



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

GLEUVANIA MARQUES SANTANA

**POTENCIAL CITOTÓXICO E MUTAGÊNICO DE AROMATIZANTES  
ALIMENTARES SINTÉTICOS LÍQUIDOS DOCES, IDÊNTICOS AOS NATURAIS,  
AVALIADOS DE FORMA INDIVIDUAL E EM ASSOCIAÇÃO.**

PICOS, PIAUÍ

2015

GLEUVANIA MARQUES SANTANA

**POTENCIAL CITOTÓXICO E MUTAGÊNICO DE AROMATIZANTES  
ALIMENTARES SINTÉTICOS LÍQUIDOS DOCES, IDÊNTICOS AOS NATURAIS,  
AVALIADOS DE FORMA INDIVIDUAL E EM ASSOCIAÇÃO.**

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.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Paula Peron.

PICOS, PIAUÍ

2015

### FICHA CATALOGRÁFICA

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

**S231p** Santana, Gleuvânia Marques.  
Potencial citotóxico e mutagênico de aromatizantes alimentares sintéticos líquidos doces, idênticos aos naturais, avaliados de forma individual e em associação / Gleuvânia Marques Santana. – 2014.  
CD-ROM : il; 4 ¼ pol. (34 p.)

Monografia(Licenciatura em Ciências Biológicas) –  
Universidade Federal do Piauí. Picos-PI, 2014.  
Orientador(A): Prof. MSC. Ana Paula Peron

1.Aditivo Alimentar. 2.Toxicidade em Nível Celular. 3.  
Células Meristemáticas de Raízes de Allium Cepa. I. Título.

**CDD 581.4**

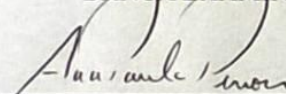
GLEUVANIA MARQUES SANTANA

**POTENCIAL CITOTÓXICO E MUTAGÊNICO DE AROMATIZANTES  
ALIMENTARES SINTÉTICOS LÍQUIDOS DOCES, IDÊNTICOS AOS NATURAIS,  
AVALIADOS DE FORMA INDIVIDUAL E EM ASSOCIAÇÃO**

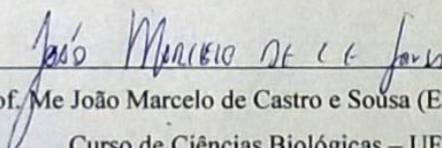
Monografia apresentada ao curso de Ciências  
Biológicas da Universidade Federal do Piauí,  
Campus Senador Helvídio Nunes de Barros,  
como requisito parcial para a obtenção do grau de  
Licenciado em Ciências Biológicas.

Monografia aprovada em 09/01/15

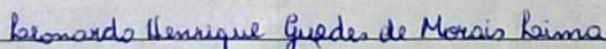
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Ana Paula Peron (Orientadora)  
Curso de Ciências Biológicas – UFPI



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



Prof. Me Leonardo Henrique Guedes de Moraes Lima (Examinador)  
Curso de Ciências Biológicas – UFPI

A minha família, em especial a minha querida Mãe Francisca Marques da Silva que sempre incentiva e apoia as minhas decisões.

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e por mais esta conquista. A minha família, principalmente a minha amada mãe Francisca Marques, que, mesmo com sacrifício, nunca me deixou faltar nada, pela educação e pelos valores a mim ensinados. A minha adorável avó Maria de Jesus Pereira que sempre se mostrou companheira e compreensível comigo durante esta caminhada. A minha amada madrinha Maria Idalina Marques por todo carinho que me dedicou. A Soraia Pio e a minha tia Idalina Gonçalves por ter me acolhido sempre que precisei. Nunca terminarei de agradecer as alegrias que me proporcionaram.

À Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Ana Paula Peron, pela orientação, colaboração, paciência, atenção e principalmente pela confiança, que foi algo crucial na minha formação, para que eu pudesse desenvolver este trabalho. Muito obrigado por me ensinar crescer dentro do mundo acadêmico me mostrando que eu sou capaz de tudo se eu quiser. Por ter me escolhido e acolhido como uma filha, e ter me instruído o máximo que pode. Resumindo, você é uma pessoa admirável, que sempre me tratou com educação e respeito! Espero que nossa relação de amizade dure muito tempo.

Aos amigos da universidade, Amália Ibiapino, Ana Patrícia silva, Daniela Barros e Mirella Barros que sempre estiveram comigo nas horas de alegria e tristeza, me mostrando ser grandes companheiras e sobre tudo confiáveis, levarei vocês pra sempre em meus pensamentos e orações.

Ao os meus amigos Auricelia Sales, Anália Gonçalves. Wallison Araujo, Jakelline Oliveira, Ellifran Bezerra, Gabriel Moura, Geiz Malaquias, Paula Lacerda, Laianny Alvez, Aline Lima, Ronielson Carvalho, Rosely Sales, Suzana Leal e Ykaro Richard por estarem junto comigo nessa conquista, pelo ótimo convívio, pelas confidências, pelas conversas jogadas fora, por cada minuto compartilhado. Um pedacinho de vocês sempre irá me acompanhar: uma lembrança, uma brincadeira, e até mesmo uma bronca. Só tenho a agradecer por fazerem parte da minha vida. Amo vocês !!!

A minha grande amiga e companheira de laboratório, Sara Iolanda por ter sido meu braço direito me ajudando mesmo sem poder para que eu concluísse este trabalho.

Aos mestres pelos ensinamentos repassados, as dúvidas esclarecidas, pela amizade e paciência. Em especial o professor João Marcelo de Castro e a professora Socorro Meireles de Deus pelo o apoio.

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para essa conquista, meu muito

**OBIGADA!!!**

“Hoje o tempo voa amor escorre pelas mãos  
mesmo sem se sentir, não há tempo que volte  
amor vamos viver tudo que há pra viver, vamos  
nos permitir...”

*(Tempos modernos/ Lulu Santos)*

## RESUMO

Neste trabalho teve-se por objetivo avaliar, em células meristemáticas de raízes de *Allium cepa*, nos tempos de exposição de 24 e 48 horas, o potencial citotóxico e mutagênico de aromatizantes alimentares sintéticos de Morango, Leite Condensado e Chocolate, de forma individual, nas doses de 0,2; 0,4 e 0,6, e em associação, onde para cada uma destas três doses associou-se a mesma dose de um dos outros dois aromatizantes. As raízes de *A. cepa* após os tratamentos foram fixadas em solução de Carnoy, hidrolisadas em ácido clorídrico e coradas com orceína acética a 2%. Em seguida, fez-se o esmagamento dos meristemas e montagem das lâminas. Analisou-se 5.000 células para cada grupo tratamento em microscópio óptico em objetiva de 40X, e utilizou-se o teste estatístico Qui-quadrado a 5% para análise dos dados. Na avaliação individual, o aromatizante de Morango nos dois tempos de exposição estudados e para as três doses; o de Leite Condensado na dose de 0,6 ml nos dois tempo de exposição; o de Chocolate nas doses de 0,4 ml, no tempo de exposição de 48 horas, bem como a de 0,6 ml, nos dois tempos de exposição; e todos os tratamentos em associação reduziram de forma estatisticamente significativa o índice de divisão celular das células do sistema teste utilizado, mostrando-se citotóxicos. Nenhum tratamento causou número de aberrações celulares significativo as células de *A. cepa*, sendo os aromatizantes, nas condições analisadas, não mutagênicos.

