



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ - UFPI
CAMPUS SENADOR HELVÍDIO NUNES DE BARROS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - MODALIDADE LICENCIATURA

Francisca Ires da Silva Santos

**ATIVIDADE ANTICITOTÓXICA E ANTIMUTAGÊNICA DO SUCO DE CAJU E DA
CAJUÍNA EM MERISTEMAS DE RAÍZES DE *Allium cepa* L.**

Picos

Julho/2014

Francisca Ires da Silva Santos

**ATIVIDADE ANTICITOTÓXICA E ANTIMUTAGÊNICA DO SUCO DE CAJU E DA
CAJUÍNA EM MERISTEMAS DE RAÍZES DE *Allium cepa* L.**

Monografia apresentada ao curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Piauí, Campus Senador Helvídio Nunes de Barros, como requisito parcial para a obtenção do grau de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Me. João Marcelo de Castro e Sousa

Picos

Julho/2014

Eu, **Francisca Ires da Silva Santos**, abaixo identificado(a) como autor(a), autorizo a biblioteca da Universidade Federal do Piauí a divulgar, gratuitamente, sem ressarcimento de direitos autorais, o texto integral da publicação abaixo discriminada, de minha autoria, em seu site, em formato PDF, para fins de leitura e/ou impressão, a partir da data de hoje.

Picos-PI, 05 de novembro de 2014.

Francisca Ires da Silva Santos

Assinatura

FICHA CATALOGRÁFICA

Serviço de Processamento Técnico da Universidade Federal do Piauí
Biblioteca José Albano de Macêdo

S237a Santos, Francisca Ires da Silva.
Atividade anticitotóxica e antimutagênica do suco de caju e da cajuína em meristemas de raízes *allium cepa* L. / Francisca Ires da Silva Santos. – 2014.
CD-ROM : il; 4 ¾ pol. (30 p.)

Monografia(Licenciatura em Ciências Biológicas) –
Universidade Federal do Piauí. Picos-PI, 2014.
Orientador(A): Prof. MSc. João Marcelo de Castro e Sousa

1. Anacardium Occidentale L. 2. Allium Cepa L. 3. Suco de Caju. 4. Cajuína. I. Título.

CDD 664.804


Francisca Ires da Silva Santos

**ATIVIDADE ANTICITOTÓXICA E ANTIMUTAGÊNICA DO SUCO DE CAJU E
DA CAJUÍNA EM MERISTEMAS DE RAÍZES DE *Allium cepa* L.**

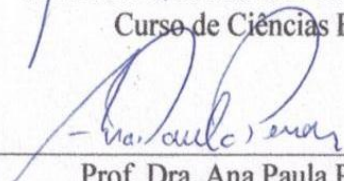
Monografia apresentada ao curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Piauí, Campus Senador Helvídio Nunes de Barros, como requisito parcial para a obtenção do grau de Licenciado em Ciências Biológicas.

Monografia aprovada em 31 / 07 / 14

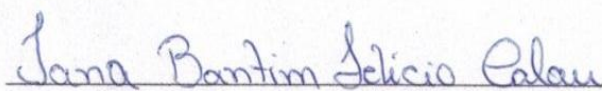
BANCA EXAMINADORA



Prof. Me. João Marcelo Castro e Sousa (Orientador)
Curso de Ciências Biológicas – UFPI



Prof. Dra. Ana Paula Peron (Examinadora)
Curso de Ciências Biológicas – UFPI



Prof. Dra. Iana Bantim Felicio Calou (Examinadora)
Curso de Bacharelado em Nutrição – UFPI

Prof. Me. Leonardo Henrique Guedes de M. Lima (Suplente)

A minha tia, Luciene Maria da Silva, a pessoa que mais acredita em mim, mesmo sem um motivo específico, sem precisar de provas, ou explicações... em qualquer momento ou situação, ela apenas acredita. A ti, dedico essa vitória!

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por doar-me a vida, por toda força e paciência que me proporcionaste nos momentos difíceis permitindo assim superar os obstáculos que surgiram ao longo desse percurso e a conclusão de mais uma etapa essencial em minha vida.

Aos meus pais, Júlio Antônio dos Santos e Maria da Cruz Silva, pelo exemplo de vida, por todo apoio, dedicação e acima de tudo por abdicar dos seus sonhos em prol dos meus... Amo-os!

Ao casal, (Luciene Maria e Raimundo Armstrong) pelo incentivo, compreensão e confiança em mim depositada, vocês foram armas fundamentais nessa conquista!

Ao meu Orientador Prof. Me. João Marcelo Castro e Sousa, por me orientar com sabedoria e profissionalismo, por todo apoio, paciência, compreensão, por sua presença constante e, principalmente, por sempre ter acreditado em mim!

As minhas companheiras (Graça, Ana Maria e Géssica) por estarem junto comigo nessa conquista, pelo ótimo convívio, pelas confidências, pelas conversas jogadas fora, por cada minuto compartilhado... Um pedacinho de vocês irá sempre me acompanhar: uma lembrança, uma brincadeira, e até mesmo uma bronca... Só tenho a agradecer por fazerem parte da minha vida... Amo-as!

Aos meus colegas em especial, Demerval, Reginaldo, e Leticia pelo companheirismo vivido, pela correria de cada final de período e pelos obstáculos superados juntos... Obrigado por tornarem os meus dias mais felizes!

Aos amigos e companheiros de laboratório, em especial, Ronielsom por me acompanhar nesta caminhada e permanecer ao meu lado nos altos e baixos dessa jornada. **MUITÍSSIMO OBRIGADO!**

Aos mestres pelos ensinamentos repassados, as dúvidas esclarecidas, pela amizade e paciência que para conosco tiveram.

A Todos que direto ou indiretamente contribuíram para essa conquista, meu muito **OBRIGADO.**

“Há um tempo em que é preciso abandonar as roupas usadas, que já tem a forma do nosso corpo, e esquecer os nossos caminhos, que nos levam sempre aos mesmos lugares. É o tempo da travessia: e, se não ousarmos fazê-la, teremos ficado, para sempre, à margem de nós mesmos”.

(Fernando Pessoa)

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 - Número Total de células em raízes de <i>Allium cepa</i> analisadas em diferentes tratamentos no tempo de exposição de 24 horas. Foram analisadas 5.000 células para cada tratamento.....	20
Tabela 02 – Número Total de células em raízes de <i>Allium cepa</i> analisadas em diferentes tratamentos no tempo de exposição 48 horas. Foram analisadas 5.000 células para cada tratamento.....	21
Tabela 03 – Efeitos antimutagenicos do co-tratamento com paracetamol, suco de caju ou Cajuína em células meristemáticas de <i>allium cepa</i> , no tempo de exposição de 24 horas.....	24
Tabela 04 –Efeitos antimutagenicos do co-tratamento com paracetamol, suco de caju ou Cajuína em células meristemáticas de <i>allium cepa</i> , no tempo de exposição de 48 horas.....	24

LISTA DE FIGURAS

Figura 01-: atividade anticitotóxica dos compostos bioativos do caju e cajuína quando administrado juntamente com um CP utilizado em sistemas testes vegetais com TE de 24 horas.....	20
Figura 02- Atividade anticitotóxica dos compostos bioativos do caju e cajuína quando administrado juntamente com um CP utilizado em sistemas testes vegetais com TE de 48 horas.....	21
Figura 03 – Células vegetais com as principais aberrações cromossômicas encontradas nos tratamentos utilizando paracetamol 400mg/l.....	22
Figura 04- Atividade antimutagênica dos compostos bioativos do caju e cajuína quando administrado juntamente com um CP utilizado em sistemas testes vegetais com TE de. 24 horas.....	24
Figura 05 - Atividade antimutagênica dos compostos bioativos do caju e cajuína quando administrado juntamente com um CP utilizado em sistemas testes vegetais com TE de 48hs.....	25

SUMÁRIO

1 REFERENCIAL TEÓRICO.....	10
1.1 Características gerais de <i>Anacardium occidentale</i> L.....	10
1.2 Principais nutrientes e importância.....	11
1.3 <i>Allium cepa</i> como organismo-teste.....	13
2 DESENVOLVIMENTO (Anexação do Artigo).....	15
2.1 INTRODUÇÃO.....	16
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	17
2.2.1 Obtenções dos respectivos sucos e cajuínas alimentares e definição das concentrações.....	17
2.2.2 Obtenções de células meristemáticas de raízes de <i>A. cepa</i> para a análise citogenética.....	18
2.2.3 Prepare leitura das lâminas, e análise dos dados.....	18
2.2.4 Análise estatística.....	19
2.2.5 Cálculo da Porcentagem de Inibição.....	19
2.2.6 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
3 CONCLUSÃO.....	26
REFERÊNCIAS.....	27

1 REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 Características Gerais de *Anacardium occidentale L.*

De acordo com Sousa e Lorenzi, (2008) o caju, do qual é produzida a cajuína pertence à mesma família da manga, do cajá, do umbu, da seriguela e da aroeira. Ele já é usado na culinária regional há bastante tempo em forma de doces, sucos e outras sobremesas. Entretanto, o que poucos sabem é que ele possui também inúmeros benefícios para a saúde e as receitas medicinais em que ele é utilizado têm se revelado muito eficazes. É uma espécie frutífera de grande importância econômica, principalmente para alguns Estados do Nordeste brasileiro.

