua sigla em inglês), hemoglobina e glóbulos vermelhos, bem como um aumento na concentração sérica de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), bilirrubina e citocinas pró-inflamatórias, tais como fator de necrose tumoral (TNF)- α e interferon (IFN- γ) em camundongos após a administração oral de CaC₂, o que indicou que o CaC₂ é tóxico para os tecidos corporais. Nossos dados, portanto, indicaram uma possível lesão ou disfunção renal induzida por carbureto de cálcio.

CONCLUSÃO

As alterações observadas nas concentrações de eletrólitos plasmáticos, ureia e creatinina podem ser o resultado de um possível dano renal induzido pelo CaC₂ utilizado no processo de maturação. Portanto, o uso de produtos químicos como o carbureto de cálcio para a maturação artificial de frutas deve ser desencorajado, uma vez que pode resultar em danos ou disfunções renais nos consumidores.

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

OCU e CAA conceptualizaram e desenharam o estudo, realizaram os experimentos, e coletaram e analisaram os dados. OCU e CAA redigiram o manuscrito, revisaram-no e aprovaram a versão final.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores não têm nenhum conflito de interesses a declarar.

REFERÊNCIAS

1. Brady CJ. Fruit ripening. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol.* 1987;38(1):155–78. doi: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.pp.38.060187.001103>.
2. Prasanna V, Prabha TN, Tharanathan RN. Fruit ripening phenomena: an overview. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2007;47(1):1–19. doi: <http://dx.doi.org/10.1080/10408390600976841>. PubMed PMID: 17364693.
3. Kendrick M. The origin of fruit ripening, in scientific American. New York (NY): Nature America; 2009.
4. Bouzayen M, Latche A, Nath P, Pech JC. Mechanism of fruit ripening. In: Pua EC, Davey MR, editors. *Plant developmental biology – biotechnological perspectives.* New York (NY): Springer; 2010. doi: http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-02301-9_16.
5. El Hadi MAM, Zhang FJ, Wu FF, Zhou CH, Tao J. Advances in fruit aroma volatile research. *Molecules.* 2013;18(7):8200–29. doi: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules18078200>. PubMed PMID: 23852166.
6. Bhattarai UK, Shrestha K. Use of calcium carbide for artificial ripening of fruits, its application and hazards. *J Food Sci Technol Nepal.* 2005;1(1):3–6.
7. Hossain MF, Akhtar S, Anwar M. Health hazards posed by the consumption of artificially ripened fruits in Bangladesh. *Int Food Res J.* 2015;22(5):1755–60.
8. Rahim MA. Indiscriminate use of chemical in fruits and their health effects. In *Proceedings of First AFSSA Conference on Food Safety and Food Security.* Osaka: Osaka Prefecture University; 2012. p. 17–25.
9. Mursalat M, Rony AH, Rahman AHS, Islam MN, Khan MS. A critical analysis of artificial fruit ripening: scientific, legislative and socio-economic aspects. *Chethoughts.* 2013;4(1):6–12.
10. Maduwanthi SDT, Marapana RA. Induced ripening agents and their effect on fruit quality of banana. *Int J Food Sci.* 2019;2019:2520179. doi: <http://dx.doi.org/10.1155/2019/2520179>. PubMed PMID: 31187037.
11. Goonatilake R. Effects of diluted ethylene glycol as a fruit-ripening agent. *Glob J Biotechnol Biochem.* 2008;3(1):8–13.
12. Siddiqui MW, Dhua RS. Eating artificial ripened fruits is harmful. *Curr Sci.* 2010;99(12):1664–8.
13. Danlami U, Ijoh JJ, David BM. Phytochemical screening, proximate analysis and anti-oxidant activities of ripe and unripe plantain powder of *Musa paradisiaca* and *Musa accuminata*. *American Journal of Bioscience and Bioengineering.* 2015;3(5):87–90. doi: <http://dx.doi.org/10.11648/j.bio.20150305.21>.
14. Onwuka GI, Onwuka N. Effects of ripening on the functional properties of plantain and plantain-based cake. *Int J Food Prop.* 2005;8(2):347–53. doi: <http://dx.doi.org/10.1081/JFP-200059489>.
15. Baiyeri K, Aba SC, Otitoju GT, Mbah OB. Effect of ripening and cooking methods on the mineral and proximate composition of plantain (*Musa sp.*) Fruit pulp. *Afr J Biotechnol.* 2011;10(36):6979–84.
16. Ajayi AR, Mbah GO. Identification of indigenous ripening technologies of banana and plantain fruits among women-marketers in Southeastern Nigeria. *Journal of Agriculture and Food.* 2007;3:23–7.
17. Zewter A, Woldetsadik K, Workneh TS. Effect of 1-methylcyclopropene, potassium permanganate and packing on quality of banana. *Afr J Agric Res.* 2012;7(16):2425–37. doi: <http://dx.doi.org/10.5897/AJAR11.1203>.
18. Singal S, Kumud M, Thakral S. Application of apple as ripening agent for banana. *Ind J of Nat Prod and Res.* 2012;3(1):61–4.
19. Hakim MA, Obidul Huq AK, Alam MA, Khatib A, Saha BK, Haque KMF, et al. Role of health hazardous ethephon in nutritive values of selected pineapple, banana and tomato. *J Food Agric Environ.* 2012;10(2):247–51.
20. Fattah SA, Ali MY. Carbide ripened fruits: a recent health hazard. *Faridpur Medical College Journal.* 2010;5(2):37. doi: <http://dx.doi.org/10.3329/fmcj.v5i2.6816>.
21. Iqbal N, Khan NA, Ferrante A, Trivellini A, Francini A, Khan MIR. Ethylene role in plant growth, development and senescence: interaction with other phytohormones. *Front Plant Sci.* 2017;8:475–93. doi: <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2017.00475>. PubMed PMID: 28421102.
22. Per H, Kurtoglu S, Yagmur F, Gumus H, Kumandas S, Poyrazoglu H. Calcium carbide poisoning via food in childhood. *J Emerg Med.* 2007;32(2):179–80. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jemermed.2006.05.049>. PubMed PMID: 17307629.
23. Hewajulige IGN, Premaseela HDSR. Fruit ripening: importance of artificial fruit ripening in commercial agriculture and safe use of the technology for consumer health. *Sri Lanka Journal of Food and Agriculture.* 2020;6(1):57–66. doi: <http://dx.doi.org/10.4038/sljfa.v6i1.82>.
24. Cheesbrough M. *District laboratory practice in tropical countries: part 1.* Cambridge: Cambridge University Press; 2002. p. 229–333.