**PALAVRAS-CHAVE:** aditivo alimentar; toxicidade em nível celular; células meristemáticas de raízes de *Allium cepa*.



## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate, in meristematic cells of *Allium cepa* roots, in exposure times of 24 and 48 hours, the cytotoxic and mutagenic potential of strawberry flavorings, condensed milk and chocolate, individually at doses of 0.2; 0.4 and 0.6 and in combination, in which for each of these three doses was associated with the same dose of the one of the others two flavorings. The obtained data were subjected to statistical analysis Chi-square ( $p < 0.05$ ). In the individual evaluation, the strawberry's flavoring in the two exposure times and for the three doses, the condensed milk in dose of 0.6 ml in the 48 hours, and the chocolate in doses of 0.4 ml for 48 hours and 0.6 ml in the two exposure times, as well all treatments with the associated doses reduced significantly the cell division rate of the system cells test used, being cytotoxic. No treatment caused significant number of cellular aberrations in cells of *A. cepa*, being the flavorings, under the conditions studied, not mutagenic.

**KEYWORDS:** food additive;; toxicity in cellular level; meristematic cells of *Allium cepa* roots

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Quadro 01</b> - Classes de Aditivos Alimentares .....	15
<b>Figura 01</b> - Aromatizantes utilizados.....	20
<b>Figura 02</b> - Bulbos de <i>allium cepa</i> nos frascos com agua destilada .....	22
<b>Figura 03</b> - Principais fases da divisão mitótica.....	23
<b>Figura 04</b> - Principais alterações encontradas nos tratamentos feitos com os aromatizantes.....	23

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 01** – Número total de células analisadas da região meristemáticas de raízes de *A. cepa* tratadas, nos tempos de exposição de 24 e 48 horas, com as doses de 0,2; 0,4 e 0,6 ml dos aromatizantes alimentares sintéticos doces, idênticos aos naturais, de Morango, Leite Condensado e Chocolate.....24

**Tabela 02** – Número de células observadas em cada fase do ciclo celular em tecido meristemático de raízes de *Allium cepa* tratadas com os aromatizantes alimentares sintéticos doces, idênticos aos naturais, de Morango, Leite Condensado e Chocolate, nas doses de 0,2; 0,4 e 0,6 ml de forma associada, nos tempos de exposição de 24 e 48 horas.....26

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	15
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	20
3.1 Obtenção dos aromatizantes alimentares e definição das doses .....	20
3.2 Definição das doses a serem utilizadas.....	20
3.3 Obtenção das células meristemáticas de raízes de <i>A. cepa</i> para a análise citogenética.....	21
3.4 Preparo e leitura das lâminas, e análise estatística.....	22
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	24
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	30
<b>6 REFERÊNCIAS</b> .....	31

## 1 INTRODUÇÃO

Os aromatizantes são aditivos alimentares com propriedades aromáticas e/ou sápidas capazes de conferir ou reforçar o aroma e o sabor dos alimentos sem o propósito de nutrir. São classificados como naturais, sintéticos idênticos ao natural, sintéticos artificiais, de reação ou transformação e de fumaça (CONSTANT et al., 2007). Possuem composição química complexa, sendo constituídos por diluentes, antioxidantes, antiespumantes, conservantes, emulsificantes, estabilizantes, reguladores de acidez, realçadores de sabor, antiemectantes, antiaglutinantes, corantes, e solventes de extração e processamento, aprovados para uso em âmbito mundial pela European Food Safety Authority (EFSA), e nacionalmente pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2007; POTERA, 2012).

No entanto, em função de sua constituição química, os aromatizantes em geral são considerados um avanço polêmico da indústria de alimentos por muitos especialistas da área de saúde que sugerem que estes compostos, juntamente com os corantes alimentares sintéticos, contribuem de forma significativa para o empobrecimento da dieta e para desencadeamento de patologias, como alergias e alterações no funcionamento do trato digestório (CHEESEMAN, 2012).

Assim, pesquisadores como Tonetto et al. (2008) e Wrolstad; Culver (2012) relatam que a utilização de aromatizantes sintéticos gera uma série de dúvidas quanto a sua toxicidade em nível sistêmico e celular, principalmente quando se trata dos aromatizantes alimentares doces, e declaram ser urgente a realização de pesquisas que avaliem o potencial tóxico destes aditivos, condição esta que corrobora ao apelo da própria ANVISA (BRASIL, 2007), de ser constante e prioritário o aperfeiçoamento da segurança sobre a utilização destes compostos na constituição de alimentos, atentando-se sempre para as novas informações científicas que surjam sobre eles.

Os bioensaios com plantas têm sido considerados bastantes sensíveis e simples no monitoramento dos efeitos citotóxicos de compostos químicos (IGANCI et al., 2006) e a *Allium cepa* L. (cebola), por meio da região meristemática de suas raízes, tem sido indicada como um eficiente organismo teste para a avaliação de toxicidade em nível celular (CARITÁ; MARIN-MORALES, 2008) em função de suas propriedades cinéticas de proliferação e por possuir cromossomos grandes e em número reduzido ( $2n=16$ ) o que facilita a detecção de aberrações celulares (MATSUMOTO et al., 2006; HERRERO ET al., 2012) e a verificação de alterações no índice de divisão celular (índice mitótico) em tecidos expostos a compostos químicos de interesse (TABREZ et al., 2011).

Segundo Herrero et al. (2012) este sistema-teste é muito eficiente para o primeiro screening de citotoxicidade e mutagenicidade de compostos químicos ou para validação desta condição após a realização de pesquisas em outros bioensaios. Ainda, Arung et al. (2011) relata que, em grande parte das vezes, este teste apresenta similaridade satisfatória aos resultados obtidos com outros bioensaios. Como exemplo pode-se citar os trabalhos realizados por Gomes et al. (2013) e Oliveira et al. (2013) que avaliaram o potencial tóxico de corantes muito utilizados na indústria de alimentos em células meristemáticas de raízes de *A. cepa* e obtiveram resultados semelhantes aos obtidos em sistemas testes animais e em culturas de células.

Nesse contexto, este trabalho teve por objetivo avaliar, por meio das células meristemáticas de raízes de *A. cepa* e de forma individual e associada, a toxicidade em nível celular de aromatizantes alimentares sintéticos, idênticos aos naturais, de Morango, Leite Condensado e Chocolate. Estes aromatizantes foram escolhidos para estudo em função de serem amplamente utilizados na indústria alimentícia em alimentos doces industrializados, alimentos estes muito apreciados pela população, principalmente a infantil.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

Aditivo alimentar é considerado pela legislação brasileira como a substância não nutritiva adicionada intencionalmente ao alimento, para melhorar sua aparência, aroma, sabor, textura e conservação (CUNHA, 2008). Com isso as indústrias de alimentos são as que mais prosperam mundialmente, e as de doces possui uma posição de destaque, aumentando, a cada ano, o seu o faturamento e a competitividade, grande parte deste sucesso é devido aos aditivos alimentares utilizados na confecção dos alimentos industrializados (MARMITTI et al., 2010).