No Brasil, a exploração econômica do cajueiro, tanto para produção de castanha como para consumo *in natura*, concentra-se na região Nordeste responsável por 94% da produção, principalmente nos Estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte, (RABBANI, *et al.*, 2012).

O cajueiro ocupa lugar de destaque entre as frutíferas cultivadas em zonas tropicais, devido a um sistema reprodutivo predominantemente alogâmico, há um alto nível de heterogeneidade nas populações de cajueiro afirma (BARROS, 1988). Na natureza há dois tipos de cajueiros da espécie *Anacardium occidentale L.*, os quais são definidos de acordo com suas características de porte denominados de cajueiro comum e cajueiro-anão-precoc. O porte e tamanho da copa dependem do genótipo e das condições de clima e solo (LUCENA, 2006).

O pedúnculo do cajueiro é consumido não só pelas qualidades gustativas, mas, sobretudo, pelo seu elevado teor de vitamina C. Este pode ser consumido *in natura* como também a partir do mesmo pode-se obter bebidas (sucos, cajuínas, néctares, refrigerantes, fermentados, doces e fibras). Por conseguinte, estima-se que mais de 90 % é desperdiçado. De acordo com (Guanziroli, 2009) para cada 1 kg de castanha, 10 kg de pedúnculo são gerados.

Na questão nutricional o caju também tem muito a oferecer. Ele é rico em carboidratos, fibras, minerais (como cálcio, fósforo e ferro), vitamina C e complexo B. Para se ter uma idéia, ele tem três vezes mais vitamina C do que a laranja (JUNIOR, 1998). Enquanto 100 ml de suco desta última contém 60 mg dessa vitamina, a mesma quantidade de suco de caju concentra de 200 a 250 mg.

Para Maia, Sousa e Lima (2007), a composição química e físico-química do pedúnculo do caju pode variar de acordo com a variedade, solo, safra, grau de maturidade e condições

climáticas. Devido à safra do caju ocorrer em média quatro meses durante o ano é importante à utilização de tecnologia para que o mesmo seja um produto permanente no mercado. Há variações genéticas da fruta, mas elas não indicam diferenças na composição química e na qualidade nutricional. O importante é selecionar aquelas com hastes de textura firme, de tamanho grande e coloração que vai do laranja ao vermelho.

1.2 Principais Nutrientes e importância

Os alimentos não são apenas para nutrir, mas para oferecerem também compostos ou elementos biologicamente ativos, que proporcionam benefícios adicionais à saúde (GOMES, 2007). Pesquisas envolvendo compostos antioxidantes oriundos de fontes naturais têm sido desenvolvidas em diferentes centros de estudos devido à sua importância na prevenção do desencadeamento das reações oxidativas, tanto nos alimentos como no organismo animal (BROIZONI *et al.*, 2007).

Nesse sentido Maia, (2007) afirma que as polpas de frutas têm sido altamente recomendadas, pela riqueza em carboidratos, fibras, minerais, vitamina C, carotenoides, substâncias fenólicas, substâncias sulfuradas, dentre outros, que pela ação antioxidante, “limpadoras” de radicais livres e sequestrantes de carcinógenos e de seus metabólitos, exercem ação protetora contra a evolução de processos degenerativos que conduzem às doenças e ao envelhecimento precoce.

Atualmente, recomenda-se a participação de frutas e hortaliças na dieta, em quantidades generosas, algo como cinco porções ao dia. Da mesma forma, sucos e néctares de frutas naturais são altamente recomendados, como parte da dieta diária, pela presença das substâncias fisiologicamente ativa (MAIA, 2007).

Devido à grande ênfase dada à atividade antioxidante encontrada nos alimentos como modo de ação contra doenças, a capacidade antioxidante desses alimentos tem sido largamente determinada *in vitro*, por vezes, correlacionada às concentrações das substâncias bioativas nos alimentos, de forma a prever o seu efeito na saúde humana. Os antioxidantes, entretanto, possuem diversos modos de ação, e os métodos que determinam a atividade antioxidante medem diferentes ações e são determinados sob diferentes condições (RODRIGUEZ-AMAYA *et al.*, 2008; CAVALCANTE *et al.*, 2003).

Entre os compostos bioativos mais encontrados no suco do caju estão os carotenoides, que além de serem corantes naturais dos alimentos, possuem também atividade biológica.

Além da atividade pró-vitáminica A de alguns carotenoides, outros efeitos benéficos à saúde humana têm sido atribuídos a estes compostos, pró-vitáminicos ou não, tais como: aumento da resposta imune e redução do risco de doenças degenerativas como o câncer, degeneração macular, catarata e doenças cardiovasculares (ASTROG, 1997; GESTER, 1997).

Os carotenoides são sintetizados somente pelas plantas e por microrganismos, sendo as plantas as maiores fontes de carotenoides, os quais são responsáveis por conferir as cores características das frutas, como morango, laranja, maracujá e caju (BOBBIO E BOBBIO, 2001). Estes se acumulam em cloroplastos de todas as plantas verdes como uma mistura de α e β carotenos, β -criptoxantina, luteína, zeaxantina, violaxantina e neoxantina, estando complexadas não-covalentemente com proteínas. Os carotenoides também se encontram em microrganismos, nos quais são sintetizados pela rota metabólica dos isoprenóides (MALDONADO-ROBLEDO *et al.*, 2003).

A vitamina C compõe cerca de (0,2 a 0,3 %) do caju, os valores mais altos dessa vitamina no caju são alcançados no final do amadurecimento, onde a elevação de ácido ascórbico se deve uma queda na atividade enzimática (MOURA, 2004). A vitamina C também apresenta diversas funções biológicas relacionadas ao sistema imunológico, sendo responsável pela formação de colágeno, absorção de ferro, inibição da formação de nitro amidas, como também em tratamentos de casos reumáticos, problemas de pele, agindo como depurativo tônico além de facilitar o uso do cálcio na construção dos ossos e vasos sanguíneos segundo,(WATSOM E ASTROG, 1997).

Outras características podem ser atribuídas ao suco do caju como ser rico em fibras, o que ajuda no funcionamento do intestino e ajuda também a controlar a saciedade, que é de extrema importância para aqueles que necessitam perder peso. Se misturado o seu suco ao chá de carqueja, estes irão agir na limpeza do organismo e melhor digestão. A sua castanha possui ácido anacardiáceo que tem propriedades fortes contra germes e bactérias. Também auxiliando na amenização de dores dentárias, úlceras e lepra (HASSIMOTO, 2005).

Os compostos fenólicos, a vitamina C, os carotenoides e as antocianinas formam o grupo de substâncias que têm ação antioxidante.

“São elas que impedem a formação dos radicais livres, moléculas que danificam as células e provocam uma série de doenças degenerativas, problemas cardíacos e alguns tipos de câncer” afirma (WATSOM E ASTROG, 1997).

Nesse sentido afirma Sentani e Rodriguez-Maya, (2007) que a proteção contra tais doenças, e oferecida pelos carotenoides é associada especialmente à sua ação antioxidante, capacidade de reagir com radicais livres. Todavia, outros mecanismos são também conhecidos: a modulação do metabolismo carcinógeno, inibição da proliferação celular, incremento da diferenciação celular, estímulo da comunicação célula-célula e a filtração da luz azul.