25. Terry J. The major electrolytes: sodium, potassium, and chloride. *J Intraven Nurs.* 1994;17(5):240–7. PMID:7965369.
26. Igbinaduwa PO, Aikpitanyi-Iduitua RO. Calcium carbide induce alterations of some haematological and serum biochemical paramters of wistar rats. *Asian J Pharm Hea Sci.* 2016;6(1):1396–400.
27. Ali FU, Ibiam UA. Phytochemical studies and GC-MS analysis *Ogongronema latifolium* and *Piper guineense*. *Int J Innov Res Dev.* 2014;3:108–15.
28. Tiku SC. *Piper guineense* leaf extract on reproductive organ of male rats. *J Nat Prod.* 2007;44:78–81.
29. Ujowundu CO, Kalu FN, Nwaoguikpe RN, Okechukwu RI, Ihejirika CE. The antioxidative potentials of *G. latifolium* on diesel petroleum induced hepatotoxicity. *J Appl Pharm Sci.* 2015;2:90–4.
30. Ali FU, Ominyi MC, Ogbanshi ME. Comparative evaluation of effect of *Gongronema latifolium* and *Piper guineense* ethanol extract against scavenging enzymes and marker of oxidative stress in ethanol induced liver injury in wistar rats. *Int J Innov Res Dev.* 2015;4:61–71.
31. Henry RJ. Determination of serum creatinin. In: Henry RJ, editor. *Clinical chemistry: principles and techniques.* London: Harper and Row; 1974. p. 525–30.
32. Abubakar SM, Sule MS. Effect of oral administration of aqueous extract of *Cassia occidentalis* L. seeds on serum electrolytes concentration in rats. *Bayero J Pure Appl Sci.* 2010;3(1):183–7. doi: <http://dx.doi.org/10.4314/bajopas.v3i1.58780>.
33. Nisha R, Srinivasa KSR, Thanga MK, Jagatha P. Biochemical evaluation of creatinine and urea in patients with renal failure undergoing hemodialysis. *J Clin Path Lab Med.* 2017;1(2):1–5.
34. Wyss M, Kaddurah-Daouk R. Creatine and creatinine metabolism. *Physiol Rev.* 2000;80(3):1107–213. doi: <http://dx.doi.org/10.1152/physrev.2000.80.3.1107>. PubMed PMID: 10893433.
35. Poortmans JR, Vanderstraeten J. Kidney function during exercise in healthy and diseased humans. *Sports Med.* 1994;18(6):419–37. doi: <http://dx.doi.org/10.2165/00007256-199418060-00006>. PubMed PMID: 7886356.
36. Wadei HM, Textor SC. The role of the kidney in regulating arterial blood pressure. *Nat Rev Nephrol.* 2012;8(10):602–9. doi: <http://dx.doi.org/10.1038/nrneph.2012.191>. PubMed PMID: 22926246.
37. Ouma PA, Mwaeni VK, Amwayi PW, Isaac AO, Nyariki JN. Calcium carbide-induced derangement of hematopoiesis and organ toxicity ameliorated by cyanocobalamin in a mouse model. *Lab Anim Res.* 2022;38(1):26. doi: <http://dx.doi.org/10.1186/s42826-022-00136-1>. PubMed PMID: 35962424.