Os aditivos alimentares, embora sejam muitas vezes imprescindíveis em certos produtos, mostram-se como os principais responsáveis pelos danos à saúde, sobretudo quando ingeridos diariamente em grandes quantidades nos alimentos que os contém, ou quando os alimentos em que estão contidos apresentam quantidades superiores ao recomendado pelas autoridades ligadas à alimentação e a saúde (LIMA. 2011). Segundo Polônio e Peres (2009) diversos estudos apontam reações adversas aos aditivos, quer seja aguda ou crônica, tais como reações tóxicas no metabolismo desencadeantes de alergias, de alterações no comportamento, em geral e carcinogenicidade, esta última observada a longo prazo.

Bessonov et al. (2011) e ganessan et al. (2011) ressalva que, os aditivos alimentares, de maneira geral, antes de serem liberados para consumo, são avaliados individualmente quanto a sua necessidade tecnológica e segurança. Sua aprovação e incorporação à legislação específica de alimentos poderão ocorrer com restrição de uso, ou seja, serão estabelecidos limites máximos ou de tolerância (CHEESEMANN et al., 2012). Em âmbito mundial, o controle para a utilização de aditivos alimentares baseia-se na Ingestão Diária Aceitável (IDA) que tem como base os resultados de pesquisas internacionais e as recomendações do Codex Committee on Food Additives and Contaminants (CCFAC).

Segundo Salinas (2002) existem várias classes de aditivos, classificados de acordo com sua função, que são os conservantes (antioxidantes e antimicrobianos), acidulantes, emulsificantes, estabilizantes, espessantes, umectantes, anti-umectantes, corantes e aromatizantes. O Quadro 01 apresenta cada classe de aditivo alimentar e suas respectivas funções.

**Quadro 01** – Classes de Aditivos Alimentares.

<b>Classe de aditivo</b>	<b>Função</b>
Antiespumante	Previne ou reduz a formação de espumas.
Anti-umectante/ antiaglutinante	São capazes de reduzir características higroscópicas de

	alimentos e diminuir a tendência das partículas individuais a aderir umas às outras
Antioxidante	Retarda o aparecimento de alterações oxidativas do alimento.
Corante	Confere, intensifica ou restaura a cor do alimento.
Conservante	Impede ou retarda a alteração dos alimentos provocada por microrganismos e enzimas.
Edulcorante	É diferente do açúcares que dão sabor doce aos alimentos.
Espessante	Aumenta a viscosidade dos alimentos.
Gelificante	Da textura através da forma de gel.
Estabilizante	Manutenção da dispersão uniforme de duas ou mais substancias imiscíveis em um alimento.
Aromatizante/ Flavorizante	Substâncias ou misturas com propriedades aromáticas, sápidas ou ambas, capazes de dar ou reforçar o aroma dos alimentos.
Umectante	Protege os alimentos de perda de umidade em ambiente de baixa umidade relativa ou que facilitam a dissolução de um pó em meio aquoso.
Regulador de Acidez	Altera ou controla a acidez ou alcalinidade dos alimentos.
Emulsionante/ emulsificante	Tornam possível a formação ou a manutenção de uma mistura uniforme de duas ou mais fases imiscíveis no alimento.
Melhoradores da Farinha	São substâncias adicionadas à farinha, que melhoram sua qualidade tecnológica.
Fermentos químicos	São substâncias ou misturas de substancias que liberam gás e desta maneira, aumenta o volume da massa.

Fonte: Salinas, 2002.

A ANVISA (2007) considera que há a necessidade de constante aperfeiçoamento das ações de controle sanitário na área de alimentos, tendo em vista a proteção da saúde da população, além da necessidade de segurança de uso de aditivos alimentares na fabricação de alimentos. Somando-se a isso, o uso dessas substâncias deve ser limitado a alimentos específicos, em condições específicas e ao menor nível para alcançar o efeito desejado, por isso é necessário atualizar a regulamentação sobre o uso de aditivos, como por exemplo, a dos aromatizantes em alimentos.

Lima (2011) relata que os aromatizantes alimentares são substâncias que conferem ou intensificam o aroma dos alimentos com finalidade de conferir ou intensificar o sabor, podem ser subdivididos em essência natural, produto aromático, sávido, volátil e oleoso, extraído de vegetais, enquanto que o extrato vegetal aromático é um produto aromático e sávido obtido



de plantas; e essência artificial, constituída por substâncias artificiais aromáticas, contendo ou não substâncias extraídas de vegetais.

Em adição Luerce (2008) considera que, aroma natural é aquele em cuja elaboração utilizou-se exclusivamente matéria prima aromatizante natural, quimicamente definida ou também produto aromatizante natural, obtidos a partir de matérias vegetais ou de animais, seja por extração (processos físicos) ou por processos biotecnológicos (enzimáticos ou microbiológicos). Segundo Tonetto et al. (2008) os aromas sintéticos são compostos quimicamente definidos obtidos por processos químicos e compreende os aromatizantes artificiais e aromatizantes idênticos a os naturais. Os aromatizantes idênticos ao natural são substâncias também quimicamente definidas obtidas por sínteses e aqueles isolados por processos químicos a partir da matéria-prima de origem animal, vegetal ou microbiana que apresenta uma estrutura química idêntica nas referidas matérias primas.

No caso das essências artificiais ou dos aromatizantes sintéticos é de suma importância à inserção no rótulo do produto a declaração "Aromatizado artificialmente", porém não é obrigatória a informação sobre qual a substância química utilizada. Neste caso, tomando como exemplo um suco com sabor de abacaxi, no rótulo informará somente que é "Aromatizado artificialmente", sem especificar quais as substâncias químicas conferiram o aroma e sabor do abacaxi ao suco (LIMA, 2011). Constituindo esta classe de aditivos está presente uma grande quantidade de substâncias, uma vez que os aromas mostram-se muito complexos onde alguns produtos apresentam mais de mil substâncias com o objetivo de conferir apenas único aroma característico (CARVALHO et al., 2005)

Por sua formulação química complexa os aromatizantes são considerados um avanço polêmico da indústria de alimentos por muitos especialistas da área de saúde que alegam que estes juntamente com os corantes alimentares contribuem de forma significativa para o empobrecimento da dieta e para o desencadeamento e potencialização de patologias, principalmente em crianças, levantando uma série de dúvidas quanto a sua toxicidade em nível sistêmico e celular (SILVA; NEED, 2010; CHEESEMAN, 2012).