Os carotenoides são percebíveis por apresentar ampla distribuição na natureza, estruturas químicas diversas e funções variadas. Estes estão entre os nutrientes alimentícios mais importantes, são pigmentos responsáveis pelas cores amarelo a laranja ou vermelho de muitas frutas, hortaliças, gema do ovo, crustáceos cozidos e alguns peixes. Por conseguinte são consideradas também substâncias bioativas, com efeitos, e benefícios à saúde e alguns deles apresentam atividade provitamina (AMAYA, 2007).

De acordo com Chitarra; Chitarra,(2005), os pigmentos carotenoides localizam-se nos cloroplastos, associados com a clorofila. Com a degradação da clorofila, os carotenoides previamente presentes nos tecidos tornam-se visíveis ou podem também ser sintetizados com o avanço da maturação dos frutos. Quimicamente, os carotenoides são compostos terpenóides formados por oito unidades de isopreno divididos em dois subgrupos: os carotenos e seus derivados oxigenados e as xantofilas que têm cor intensa, que varia do amarelo ao vermelho.

De acordo com Riedel, (2005) o principal problema de perda destes nutrientes no suco do caju pode ser atribuído no armazenamento de frutos, fato que, esses alimentos continuam no processo de respiração mesmo durante o ciclo vital e as partes do vegetal após a colheita são supridas com os nutrientes necessários ao seu crescimento, maturação e amadurecimento. Nestas etapas, desenvolve numerosos processos biossintéticos e degradativos de forma concomitante ou sequencial, o que resulta em modificações sensíveis em suas características, notadamente na cor, na textura, no sabor, no aroma e no valor nutritivo.

1.3 *Allium cepa* como organismo-teste

Vegetais superiores constituem um importante material para teste de alterações genéticas e são, atualmente, reconhecidos como excelentes indicadores de efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos de ambientes com presença de substâncias químicas e físicas além de alguns trabalhos farmacológicos (GRANT, 1999).

Muitos testes para identificação da presença de químicos potencialmente genotóxicos e mutagênicos vem sendo realizados com este organismo, mostrando bons resultados para este tipo de análise. As células de meristemas radiculares de *A. cepa* apresentam características que as credenciam como um eficiente material para estudos citogenéticos, sendo indicadas para ensaio de aberrações cromossômicas e de micronúcleos (FERNANDES et al., 2005; LEME; MARIN-MORALES, 2008; CARITA; MARIN-MORALES, 2008).

O uso do *A. cepa* como organismo-teste de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade deve-se às características que possui na sua cinética de proliferação, no crescimento rápido de suas raízes, no grande número de células em divisão, na sua alta tolerância a diferentes condições de cultivo, na sua disponibilidade durante o ano todo, no seu fácil manuseio e por possuir cromossomos em número reduzido ($2n=16$) e de grande tamanho (FISKESJÖ, 1985; QUINZANI-JORDÃO, 1987).

O *A. cepa* vem sendo usado para avaliar danos no DNA (aberrações cromossômicas e distúrbios no ciclo mitótico) para determinados tipos de bioensaios. O vegetal é usado para este tipo de análise desde a década de 40 até os dias atuais, avaliando agentes químicos, contribuindo para a sua aplicação crescente no monitoramento ambiental. Os testes com essa espécie têm mostrado uma correlação de 82% deste teste com o de carcinogenicidade em roedores devido a sua alta sensibilidade (LEME; MARIN-MORALES, 2007). Desde então, inúmeros trabalhos tem sido realizados com esse organismo-teste a fim de se obter uma resposta confiável e rápida para a avaliação mutagênica (MATSUMOTO; MARIN-MORALES; 2004; GRISOLIA et al., 2005; EGITO et al., 2007; FERNANDES et al., 2007; CARITA; MARIN-MORALES, 2008).

2 DESENVOLVIMENTO (Anexação do Artigo)

ATIVIDADE ANTICITOTÓXICA E ANTIMUTAGÊNICA DO SUCO DE CAJU E DA CAJUÍNA EM MERISTEMAS DE RAÍZES DE *Allium cepa* L.

Francisca Ires da Silva Santos¹; Iana Bantim Felício Calou², Ana Paula Peron³; João Marcelo de Castro e Sousa³.

1. Graduanda do Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Piauí, CSHNB. Picos-PI, Brasil.
2. Professora do Departamento de Nutrição, Universidade Federal do Piauí, CSHNB. Picos-PI, Brasil.
3. Professores do Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Piauí, CSHNB. Picos-PI, Brasil.

RESUMO: O caju (*Anacardium occidentale*) é uma espécie pertencente à família Anacardiácea. “A Plantação de caju está entre as principais atividades agrônômicas do nordeste do Brasil.”. Isto ocorre em virtude da crescente comercialização dos seus vários produtos, e também o líquido da casca da castanha de caju. Por conseguinte, o presente trabalho teve como objetivo avaliação e verificação da capacidade anticitotóxica e antioxidante do suco do caju e da cajuína testados em meristemas de raízes de *allium cepa*. Para avaliação foi utilizado suco de caju e cajuína e o composto citotóxico (paracetamol), onde em cada dose utilizou-se um grupo de cinco cebolas, que primeiro foram enraizadas em água destilada, e em seguida transferida para suas respectivas soluções. As radículas foram coletadas e fixadas em ácido acético (3:1) por 24 e 48 horas. As lâminas foram preparadas pela técnica de esmagamento e coradas com orceína acética a 2%. Analisaram-se células em todo ciclo celular, totalizando 5.000 para cada controle e tempo de exposição. Por consecutiva o suco de caju e Cajuína exibiu atividade antígeno-tóxica e antimutagênica, interferindo na mutagênese in vitro induzida pelo paracetamol. Sendo os efeitos de proteção atribuídos principalmente à ação radical-limpeza livre do suco do caju e cajuína.

PALAVRAS-CHAVE: *Anacardium occidentale*. Vitamina C. Radicais livres. Alterações cromossômicas.

ABSTRACT: The cashew (*Anacardium occidentale*) is a species belonging to the Anacardiácea family. "The cashew plantation is among the major agronomic activities in northeastern Brazil." This occurs due to the increasing commercialization of its various products, and also shell liquid cashew nuts. Therefore, this study aimed to evaluate and verify the anticitotoxic and antioxidant capacity of the cashew juice and cajuína tested in *Allium cepa* root meristems. For evaluation was used cajuína and cashew juice and the cytotoxic compound (paracetamol), where in each dose was used a group of five onions, that were first embedded in distilled water and then transferred to their solutions. The root tips were collected and fixed in acetic acid (3:1) for 24 and 48 hours. The slides were prepared by crushing and stained with 2% acetic orcein. Cells were analyzed throughout the cell cycle, totaling 5,000 for each control and exposure time. Consecutively, the cashew juice and Cajuína showed antigenotoxic and antimutagenic activity, interfering in the in vitro mutagenesis induced by the paracetamol. Being the protective effects mainly attributed to free-radical cleaning action of the cashew juice and cajuína.

KEY WORDS: *Anacardium occidentale*. Vitamin C. Free Radicals. Chromosomal alterations.

1 INTRODUÇÃO

O caju é uma das culturas de rendimento mais importantes no nordeste do Brasil, cobrindo aproximadamente 700.000 hectares, dando emprego a mais de 100.000 pessoas, e proporcionando um faturamento anual de US \$ 200 milhões EUA. Os produtos derivados da fruta são acondicionados e exportados para os Estados Unidos, Europa e Japão (FREIRE, 2010). O suco de caju e cajuína (suco processado) são as bebidas populares mais consumidas no Nordeste do Brasil. Dado o crescente interesse pelo caju, processos industriais e biotecnológicos foram desenvolvidos para aumentar sua importância econômica (PIRES, 2010).

Conforme a Sociedade Brasileira de Alimentos Funcionais (SBAF, 2007) o suco de caju e cajuína podem ser considerado alimento funcional, já que estes possuem funções nutricionais básicas, quando consumido como parte da dieta usual e também têm efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou efeitos benéficos a saúde, devendo ser seguro para o consumo sem supervisão médica, sendo que a eficácia e a segurança desses alimentos devem ser assegurados por estudos científicos.