Determinadas substâncias presentes nos alimentos podem ter efeitos mutagênicos e/ou carcinogênicos ou podem favorecer o desenvolvimento de tumores enquanto outras podem enfatizar ou anular estes efeitos (ANTUNES; ARAÚJO, 2000). O efeito mutagênico é a decorrência de danos genéticos causados por agentes físicos, químicos e biológicos, induzido por mutações nas células de um organismo. Já o efeito antimutagênico, tem ação inversa impedindo a formação das mutações causadas por um determinado agente mutagênico (RIBEIRO et al., 2003)

As mutações ocorrem em todos os seres vivos, sendo um processo fundamental para a evolução e a diversidade das espécies. Muitas alterações genéticas são decorrentes da ação desses chamados agentes mutagênicos, que são capazes de alterar a sequência das bases do DNA. Muitas mutações não insinuam em mudanças detectáveis na atividade metabólica da célula ou do organismo e, portanto, passam despercebidas. Outras podem determinar a morte celular e, conseqüentemente, também não são detectáveis. Logo, apenas, um pequeno número de mutações, que acontecem em genes específicos, pode determinar vantagens para o organismo ou levar a um crescimento desordenado das células, alterações estas que podem ser transmitidas por diversas gerações (RIBEIRO et al., 2003).

Pesquisa feita por Barros (2008) revela que, a toxicidade está relacionada com a detecção, composição química e ação biológica de substâncias tóxicas, a toxicidade de uma substância pode ser considerada como a capacidade de ser prejudicial, causando dano grave ao organismo. Os efeitos tóxicos, só se manifestam em organismos se o agente tóxico alcançar locais específicos do organismo, em concentrações e tempo suficiente para produzir algum tipo de efeito. A via de administração, duração e frequência de exposição, são os fatores mais importantes que influenciam a toxicidade ao organismo mesmo ele, sendo encontrado no interior das células, não está livre de sofrer constantes alterações e mutações (RABELLO-GAY, 1991).

No entanto, apesar do elevado número de substâncias potencialmente mutagênicas, sabe-se muito pouco sobre o efeito delas no material genético. Mais de 25.000 substâncias com as quais o ser humano entra em contato diariamente, tais como os aditivos alimentares, podem ser comprovada ou estão sob suspeita quanto a possibilidade de exercerem um papel mutagênico sobre os animais submetidos à experimentação científica. E, ainda, temos a ampla aceitação de que os fatores denominados dietéticos encontram-se arraigados aos processos envolventes na formação do câncer (BAYNES, 2000; LIMA, 1996; SHILS, 2003).

A presença de substâncias com potencial mutagênico/carcinogênico nos alimentos deve-se, em parte, ao desenvolvimento das técnicas modernas, que visam aumentar a produção, conservação, acondicionamento, e melhorar certas propriedades, como a cor e sabor dos alimentos. Por isso, considerando os compostos químicos colocados continuamente à nossa disposição, recomenda-se que cada uma dessas substâncias sempre seja submetida a rigorosos testes quanto à sua capacidade carcinogênica e mutagênica (BAYNES, 2000; SANSEVERINO, 2001).

O uso do bioindicador *A. cepa* (cebola) para testes de citotoxicidade foi validado por muitos pesquisadores que realizaram de forma conjunta testes em animais in vivo, obtendo

resultados similares (VICENTINI et al., 2001; TEIXEIRA et al., 2003), propiciando informações valiosas para a saúde humana. De acordo com Herrero et al. (2012) além de sua alta sensibilidade e relação custo-benefício, a utilização desse teste com vegetal oferece algumas vantagens adicionais, incluindo a possibilidade de medição de parâmetros macroscópicos e microscópicos e uma boa correlação com resultados de sistemas de teste com mamíferos.

Este sistema teste têm sido utilizados para estudos preliminares dos efeitos de extratos vegetais, visando à detecção do potencial de genotoxicidade (TEIXEIRA et al., 2003; FACHINETTO et al., 2007; FRESCURA, 2012), servindo como primeira triagem de detecção. O bioensaio é considerado uma das abordagens mais eficientes e é rotineiramente usado para determinar os efeitos tóxicos de compostos químicos no ambiente (LEME; MARIN-MORALES, 2009).

A análise das alterações cromossômicas serve como um ensaio de mutagenicidade e é um dos poucos métodos para medir os danos diretos em sistemas expostos a possíveis mutagênicas ou agentes cancerígenos. Para permitir a avaliação dos efeitos ou danos que podem causar agentes mutagênicos, é necessário que o sistema teste esteja em divisão mitótica constante, buscando identificar os efeitos tóxicos e alterações que ocorrem ao longo do um ciclo celular. O teste *A. cepa* tem sido amplamente utilizada para esta finalidade (SILVA et al., 2003).

Segundo Kurás et al. (2006), este sistema teste é de fácil preparação para análise, pois contém células meristemáticas em constante divisão, tem cromossomos grandes e em número baixo (16 cromossomos), além de ser facilmente corados e observados. Estudos realizados por estes mesmos autores, com extrato aquoso da planta *Uncaria tomentosa*, um fitoterápico usado em tratamentos alternativos de cânceres e outras doenças, mostraram que o sistema teste *A. cepa* é indicado para avaliação de citotoxicidade de células expostas a químicos. O extrato causou, em *A. cepa* uma inibição da divisão celular meristemática, confirmando as propriedades antimitóticas já descritas para o produto pelos sistemas teste animal e humano.

Estudos com corantes alimentares realizados por Oliveira et. al. (2013) e Gomes et. al. (2013) demonstra que os resultados de teste de toxidade utilizando a espécie *A. cepa* ressalvam a importância deste sistema teste, pois o mesmo apresenta resultados semelhantes aos obtidos em outros ensaios, com isso mostra que são excelentes parâmetros de análise citotóxica, comprovando a importância desse sistema teste para análise citotóxica de aromatizantes artificiais.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Citogenética Vegetal e Animal (NUPBSAM) do Campus Senador Helvídio Nunes de Barros da Universidade Federal do Piauí, Município de Picos, Estado do Piauí, no período de setembro a dezembro de 2014.

#### 3.1 Obtenção dos aromatizantes alimentares

Os aromatizantes alimentares sintéticos doces e líquidos, idênticos aos naturais, de sabores Morango, Leite Condensado e Chocolate (figura 01) foram obtidos de uma revendedora localizada na região nordeste do Brasil, especializada na comercialização nacional e internacional de aditivos alimentares sintéticos.

**Figura 01** – Aromatizantes utilizados.



Fonte: produção do *próprio autor*

#### 3.2 Definição das doses a serem utilizadas

No rótulo dos aromatizantes estudados sugeria-se a utilização de 1,0 ml de aromatizante para 1,0 Kg de massa. Os bulbos de cebolas utilizados tinham, em média, 200g. Assim, a menor dose estabelecida foi de 0,2, e as outras duas de 0,4 e 0,6 ml. Estas doses foram analisadas individualmente e em associação entre si.

Realizou-se a avaliação associada em função dos aromatizantes de Morango, Leite Condensado e Chocolate serem muito utilizados em associação na preparação de alimentos doces industrializados, como bolachas, cookies, pudins, sorvetes e tortas geladas. Esta avaliação foi realizada da seguinte forma: a dose de 0,2 ou 0,4 ou 0,6 ml de um dos aromatizantes associada a mesma dose de um dos outros dois aromatizantes em estudo.

É importante esclarecer que para avaliação do potencial citotóxico e mutagênico destes aditivos nenhuma diluição foi realizada para a definição das doses, ou seja, teve-se o intuito de verificar a toxicidade dos aromatizantes nos meristemas de raízes de *A. cepa* direto na solução presente nos frascos dos produtos. Optou-se por fazer desta forma em função do receio, já que os aromatizantes alimentares possuem uma formulação química complexa, de que a concentração dos compostos presentes nos aromatizantes fosse alterada.

Também é importante relatar, conforme declara a EFSA, que a formulação de qualquer aromatizante alimentar sintético é padronizada mundialmente. No entanto, este órgão regulamentador, assim como a ANVISA, não explicita em documento e nem exige dos fabricantes de alimentos que discriminem no rótulo dos alimentos industrializados quais são os compostos e suas respectivas concentrações na formulação destes aditivos.

### 3.3 Obtenção das células meristemáticas de raízes de *A. cepa* para a análise citogenética.

Os bulbos de cebola foram colocados em frascos com água destilada (figura. 02), à temperatura ambiente ( $\pm 25^{\circ}\text{C}$ ) e aerada, até a obtenção de raízes com cerca de 2,0 cm de comprimento. Para análise de cada dose (tratamento) estabeleceu-se um grupo experimental com cinco bulbos de cebola. Antes de se colocar as raízes em contato com as suas respectivas doses, algumas raízes foram coletadas e fixadas para servirem de controle do próprio bulbo. Em seguida, as raízes restantes foram colocadas em suas respectivas soluções, por 24 horas, procedimento este denominado de tempo de exposição de 24 horas.

Após este tempo foram retiradas algumas raízes e fixadas. Feito este procedimento, as raízes restantes de cada bulbo foram devolvidas as suas respectivas soluções onde permaneceram por mais 24 horas, o que se denominou de tempo de exposição de 48 horas. Após este período, raízes novamente foram coletadas e fixadas. Os tempos de exposição de 24 e 48 horas foram escolhidos com o intuito de se avaliar a ação destas doses em mais de um ciclo celular.

No Recipiente de cada bulbo em estudo foram colocados a quantidade de 1,0 ou 2,0 ml do aromatizante a ser testado, 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.

**Figura 02** – Bulbos de *allium cepa* L. em frascos com água destilada.



Fonte: produção do próprio autor

### 3.4 Preparo e leitura das lâminas, e análise estatística.

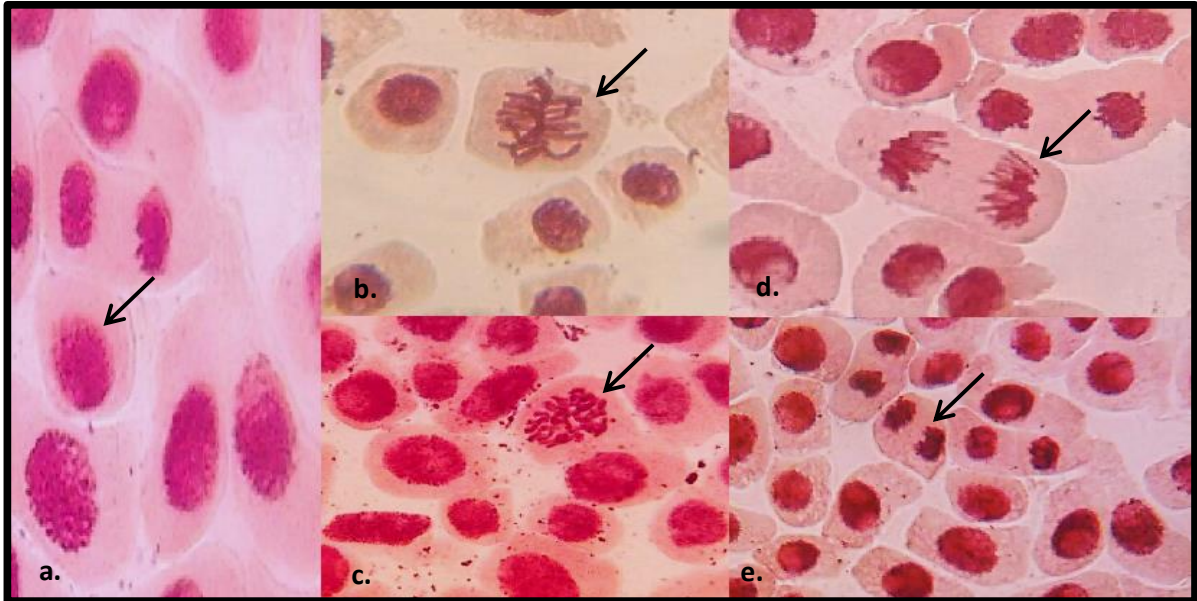
As lâminas, em média 03 por bulbo, foram feitas seguindo o protocolo proposto por Guerra & Souza (2002). Cada lâmina foi corada com duas gotas deorceína acética a 2% e analisada em microscópio óptico em objetiva de 40X. Para cada bulbo analisou-se 1.000 células, totalizando 5.000 células para cada controle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

Foram observadas células em interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase (figura. 03). Foi calculado o número de células em intérfase e em divisão de cada controle e tempo de exposição e determinado o índice mitótico, da seguinte forma: (número de células em divisão presente em cada tratamento/número total de células analisadas para cada dose individual ou doses associadas) x 100.

Avaliou-se também a ação das doses por meio do número de células micronucleadas, de metáfases colchícinicas, pontes anáfasicas e telofásicas, ampliações gênicas, células com aderências, anáfases multipolares (figura 04) e brotos nucleares. A análise dos resultados obtidos foi realizada pelo teste do Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) (programa Prisma versão 5.0, GraphPad (Software)).