No que tange o ponto de vista genético, Rabelo (2009) afirma que vários estudos *in vitro* mostraram que tanto o suco de caju quanto a cajuína têm atividade antimutagênica, bem como os produtos derivados também possuem efeitos antioxidantes. Do mesmo modo a castanha de caju tem a capacidade de sequestrar radicais livres e elimina-los, isto pode ser atribuída principalmente à presença de polifenóis. Esta é uma característica de interesse no contexto das indústrias alimentícias e farmacêuticas, e que poderia ser possível utilizar os pseudofrutos como uma fonte barata de antioxidantes naturais (MELO CALVALCANTE, 2008).

De forma geral, Kamath (2007) faz averiguação sobre uma grande variedade de plantas, e assegura que a associação entre uma dieta rica em frutas e vegetais atenua o risco de doenças cardiovasculares, bem como de certos tipos de câncer. Esta associação é muitas vezes atribuída a diferentes compostos antioxidantes, bem como a vitamina C, carotenoides, polifenóis, e outros compostos.

Assim, diante da qualidade e da importância da adição destes compostos na alimentação, este trabalho torna-se essencial porque objetiva a realização de estudos sobre a composição destes, bem como a avaliação anticancerígena e antimutagênica do suco do caju e da cajuína em meristemas de raízes de *Allium cepa*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no Núcleo de pesquisa em Biotecnologia Aplicada à Saúde e ao meio Ambiente (NUPBSAM) do Campus Senador Helvídio Nunes de Barros da Universidade Federal do Piauí, Município de Picos-PI, no período de outubro de 2013 a junho de 2014.

2.1 Obtenções dos respectivos sucos e cajuínas alimentares e definição das concentrações.

Os caju e as garrafas de cajuínas para realização desse estudo foram comprados na cidade de Santo Antônio de Lisboa, cidade do interior do Piauí que se destaca produtivamente e economicamente na produção de caju e cajuína sendo conhecida como a Capital do Caju, na qual apresenta grande concentração, a maior do Brasil, de área plantada com esse fruto por metro quadrado. Em seguida, os caju foram lavados e esterilizados por imersão a fruta em etanol 70%. A extração do suco foi feita por esmagamento dos pedúnculos utilizando equipamentos estéreis, tomando-se o cuidado de obter um suco com o menor teor de polpa possível. A cajuína utilizada nos experimentos seguiu o seguinte padrão de produção de acordo com o fabricante: centrifugação dos frutos macerados, clarificação com gelatina, filtração e tratamento térmico (1 hora a 100 ° C).

As raízes de *Allium cepa* distribuídas em cinco frascos foram expostas aos seguintes grupos de tratamento: Grupo 01 - Controle Negativo com água aerada; Grupo 02 - 10 ml de suco de caju diluídas em 30 ml água destilada, Grupo 03 - 10 ml de cajuína diluída em 30 ml água destilada; Grupo 04 – 10 ml de suco de caju misturada com 30 ml de controle positivo (paracetamol na concentração de 400mg/L); Grupo 05 - 10 ml de cajuína misturada com 30 ml de controle positivo (paracetamol, 400mg/L); e grupo 06 – Só o Controle positivo (Paracetamol, 400mg/L). Os grupos 04 e 05 foram misturados ao controle positivo para medir a capacidade que o suco de caju e a cajuína têm de inibir o processo mutagênico e citotóxico do Paracetamol, sendo todas estas soluções expostas por 24 e 48 horas, procedimento este denominado de tempo de exposição de 24 horas (TE 24h) e 48 horas (TE 48h).

Na literatura, as principais pesquisas realizadas com caju em relação a estudos de toxicologia são em camundongos, utilizando doses calculadas de acordo com o consumo de

aproximadamente 1000 ml de suco por dia para uma pessoa com peso de 70 kg. Assim, para *Allium cepa* utilizamos 40 ml em cada frasco.

2.2 Obtenções de células meristemáticas de raízes de *A. cepa* para a análise citogenética.

Para a realização deste trabalho foram adquiridas cebolas de uma fonte comercial e colocadas para enraizar em copo descartável de 50 ml com água destilada, à temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$), aerada, até obtenção de raízes com cerca de 1 a 1,5 cm de comprimento.

Para a análise de cada tratamento foi utilizado cinco cebolas, estas foram adicionadas a as soluções de cada tratamento no copo descartável sendo devidamente identificadas.

As raízes foram tratadas no período de 24 e 48 horas, coletadas e depois fixadas, deixadas no período de 24 horas a temperatura de 10°C . Sendo que as cebolas eram devolvidas a cada coleta aos seus referidos locais.

Nos frascos de cada bulbo foi colocado um volume total de 40 ml, ordenadas de acordo com cada tratamento, tendo-se o cuidado de verificar se todas as raízes estavam em contato adequado com a solução em estudo. A fixação das raízes se deu em Carnoy 3:1 (etanol: ácido acético), a temperatura ambiente, por 24 horas. Para cada coleta de raiz, retirou-se, em média, três raízes por bulbo. Os tempos de exposição de 24 e 48h foram escolhidos com o intuito de se avaliar a ação destas doses em mais de um ciclo celular.

2.3 Preparo e leitura das lâminas, e análise dos dados

As lâminas, em média 03 por bulbo, foram feitas seguindo o protocolo proposto por Guerra & Souza (2002). Cada lâmina foi corada com duas gotas deorceína acética a 2% e analisada em microscópio óptico, em objetiva de 40X. Para cada bulbo analisou-se 1.000 células, totalizando 5.000 células para cada controle e tempo de exposição.

Foram observadas células em interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase. Foi calculado o número de células em intérfase e em divisão de cada controle e tempo de exposição e determinando o índice mitótico. Avaliou-se também a ação mutagênica das doses por meio do número de células micronucleadas, de metáfases colchicínicas, pontes anafásicas e telofásicas, ampliações gênicas, células com aderências, brotos nucleares e anáfases multipolares.

2.4 Análise estatística

Os índices mitóticos calculados e as aberrações cromossômicas celulares observadas foram submetidos à análise estatística. Para iniciar as análises estatísticas, foram realizados testes de normalidade (Teste de Kolmogorov-Smirnov) e homocedasticidade (Teste de Levene) para saber se seriam usados testes paramétricos ou não paramétricos para resolução dos mesmos. Os dados se apresentaram com distribuição normal e homogênea, nesse caso, foram utilizados ANOVA unifatorial e Pós-teste de Fisher LSD. Os testes foram realizados com o programa estatístico Statistica 8.0. Todos os testes foram realizados com nível de significância de 0,05.

2.5 Cálculo da Porcentagem de Inibição

A capacidade do suco de caju e cajuína para reduzir os danos cromossômicos causados pelo Paracetamol (Controle Positivo) foi calculada usando a seguinte fórmula: $\%R = \frac{A - B}{A - C} \times 100$, no qual %R é a porcentagem de redução, A é a frequência de alterações cromossômicas depois do tratamento com o Paracetamol, B é a frequência de alterações cromossômicas depois do co-tratamento e C é a frequência de alterações cromossômicas no controle negativo.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas Tabelas 01 e 02, é apresentado o número de células em intérfase, em diferentes fases da divisão celular e valores de índices mitóticos todos com média e desvio padrão observadas nos diferentes tratamentos com o tempo de exposição de 24hs e 48hs, respectivamente. O controle positivo (paracetamol 400mg/L) reduziu de forma significativa ($p < 0,001$) o índice mitótico quando comparado com o Controle negativo, mostrando seu poder citotóxico para esse tipo de sistema teste. Os tratamentos com suco de caju e a cajuína separadamente não foram capazes de alterar significativamente o IM das células vegetais, não diferindo assim do tratamento com o Controle negativo. Já os grupos de tratamento 04 e 05 respectivamente, Caju+CP e Cajuína+CP, diferiram estatisticamente ($p < 0,01$) do tratamento com paracetamol, nesse caso, mostrando o poder anticitotóxico dos nutrientes do caju e cajuína em reduzir o efeito citotóxico do CP utilizado (Figura 01). Particularmente, para o TE