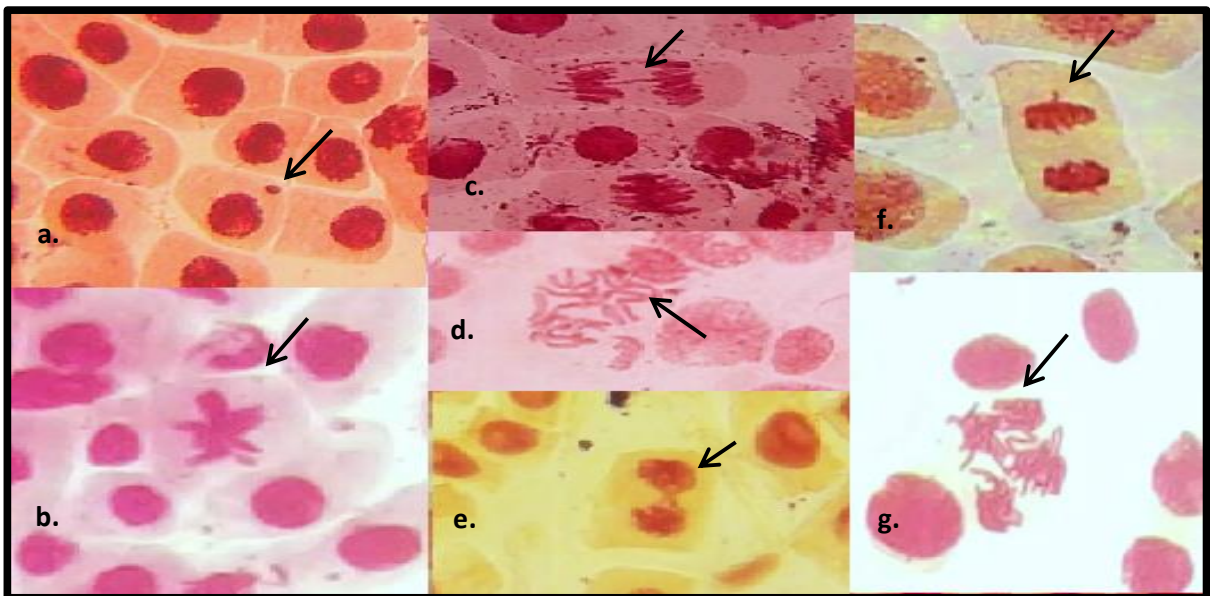


**Figura 03** – Principais fases da divisão mitótica.



**a.** Célula em interfase. **b.** célula em metáfase. **c.** célula em prófase. **d.** célula em anáfase. **e.** célula em telófase.  
Fonte: produção do *próprio autor*

**Figura 04** – Principais alterações encontradas nos tratamentos feitos com os aromatizantes.



**a.** Célula micronucleada. **b.** Metáfase com aderência cromossômica . **c.** Ponte anáfase . **d.** Metáfase colchicínica. **e.** ponte telofásica. **f.** telófase com amplificação genica. **g.** anáfases multipolares Fonte: produção do *próprio autor*.

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 01, é apresentado o número de células em interfase e em diferentes fases da divisão celular, e os valores de índice mitóticos obtidos a partir de células de tecido meristemático de raízes de *A. cepa* tratadas com água e com aromatizantes alimentares de Morango, Leite Condensado e Chocolate nos tempos de exposição de 24 e 48 horas. Na descrição dos resultados são mostrados os valores significativos de  $\chi^2$ .

Tabela 01 - Número total de células analisadas da região meristemáticas de raízes de *A. cepa* tratadas, nos tempos de exposição de 24 e 48 horas, com as doses de 0,2; 0,4 e 0,6 ml dos aromatizantes alimentares sintéticos doces, idênticos aos naturais, de Morango, Leite Condensado e Chocolate.

AROMATIZANTE DE MORANGO								
Dose (ml)	TE	TCII	P	M	A	T	TCD	IM (%)
0,2	CO	4387	200	195	169	49	613	12,2 <sup>a</sup>
	24h	4773	114	53	27	33	227	4,5 <sup>b</sup>
	48h	4805	83	52	30	30	195	3,9 <sup>b</sup>
0,4	CO	4430	215	155	151	49	570	11,4 <sup>a</sup>
	24h	4754	113	90	13	30	246	4,9 <sup>b</sup>
	48h	4734	158	46	23	34	261	5,2 <sup>b</sup>
0,6	CO	4422	254	151	130	38	578	11,5 <sup>a</sup>
	24h	4779	108	45	34	34	221	4,4 <sup>b</sup>
	48h	4773	115	44	37	31	227	4,5 <sup>b</sup>
AROMATIZANTE DE LEITE CONDENSADO								
Dose (ml)	TE	TCII	P	M	A	T	TCD	IM (%)
0,2	CO	4572	289	95	76	58	428	8,5 <sup>a</sup>
	24h	4601	209	86	44	60	399	8,0 <sup>a</sup>
	48h	4635	181	85	47	52	365	7,3 <sup>a</sup>
0,4	CO	4626	156	97	68	53	374	7,5 <sup>a</sup>
	24h	4786	84	66	36	28	214	4,3 <sup>a</sup>
	48h	4811	83	59	29	18	189	3,8 <sup>a</sup>
0,6	CO	4666	149	70	63	52	334	6,7 <sup>a</sup>
	24h	4924	37	19	14	06	76	1,5 <sup>b</sup>
	48h	4943	32	12	08	05	57	1,1 <sup>b</sup>



AROMATIZANTE DE CHOCOLATE								
Dose (ml)	TE	TCII	P	M	A	T	TCD	IM (%)
0,2	CO	4475	280	90	55	100	525	10,5 <sup>a</sup>
	24h	4580	225	89	48	58	420	8,4 <sup>a</sup>
	48h	4609	214	83	51	43	391	8,7 <sup>a</sup>
0,4	CO	4519	254	106	60	61	481	9,6 <sup>a</sup>
	24h	4621	255	56	30	38	379	7,6 <sup>a</sup>
	48h	4822	76	43	35	24	178	3,5 <sup>b</sup>
0,6	CO	4506	254	93	73	74	494	9,9 <sup>a</sup>
	24h	4885	72	27	09	07	115	2,3 <sup>b</sup>
	48h	4900	67	20	04	09	100	2,0 <sup>b</sup>

TCII – Total de células em intérfase e de células indiferenciadas; TE – Tempo de Exposição; CO – Controle; IM – Índice Mitótico; TCD – Total de células em Divisão; Dentro de um mesmo tratamento, valores de IM seguidos da mesma letra não diferem significativamente ao nível de 5% pelo teste  $\chi^2$ .

A partir dos resultados obtidos para o aromatizante de Morango verificou-se que as três doses avaliadas foram citotóxicas em função de terem ocasionado redução estatisticamente significativa no índice mitótico das células meristemáticas de raízes de *A. cepa* quando comparado com os índices de divisão celular obtidos para os seus respectivos controles.

O aromatizante de Leite Condensado, na dose de 0,6 ml, nos dois tempos de exposição avaliados, reduziu de forma estatisticamente significativa o índice de divisão celular do sistema teste utilizado em relação ao índice mitótico do seu respectivo controle. Para o aromatizante de Chocolate na dose de 0,4 ml e no tempo de exposição de 48 horas observou-se redução significativa do índice mitótico das células do organismo de prova quando comparados com o índice mitótico obtidos para o seu respectivo controle e tempo de exposição de 24 horas. Já a dose de 0,6 ml deste aromatizante nos dois tempo de exposição avaliados reduziram de forma estatisticamente significativa o índice de divisão celular em relação ao seu respectivo controle.

Na Tabela 2, é apresentado o número de células em interfase e em diferentes fases da divisão celular e os valores de IM obtidos do tecido meristemático de raízes de *A. cepa* tratadas, com água e com os aromatizantes alimentares sintéticos de Morango, Leite Condensado e Chocolate em associação, nos tempos de exposição de 24 e 48 horas, onde para cada uma das três doses testadas - 0,2 ou 0,4 ou 0,6 ml - de um destes aromatizantes associou-

se a mesma dose de um dos outros dois aromatizantes em estudo. Na descrição dos resultados foram mostrados os valores significativos de  $\chi^2$ .

Tabela 02 - Número de células observadas em cada fase do ciclo celular em tecido meristemático de raízes de *Allium cepa* tratadas com os aromatizantes alimentares sintéticos doces, idênticos aos naturais, de Morango, Leite Condensado e Chocolate, nas doses de 0,2; 0,4 e 0,6 ml de forma associada, nos tempos de exposição de 24 e 48 horas.