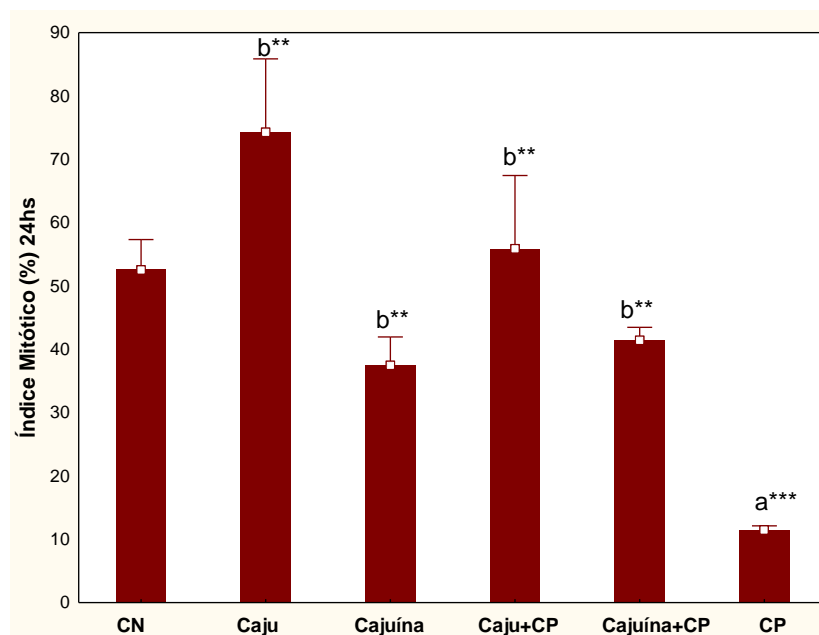
48hs, o tratamento com Cajuína + CP se mostrou estatisticamente menor ($p < 0,05$) em relação aos tratamentos dos grupos 2 (caju), 3 (cajuína) e 4 (caju+CP), porém ainda com capacidade de inibir significante a atividade citotóxica do CP (Figura 02).

Tabela 01: Número Total de células em raízes de *Allium cepa* analisadas em diferentes tratamentos no tempo de exposição de 24hs. Foram analisadas 5.000 células para cada tratamento.

TR	TE	Células Indiferenciadas/ Intérfase	P	M	A	T	Células em Divisão	IM (%)
CN	24hs	644 ± 47,4	356±52,8	7±1,2	6±1,52	6±0,8	356 ± 47,3	52,5 ± 8 ^{b**}
Caju	24hs	652 ± 38,5	335±48,3	8±1,76	8±2	7±1,2	348 ± 38,5	56,1 ± 7,4 ^{b**}
Cajuína	24hs	715 ± 47,8	354± 67,84	9± 2,24	7±1,28	8±1	265 ± 48,1	37,4 ± 8,5 ^{b**}
Caju + CP	24hs	653 ± 65,9	337± 65	4±0,88	3±0,64	3±0,48	346 ± 66,2	56 ± 17,6 ^{b**}
Cajuína + CP	24hs	706 ± 14,6	303±27	4±1,2	3±0,72	3±0,48	312 ± 27	41,4 ± 3 ^{b**}
CP	24hs	875 ± 10,48	97±7,84	1±0,64	1±0,64	1±0,48	101 ± 8,1	11,48 ± 1,1 ^{a***}

n = 5 cebolas analisadas por grupo. ANOVA unifatorial, com Pós-teste de Fisher LSD. a: Significante comparado com CN, *** $p < 0,001$; b: Significante comparado com CP, ** $p < 0,01$

Figura 01: atividade anticitotóxica dos compostos bioativos do caju e cajuína quando administrado juntamente com um CP utilizado em sistemas testes vegetais com TE 24hs.



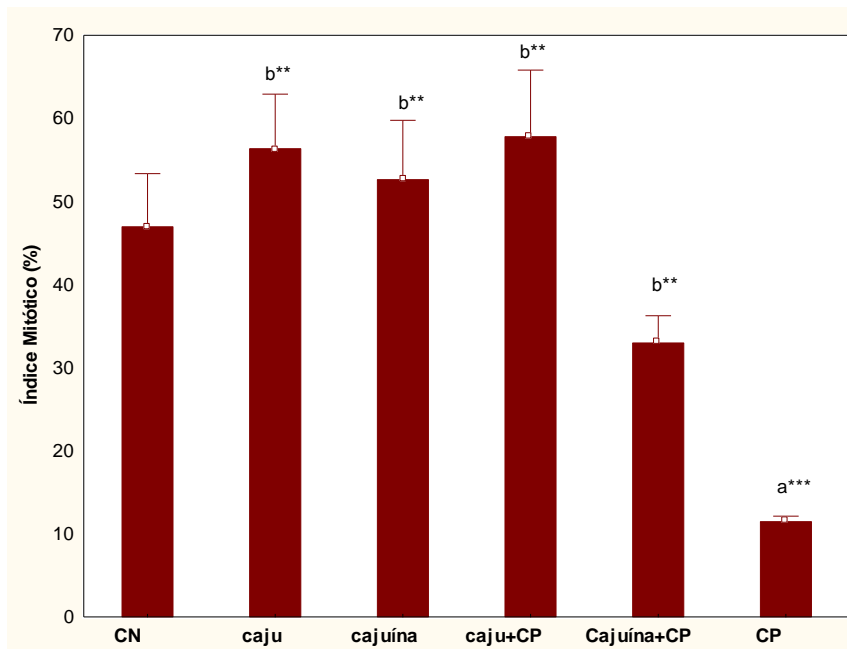
ANOVA unifatorial, com Pós-teste de Fisher LSD. a: Significante comparado com CN, *** $p < 0,001$; b: Significante comparado com CP, ** $p < 0,01$

Tabela 02: Número Total de células em raízes de *Allium cepa* analisadas em diferentes tratamentos no tempo de exposição de 48hs. Foram analisadas 5.000 células para cada tratamento.

TR	TE	Células Indiferenciadas/ Intérfase	P	M	A	T	Células em Divisão	IM (%)
CN	48hs	686 ± 54,3	307±27,04	3±0,48	3±0,72	3±0,64	315 ± 54,3	47% ± 11,2 ^{b**}
Caju	48hs	644 ± 45,3	415±39,2	5±0,72	4±0,72	4±0,88	358 ± 47	56,4% ± 11,1 ^{b***c*}
Cajuína	48hs	661 ± 58,5	309±40,4	3±0,64	3±0,64	3±1,2	339 ± 58,6	52,6% ± 13 ^{b***c*}
Caju + CP	48hs	640 ± 63,44	354±63,6	2±0,32	2±0,64	2±0,48	360 ± 63,2	57,8% ± 15 ^{b***c*}
Cajuína + CP	48hs	753 ± 34,64	242±35,28	2±0,64	1±0,48	2±0,72	246 ± 34,72	32,9 ± 6 ^{b***}
CP	48hs	875 ± 10,4	63±7,68	1±0	1±0,32	1±0,4	101 ± 8	11,4 ± 1,1 ^{a***}

n = 5 cebolas analisadas por grupo. ANOVA unifatorial, com Pós-teste de Fisher LSD. a: Significante comparado com CN, ***p < 0,001. b: Significante comparado com CP, **p < 0,01; c: Significante comparado com Cajuína + CP, *p < 0,05.

Figura 02: Atividade anticitotóxica dos compostos bioativos do caju e cajuína quando administrado juntamente com um CP utilizado em sistemas testes vegetais com TE 48hs.

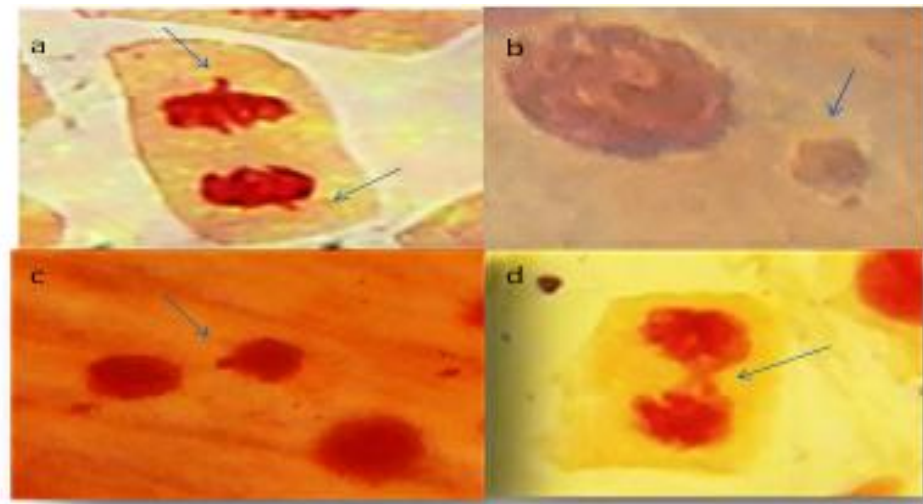


ANOVA unifatorial, com Pós-teste de Fisher LSD. a: Significante comparado com CN, ***p < 0,001; b: Significante comparado com CP, **p < 0,01

Os estudos de Bessems *et al.* (1973) demonstraram que o medicamento utilizado como Controle positivo, no caso, o paracetamol, é um potente composto citotóxico e mutagênico. Trabalhos como os de Pinho *et al.*, (2009) e Vieira *et al.*, (2009); utilizam esse fármaco na concentração de 400mg/L como CP nos seus testes toxicológicos utilizando *Allium cepa*. Nesse caso, o presente estudo deve como objetivo avaliar e comprovar a capacidade do suco caju e da cajuína a partir dos seus componentes bioativos de reduzir os efeitos citotóxicos e mutagênicos ocasionados por esse fármaco em sistema-teste vegetal reafirmando assim a importância desse alimento na nossa dieta.

O controle positivo teve a capacidade de induzir nas células vegetais parada no ciclo celular, muito provavelmente pela capacidade de induzir mutações nessas células o que ficou comprovado quando foram observados seus números de IM (Índice mitótico) e total de AC (Alterações cromossômicas), valores significantes quando comparados com o Controle negativo. O paracetamol além de induzir mutações como quebras cromossômicas observadas nesse estudo pela formação de MN bem como duplicações de material genético (brotos nucleares) (Figura 03), em estudos de Pádua *et al.*, 2009, mostrou a capacidade do mesmo em elevar o número de EROS (espécies reativas de oxigênio).

Figura 03 – Células Vegetais com as principais aberrações cromossômicas encontradas nos tratamentos utilizando Paracetamol 400mg/l.



a. Duas ampliações Telofásicas. b. Célula com MN .c. Broto Nuclear. d.. Pontes Telofásicas com dois braços cromossômicos. Fonte: Arquivo Pessoal.

Tanto o caju como a cajuína em co-tratamento com o paracetamol, em ambos os tempos analisados (24 e 48hs), tiveram a capacidade de reduzir em valores significantes os efeitos citotóxicos e mutagênicos do fármaco. Os efeitos protetores podem ser atribuídos primariamente pela ação de limpeza de radicais livres do suco de caju e da cajuína relata, Melo- Cavalcante, (2005). Ambos os sucos contêm vários compostos fitoquímicos que são protetores contra agentes mutagênicos. Estes incluem os carotenóides, flavonóides, vitaminas e compostos fenólicos. Alguns desses compostos foram previamente quantificado, e o suco de caju é considerado uma boa fonte de fenóis (11,9 mg = 100 g), taninos (61,1 mg = 100 g), ácido ascórbico (120,80 mg = 100 g), e ácido anacárdico (17,9 mg = 100 g), mas não de uma rica fonte de carotenóides totais (0,32 mg = 100 g). Cajuína não é tão rico quanto suco de caju

nestes compostos químicos, especialmente ácido ascórbico (1,56 mg = 100 g) e ácido anacárdico (0,41 mg = 100 g), (MELO-CAVALCANTE, 2003).

Ainda conforme Melo-Cavalcante et al., (2003) usando *Salmonella typhimurium* TA102 no teste de Ames, mostraram que o suco de caju e cajuína, quando co-incubados com aflatoxina B1 (AFB1), tiveram atividades antimutagênicas. Estas atividades foram associadas com o aumento da metabolização de AFB1 em compostos não mutagênicos ou com a inibição da ativação AFB1 pela união de componentes químicos com enzimas S9. Além disso, o suco de caju e cajuína exibiu efeitos antimutagênicos contra a mutagênese oxidativa induzida por peróxido de hidrogênio em TA102, que foram associados com excelente potencial antioxidante dos sucos (Melo-cavalcante, 2003). Ambos os tipos de sucos tem propriedades antimutagênicas contra mutagênicos diretos como metilmetanosulfonato e 4-nitroquinolina-N-óxido e contra mutagênicos indiretos como benzo [a] pireno, de acordo com o pré-tratamento e co-tratamento, e os ensaios de pós-tratamento com *S. typhimurium* TA100, TA102, e TA97. Este achado sugere que sucos de caju frescos ou transformados podem proteger as células contra a mutagênese induzida por agentes mutagênicos diretos e indiretos (Melo-cavalcante et al., 2008)

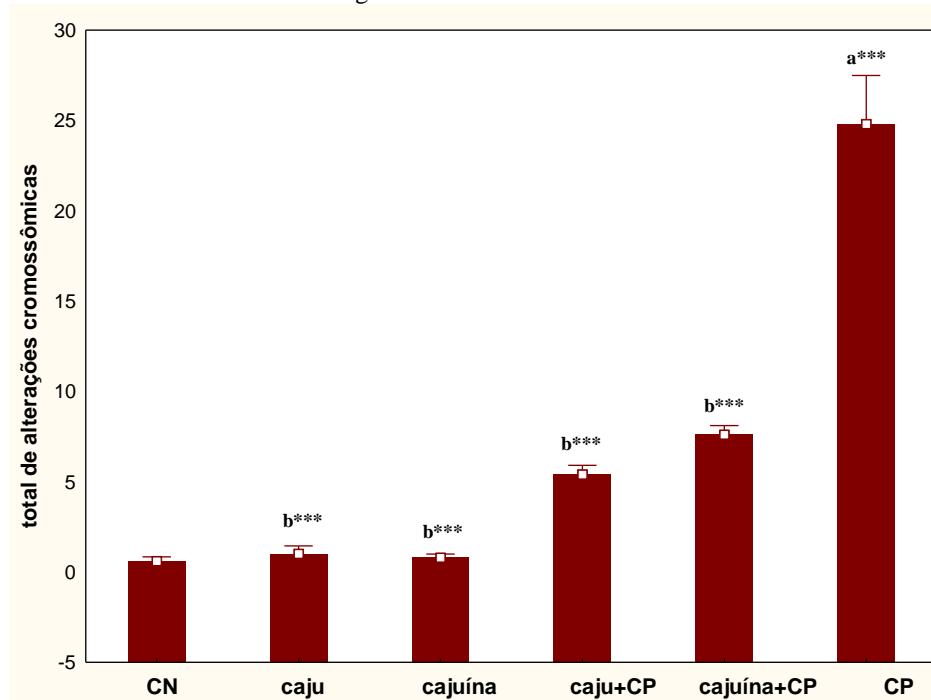
Nos resultados desse presente estudo, o suco de caju e cajuína não conduziram ao aumento no dano do DNA, pelo contrário, quando os mesmos em co-tratamento com o paracetamol (CP) tiveram a capacidade de reduzir significativamente as AC (alterações cromossômicas) em ambos os tempos analisados 24 e 48hs (Figura 03 e 04). No TE (Tempo de Exposição) 24hs, o caju e a cajuína em co-tratamento tiveram a capacidade de reduzir os AC em até 81,9% e 69,7%, respectivamente. Para o TE 48hs, essas reduções foram respectivamente de 90,2% e 86,4%. Se for observado o %R (porcentagem de redução de AC), o suco de caju se mostrou mais eficiente em relação aos efeitos antimutagênicos em comparação ao suco de caju processado (cajuína) (Tabela 03 e 04). Isso, provavelmente, se deve ao seguinte fato, sendo a cajuína um suco processado, a clarificação e as etapas de tratamento térmico de sua produção podem remover compostos químicos ou alterar suas propriedades. Em termos de componentes presentes nos sucos, as concentrações de ácido ascórbico e de ácido anacárdico são cerca de 77 vezes e 43 vezes menor, respectivamente, em cajuína que no suco de caju (Melo-Cavalcante et al., 2009).

Tabela 03: Efeitos antimutagênicos do Co-Tratamento com Paracetamol e Suco de caju ou Cajuína em células meristemáticas de *Allium cepa*.