AROMATIZANTE DE MORANGO + AROMATIZANTE DE LEITE CONDENSADO								
Doses associadas (ml)	TE	TCII	P	M	A	T	TCD	IM (%)
0,2 +0,2	CO	4243	298	199	161	109	757	15,3 <sup>a</sup>
	24h	4788	95	86	19	12	212	4,2 <sup>b</sup>
	48h	4817	94	55	22	12	183	3,6 <sup>b</sup>
0,4 +0,4	CO	4241	279	199	157	124	759	15,2 <sup>a</sup>
	24h	4714	91	94	61	40	286	5,7 <sup>b</sup>
	48h	4717	82	65	86	50	283	5,6 <sup>b</sup>
0,6 +0,6	CO	4293	287	178	154	88	707	14,1 <sup>a</sup>
	24h	4891	44	23	24	18	109	2,2 <sup>b</sup>
	48h	4898	39	33	18	12	102	2,0 <sup>b</sup>
AROMATIZANTE DE MORANGO + AROMATIZANTE DE CHOCOLATE								
Doses associadas (ml)	TE	TCII	P	M	A	T	TCD	IM (%)
0,2 +0,2	CO	4616	197	96	59	32	384	7,7 <sup>a</sup>
	24h	4900	48	25	18	09	100	2,0 <sup>b</sup>
	48h	4925	41	16	11	07	75	1,5 <sup>b</sup>
0,4 +0,4	CO	4387	321	127	96	69	613	12,2 <sup>a</sup>
	24h	4786	87	67	45	15	214	4,3 <sup>b</sup>
	48h	4875	96	31	21	17	125	3,3 <sup>b</sup>
0,6 +0,6	CO	4251	486	195	47	21	749	15,0 <sup>a</sup>
	24h	4656	150	74	70	50	344	6,9 <sup>b</sup>
	48h	4670	126	96	59	44	330	6,6 <sup>b</sup>
AROMATIZANTE DE LEITE CONDENSADO + AROMATIZANTE DE CHOCOLATE								
Doses	TE	TCII	P	M	A	T	TCD	IM

associadas									(%)
(ml)									
	CO	4418	194	156	125	107	582	11,6 <sup>a</sup>	
0,2 +0,2	24h	4720	83	75	70	52	280	5,2 <sup>b</sup>	
	48h	4838	55	53	34	20	162	3,2 <sup>b</sup>	
	CO	4290	354	151	114	91	710	14,2 <sup>a</sup>	
0,4 +0,4	24h	4754	90	74	52	30	246	4,9 <sup>b</sup>	
	48h	4744	97	76	50	33	256	5,1 <sup>b</sup>	
	CO	4535	200	125	80	60	465	9,3 <sup>a</sup>	
0,6 +0,6	24h	4892	44	27	23	14	108	2,1 <sup>b</sup>	
	48h	4902	54	24	15	05	98	1,9 <sup>b</sup>	

TCII – Total de células em intérfase e de células indiferenciadas; TE – Tempo de Exposição; CO – Controle; IM – Índice Mitótico; TCD – Total de células em Divisão; Dentro de um mesmo tratamento, valores de IM seguidos da mesma letra não diferem significativamente ao nível de 5% pelo teste  $\chi^2$ .

Os resultados apresentados na Tabela 02 mostram que todos os tratamentos com os aromatizantes realizados em associação diminuíram de forma drástica o índice de divisão celular das células meristemáticas de raízes de *A. cepa* quando comparados com o índice de divisão celular dos seus respectivos controles. Assim, nestas condições de estudo, todos os tratamentos realizados de forma associada foram citotóxicos as células do sistema teste utilizados. Da mesma forma que os resultados obtidos para a avaliação individual, as doses em associação dos aditivos alimentares em estudo não ocasionaram número de aberrações celulares significativo as células deste organismo de prova.

De acordo com Gomes et al. (2013), a redução de índice mitótico ocasionada por compostos químicos em células normais, sem nenhum tipo de mutação, ocasiona o mal funcionamento de um tecido em função de não permitir a reposição de células, alterar a produção de proteínas e, conseqüentemente, resultar no mal funcionamento do órgão onde este tecido está localizado. O efeito inibitório da divisão celular em um tecido também pode prejudicar o funcionamento de outros órgãos.

É importante destacar que os aromatizantes de maneira geral são considerados a classe de aditivos alimentares menos estudada do ponto de vista toxicológico, com destaque aos aromatizantes doces, onde os trabalhos de toxicidade são praticamente inexistentes na literatura científica (HONORATO et al., 2013). Apesar de ainda serem considerados insuficientes por muitos pesquisadores, estudos de toxicidade em nível sistêmico com aromatizantes alimentares sintéticos salgados mostraram que, quando utilizados por tempo prolongado, podem ocasionar hiperatividade em crianças com e sem déficit de atenção

(STEVENS et al., 2013), diminuição significativa na concentração de hemoglobina no sangue, alterações drástica no funcionamento do fígado e diminuição significativa no peso de roedores (HANAN; MONAN, 2013), e alergias, hipersensibilidade cutânea e má digestão em humanos (ANDERSON et al., 2013).

Da mesma forma que em nível sistêmico, estudos de toxicidade com aromatizantes alimentares sintéticos salgados em nível celular são considerados incipientes, no entanto, compostos químicos presentes em alguns destes aditivos já possuem, segundo Whittaker et al. (2008), sua ação citotóxica bem definida, como por exemplo, o composto Diacetil, que promove danos significativos ao loci do cromossomo 11, perda funcional dos genes da enzima timidina-quinase e ação antiproliferativa drástica a células de mamíferos.

No Brasil, a ANVISA (BRASIL, 2007), apesar de não citar em documento quais estudos, quais concentrações, quais aromatizantes (doce ou salgado), determinaram tal conclusão, declara que doses elevadas de aromatizantes alimentares podem provocar ações irritantes e narcóticas ao organismo, também podem produzir toxicidade crônica ao trato digestório a longo prazo sempre que utilizados de maneira indiscriminada. Este órgão regulamentador também não informa quais são os Limites de Ingestão Diária (IDA) ideias para estes aditivos.

Corroborando com as informações dadas pela ANVISA (2007), Salinas (2002) declara que a utilização dos aromatizantes alimentares em geral, em doses baixas, não promove risco a saúde humana. Já quando as doses são elevadas, este autor relata que os aromatizantes podem provocar ações irritantes e narcóticas e toxicidade celular crônica a longo prazo, sempre que empregados em doses superiores as recomendadas. No entanto este autor, da mesma forma que a ANVISA, não especifica quais doses são consideradas altas ou baixas. Também não discrimina quais aromatizantes possuem esta ação e nem os organismos de prova utilizados na obtenção destas informações.

Dessa forma, com os resultados obtidos aqui neste trabalho e reforçando a citação de Honorato et al. (2013), verifica-se que embora a utilização de aromatizantes em alimentos seja permitida pelo Ministério da Saúde e pela ANVISA, torna-se necessário e urgente e estudos para se determinar, com propriedade, o potencial tóxico de aromatizantes alimentares, com destaque aos utilizados em alimentos industrializados doces.