TR	TE	Total de células analisadas	Média ± DP	Frequência (%)	%R
CN	24hs	5000	0,6 ± 0,55	0,06%	-
Caju	24hs	5000	1 ± 1 ^{b***}	0,1%	-
Cajuína	24hs	5000	0,8 ± 0,45 ^{b***}	0,08%	-
Caju + CP	24hs	5000	5,4 ± 1,14 ^{b***}	0,5%	81,9%
Cajuína + CP	24hs	5000	7,6 ± 1,14 ^{b***}	0,8%	69,7%
CP	24hs	5000	24,8 ± 6,02 ^{a***}	2,5%	-

ANOVA unifatorial, com Pós-teste de Fisher LSD. a: Significante comparado com CN, ***p < 0,001. b: Significante comparado com CP, **p < 0,01;

Figura 04: Atividade antimutagênica dos compostos bioativos do caju e cajuína quando administrado juntamente com um CP utilizado em sistemas testes vegetais com TE 24hs.



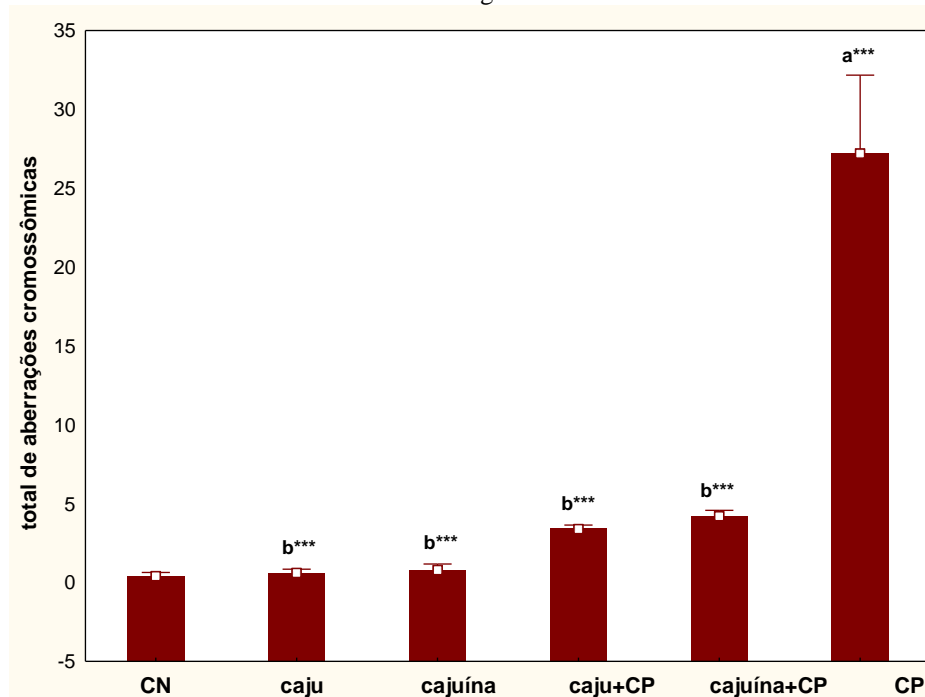
ANOVA unifatorial, com Pós-teste de Fisher LSD. a: Significante comparado com CN, ***p < 0,001. b: Significante comparado com CP, **p < 0,01;

Tabela 04: Efeitos antimutagênicos do Co-Tratamento com Paracetamol e Suco de caju ou Cajuína em células meristemáticas de *Allium cepa*.

TR	TE	Total de células analisadas	Média ± DP	Frequência (%)	%R
CN	48hs	5000	0,4 ± 0,55	0,04%	-
Caju	48hs	5000	0,6 ± 0,55 ^{b***}	0,06%	-
Cajuína	48hs	5000	0,8 ± 0,84 ^{b***}	0,08%	-
Caju + CP	48hs	5000	3,4 ± 0,54 ^{b***}	0,3%	90%
Cajuína + CP	48hs	5000	4,2 ± 0,84 ^{b***}	0,4%	86,4%
CP	48hs	5000	27,2 ± 11,1 ^{a***}	2,7%	-

ANOVA unifatorial, com Pós-teste de Fisher LSD. a: Significante comparado com CN, ***p < 0,001. b: Significante comparado com CP, **p < 0,01

Figura 05: Atividade antimutagênica dos compostos bioativos do caju e cajuína quando administrado juntamente com um CP utilizado em sistemas testes vegetais com TE 48hs.



ANOVA unifatorial, com Pós-teste de Fisher LSD. a: Significante comparado com CN, *** $p < 0,001$. b: Significante comparado com CP, ** $p < 0,01$.

Os efeitos anticitotóxicos / antimutagênicos induzidos pelos sucos pode resultados de mais de um mecanismo. A atividade anticlastogênica de compostos fenólicos presentes nos sucos em questão pode ser relacionada com a sua capacidade de quelar metais, bem como para a sua ação como agentes de limpeza de radical livre (Benavente-Garcia e Vijayalaxmi, 2007). Além disso, o Ácido anacárdico pode inibir impedir a geração de ânion superóxido, agindo também como um antioxidante. . (Kubo I, Trevisan e Kamath V 2008) Além do mais, há uma associação entre as atividades antioxidantes atribuídas ao suco de caju e cajuína e sua ação antimutagênica. Os componentes dos sucos (ácido anacárdico, ácido ascórbico, carotenóides, e compostos fenólicos), provavelmente interagem com os metabolitos ativos do Paracetamol. *A. occidentale* reduz a frequência de aberrações cromossômicas induzidas pela doxorrubicina durante fases específicas do ciclo celular (G1, S, e G2) em culturas de células (BARCELOS, et al.,2007).

Estudos têm mostrado que a utilização de uma mistura complexa pode ser mais vantajosa do que a utilização de compostos isolados (Sarpeloni, 2008) A interação e possíveis efeitos sinérgicos podem facilitar os efeitos protetores observados. Todos estes compostos podem atuar em conjunto, diminuindo a metabolização do Paracetamol e aumentando a eliminação de radicais livres produzidos por este agente mutagênico. Por conseguinte, os

sucos analisados poderiam proteger o DNA genômico diminuindo assim as Alterações genéticas observadas nos resultados acima.

Embora os mecanismos subjacentes à atividade anticitotóxica e antimutagênica de *A. occidentale* não são completamente compreendidos, a sua atividade antioxidante ou a interferência de uma ou mais das suas substâncias ativas com vias metabólicas mutagênicas pode explicar os seus efeitos sobre a mutagenicidade do Paracetamol.

4 CONCLUSÃO

O aumento do IM (Índice Mitótico) e a redução do AC (Alterações Cromossômicas) observadas no Co-Tratamento em sistema teste vegetal neste estudo sugere que o suco de caju e cajuína possui compostos bioativos que juntos ou separadamente possuem a capacidade de impedir a formação de processos mutagênicos causados pelo paracetamol (controle positivo), sendo, portanto, anticitotóxicos e antimutagênicos.

REFERÊNCIAS

- ASTROG, P. 1997 Food carotenoids and cancer prevention: An overview of current research. *Trends Food Sci. Tech.*, v.81, n.12, p. 406-413.
- AGUIAR, L.P. 2001-caroteno, vitamina C e outras características de qualidade de acerola, caju e melão em utilização no melhoramento genético. 87.
- ANDRADE-WARTHA, E.R.S. 2007. Capacidade antioxidante in vitro do pedúnculo de caju *Anacardium Occidentale L.* e efeito sobre as enzimas participantes do sistema antioxidante de defesa do organismo animal. São Paulo, 111p.
- BARCELOS GRM, SHIMABUKURO F & MORI MP, MACIEL MAM. 2007. C'lusIMS: Avaliação de mutagenicidade e antimutagenicidade do cajuconter extrato da casca metanólico in vitro. *J Ethnopharmacol*; 114:268-273.
- BENAVENTE-GARCIA S & J CASTILHO, LORENT MA. 2002 ;Efeitos radioprotectores in vivo de compostos fenólicos extraídos de *Olea europaea L.* deixa contra raios-X induzida por dano cromossômico:Estudo comparativo contra vários flavonóides e contendo enxofre compostos. *J Med Food*; 05h12min-135.
- BOBBIO, P.A. & BOBBIO, F.O. 2001. Química do processamento de alimentos. 3. Edição, São Paulo: *Varela*, p. 103-118.
- BROINIZI, P. R. B. J .2007. Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos naturalmente presentes em subprodutos do pseudofruto do caju. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.7, n. 4, Campinas.
- BUSS, D.F. 2002. Proteção à vida aquática, participação das comunidades e políticas de recursos hídricos. *Ciência e Ambiente*, 25: 71-84.
- CAVALCANTE, A. A. M. et al.2003. Mutagenicity, Antioxidant Potencial, and Antimutagenic Activity Against Hydrogen Peroxide of Cashew (*Anacardium occidentale*) Apple Juice of the Cajuína. *Environmental and Molecular Mutagenesis*.41,p. 360-369.
- CHITARRA, M.I. F.& CHITARRA, A.B.2007 Pós-colheita de frutas e hortaliças: Fisiologia manuseio. Lavras: UFLA, 2005.785p. Tive. *Revista de Nutrição*, v. 20, n.5, Campinas.
- COSTA, T.S.A.; LIMA, L.A & FREIRE, S.A.1996. Avaliação de metodologia para determinações de taninos no suco de caju.
- ..
- CARDOSO J. E. ET al.1999. Genetic resistance of dwarf cashew (*Anacardium occidentale L.*) to anthracnose, Black mold, and angular leaf spot. *Crop Protection, Guildford*, v. 18, n.1, p.23-27.
- DAIANE S. DE PINHO, RÉGIS T. STURBELLE & MARIA DA GRAÇA MARTINOROTH, GILBERTO L. GARCIAS, 2010. Avaliação da atividade mutagênica da infusão de

Baccharis trimera (Less.) DC. Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian, Journal of Pharmacognosy 20(2): 165-170 Abr./Mai.

DEAN, R.T.; FU, S & STOCKER, R.& DAVIES, M.J, 1997 Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. Biochem. J. v.324, n.1, p.1-18.

EMBRAPA, 1991. Programa Nacional de Pesquisa de Caju. Fortaleza: *EMBRAPA-CNPCa*, 59p. (Documentos, 05).

FERNANDES, T.C. C.& MAZZEO, D.E.C. & MARIN MORALES, M.A. 2007. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. Pesticide Biochemistry and Physiology, 88: 252-259.

FISKESJÖ, G. 1985. The 2008. *Allium* test as a standard in environmental monitoring. Hereditas, Lund, v. 102, p. 99-112.

GAEDNER, P. T. 2000. The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolic to antioxidant potential of fruit juices. Food Chemistry. V.68, p. 471-474.

GRANT, W.F. 1999. Chromosome aberration assays in *Allium*. Mutation Research, 99: 273-291.

GESTER, H.Y, 1997. The potential role of lycopene for human health. J. Am. Coll. Nutria., v.16, p.109-126, 1997.

GAZIANO, J. M. H. The role of beta-carotene in prevention of cardiovascular disease. *Ann. New York Acad. Ssci.*, v.691, p.148-155, 1993.

HANDELMAN, G.J, 2001. The evolving role of carotenoids in human biochemistry. *Nutrition*, v.17, n.10, p.818-822.

HASSIMOTO, N.M.A.&GENOVESE, M.I.&LAJOLO, F.M, 2005
Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps. *Journal Agriculture Food Chemistry* v.53, p.2928-2935.

HEIM, K, E, 2002. Flavoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure activity relationships. *Journal Nutricional Biochemistry*, V.13, p.572-584.

KIHLMAN, E, 1971. Molecular Mechanisms of Mutation in Chemical Mutagens: Principals and Methods for their Detection. *New York: Plenum Press*. 250p.

KUBO I & MASUOKA N, Ha TJ, Tsujimoto K , 2006. A atividade antioxidante de ácido anacárdico. *Food Chem.* ; 99:555-562.

LEITE, H.P.& SARNI, R.S, 2003. Radicais livres, antioxidantes e nutrição. *Rev. Bras. Nutr. Clín.*, v.18, n.2, p.60-65.

LUCENA, V. M. X, 2006. Diversidade genética entre genótipos de cajueiro (*anacardium occidentale* l) e qualidade do fruto e do pseudofruto. 2006. 91p. Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais)-Universidade Federal de Roraima. Boa Vista.

LEME, D.M, MARIN-MORALES, M.A. 2008. Chromosome aberration and micronucleus frequencies in *Allium cepa* cells exposed to petroleum polluted water – a case study. *Mutation Research*, **650**: 80-86.

MALDONADO-ROBLEDO, G.& RODRIGUEZ-BUSTAMANTE, E .& SANCHEZ-CONTRERAS, A.; RODRIGUEZ, SONOJA, R; SANCHEZ, S 2003. *Appl. Microbil. Biotechnol.*, v. 62, p. 484.

MELO CAVALCANTE-AAC, 2008. Atividade antimutagênica de caju (*Anacardium occidentale* Sapindales, Anacardiaceae) suco fresco e processadosuco (caju'na) contra methylmethanesulfonate, 4 nitroquinolinaN-óxido e o benzo [a] pireno. *Genetic Mol Biol*; 31:759 -766.

MELO CAVALCANTE-AA, Rubensam G, Picada JN, 2003. Mutagenicidade, antioxidante e antimutagênica atividade contra hidrogênio-peróxido de caju (*Anacardium occidentale*) de suco de maçã cajuína. *Ambiente Mol Mutagen* ; 41: 360-369.

MELO CAVALCANTE-AAC: 2005. Caju (*Anacardium occidentale*) maçã reduzmutagenicidade de aflatoxina B1 em *S. typhimurium* TA102. *Genético Mol Biol*; 28: 328-33..

MOURA C.F. H.2004 Armazenamento de pedúnculos de cajueiro anão precoce BRS 189, CCP 76, END 183 e END 189 sob diferentes temperaturas e atmosferas. 2004 teses (tese doutorado em agronomia / fitotecnia) UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARA, FORTALEZA.

MENEZES, J. B.; ALVES, R. E, 2007. Fisiologia e tecnologia pós-colheita do pedúnculo do caju. Fortaleza: EMBRAPA/CNPAT, 1995. 20p. (EMBRAPA-CNPAT, Documentos, 17).
MAIA, G. A. ET al. Processamento de sucos de frutas tropicais. Fortaleza: *Editora UFC*, .320p.

RABBANI, A. R. C. 2012. Diversidade genética entre cajueiros comerciais. Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju-Se, Brasil, *Scientia Plena* p. 8, n. 6, julho.

SERPELONI, Reis MB, Rodrigues, 2008. Na avaliação in vivo de Danos no DNA e efeitos protetores de extratos de *Miconia* espécies, utilizando o teste do cometa e teste de micronúcleos. *Mutagênese*; 23: 501-507.

SENTANNI, M. A.&RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. 2007. Teores de carotenoides em mamão e pêssego e caju determinado por cromatografia líquida de alta eficiência. *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 27, n.1, Campinas.

SILVA, J, & FONSECA, M.B. 2003 Estudos Toxicológicos no Ambiente e na Saúde Humana. In: SILVA, J., ERDTMANN, B., HENRIQUES, J.A.P. (org.). *Genética Toxicológica*.

SIES, H, 1993. Strategies of antioxidant defense: review. *Eur. J. Biochem.*, v.215, n.2, p.213-219.

SOUZA, V. C, LORENZI, H, 2008. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil em APG II. 2 ed. Nova Odessa, SP. Editor Instituto Plantarum.

SUN, j , 2002. Antioxidant and antiproliferative activity of fruits. Journal, agriculture food chemistry, V.50, p 7449-7454.

SINGH B, RK Kale, 2004. Modulação do potencial antioxidante no fígado de camundongos com óleo de semente de castanha de caju (*Anacardium occidentale*) e sua falta de capacidade de promoção do tumor da pele induzido por DMBA papillomagenesis. Indiano Exp J Biol; 42:373-377.

TREVISAN MTS, 2006. Caracterização de alquil fenóis de caju (*Anacardium occidentale*) e ensaio da capacidade antioxidante. Food Chem Toxicol; 44: 188-197.

VANNUCCHI, H.A.F. & JORDÃO JÚNIOR. 1998. Vitaminas hidrossolúveis. In J.E. Dutra de Oliveira, & J. S. Marchini. Ciências Nutricionais. Sarvier, São Paulo. v.403, p. 191-208.

VANBUREN, J. Fruit phenolics. In 1970. HULME, A.C. (Ed). The biochemistry of fruits and their products. London: Academic Press, v.1. p.269-300.

ALESON VIEIRA, MARCELO de A. Guimarães, Grace Q. David, Isane V. Karsburg, André & R. CAMPOS, 2009. Efeito genotóxico da infusão de capítulos florais de camomila. Revista Trópica Ciências Agrárias e Biológicas V. 3, N. 1, p. 8.