Ainda, para uma melhor avaliação sobre a toxicidade destes aditivos é necessário a utilização de variados sistemas de avaliação, principalmente os que utilizam animais, visto que, o teste de *A. cepa* foi um *screening* inicial de citotoxicidade para os aromatizantes de Morango, Leite Condensado e Chocolate. Os resultados de toxicidade obtidos com outros

sistemas de avaliação somados aos obtidos aqui neste trabalho serão de grande auxílio aos órgãos regulamentadores na definição ou redefinição do IDA destes aditivos.

## 5 CONCLUSÃO

O aromatizante de Morango nos dois tempos de exposição estudados e nas três doses avaliadas, o de Leite Condensado na dose de 0,6 ml no tempo de exposição de 48 horas, o de Chocolate na dose de 0,4 ml no tempo de exposição de 48 horas e na dose de 0,6 ml nos dois tempos de exposição, e todos os tratamentos em associação foram citotóxicos as células meristemáticas de raízes de *A. cepa* L. No entanto, nenhuma das doses avaliadas, individualmente e em associação, causaram número de aberrações celulares significativo as células dos sistema teste utilizado.

## 6 REFERÊNCIAS

ANDERSON, S. E. et al. Evaluation of the hypersensitivity potential of alternative butter flavorings. **Food Chemical Toxicology**, v. 62, p. 373-381, 2013.

ANTUNES, L.M.G.; ARAÚJO, M.C.P. Mutagenicidade e Antimutagenidade dos principais corantes para alimentos. **Revista de Nutrição**, v.2, n.13, p. 81-88, 2000.

ARUNG, E. T. et al. Melanin biosynthesis inhibitory and antioxidant activities of quercetin-3'-O-beta-D-glucose isolated from *Allium cepa*. **Verlag der Zeitschrift fur Naturforschung**, v. 66, p. 209-214, 2011.

BAYNES, J.; DOMINICZAK, M. H. **Bioquímica médica**. 1ªed. São Paulo: Manole, 2000.

BESSONOV, V. V. et al. Development of methods for determining acrylamide in food products by gas-liquid chromatography. **Voprosy Pitanni**, v. 80, p. 70-83, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada RDC nº.05**, de 15 de Janeiro de 2007  
Disponível em <[http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2007/rdc/02\\_170107rdc.pdf](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2007/rdc/02_170107rdc.pdf)>. Acesso em: 12 Abr, 2014.

CARITÁ, R.; MARIN-MORALES, M. A. Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes. **Chemosphere**, v. 72, p. 722-725, 2008.

CARVALHO, P. R. de. Aditivos dos Alimentos. **Revista Logos**, São Paulo, n. 12, pp. 57-69, 2005.

CHEESEMAN, M. A. Artificial food color additives and child behavior. **Environmental Health Perspectives**. v. 20, p.15-16, 2012.

CONSTANT, P. B. L.; STRINGUETA, P. C.; SANDI, D. Corantes alimentícios. **Boletim do Centro de Pesquisa de Alimentos**, v. 20, p. 203-220, 2007.

CUNHA, F. G. **Estudo da Extração Mecânica de Bixina das Sementes de Urucum em Leite de Jorro**. 2008. 92 f. Dissertação (Mestre em Engenharia Química) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2008.

FACHINETTO, J. M. et al. Efeito anti-proliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* DC (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, vol.17, n.1, p. 49-54, 2007.

FRESCURA, V. D. S. **Avaliação do potencial antiproliferativo, genotóxico e antimutagênico das espécies *Psychotria brachypoda* (Müll. Arg.) Briton e *Psychotria birotula* Smith & Downs (Rubiaceae)**. 2012. 74f. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia) Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, RS. 2012.

- GANESAN, L. et al. The food colorant erythrosine is a promiscuous protein-protein interaction inhibitor. **Biochemical Pharmacology**, v. 81, p. 810-8, 2011.
- GOMES, K. M. et al. Citotoxicity of food dyes sunset yellow (E-110), bordeaux red (E-123), and tatzazine yellow (E-102) on *Allium cepa* L. root meristematic cells. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 33, p. 218-223, 2013.
- HERRERO, O. et al. Toxicological evaluation of three contaminant of emerging concern by use of *Allium cepa* test. **Mutation Research**, v. 743, p. 24-34, 2012.
- HONORATO, T. C. et al. Aditivos alimentares: aplicações e toxicologia. **Revista Verde da Agroecologia Sustentável**, v. 8, n. 5, p. 01-11, 2013.
- IGANCI, J. R. V. et al. Efeito do extrato aquoso de diferentes espécies de boldo sobre a germinação índice mitótico de *Allium cepa* L. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 73, p. 79-82, 2006.
- KURAS, M. et al. Changes in chromosome structure, mitotic activity and nuclear DNA content from cells of *Allium* test induced by bark water extract of *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. **Journal Ethnopharmacol**, v. 107, n. 2, p. 211–221, 2006.
- LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research**, v. 682, n. 1, p. 71–81, 2009.
- LIMA, C. P. **Genética humana**. 3ªed. São Paulo: Harbra, 1996.
- LIMA, G. F. Aditivos alimentares: definições, tecnologia e reações adversas. Veredas **Revista Eletrônica de Ciências**, v. 4, n. 2, p. 101-107, 2011.
- LUERCE, R. F. **Produção de acetoína por *Bacillus polymyxa***. 2008. 83f. Programa (Mestre em Engenharia Química). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.
- MARMITT, S.; PIROTTA, L. V.; STULP, S. Aplicação de fotólise direta e UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a efluente sintético contendo diferentes corantes alimentícios. **Química Nova**, v. 33, n.2, p. 384-388, 2010.
- OLIVEIRA, M. V. A. et al. Citotoxicidade dos corantes alimentares erythrosine (E-127), azul brilhante (E-133) e red 40 (E-129) em sistema-teste vegetal. **Acta Scientiarum Biological Science**, v. 35, p. 557-562, 2013.
- POLONIO, M. L. T.; PERES, F. Consumo de aditivos alimentares e efeitos à saúde: desafios para a saúde pública brasileira. **Cadernos de Saúde Pública**, v.25, n.8, p. 1653-1666, 2009.
- POTERA, C. Food Additives: still searching for better butter flavoring. **Environmental Health Perspectives**, v. 20, p. 457, 2012.
- PRADO, M. A.; GODOY, H. T. Corantes artificiais em alimentos. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v.14, n.2, p. 237-250, 2003.



RABELLO-GAY, M. N. **Genetic Toxicológica: Bases e Metas**. Instituto Butantan, São Paulo, 1991.

RIBEIRO, L. R.; SALVADORI, D. M. F.; MARQUES, E. K. **Mutagênese Ambiental**. Editora Ulbra. Canoas, 1ª ed., 2003.

SALINAS, R. D. **Alimentos e Nutrição: Introdução a Bromatologia**. 3ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2002.

SANSEVERINO, M. T. V.; SPRITZER, D. T.; FACCINI, L. S. **Manual de teratogênese**. 1ª ed. Porto Alegre: Editora Universitária/UFRGS, 2001.

SHILS, M. E.; OLSON, J.A.; SHIKE, M.; ROSS, A.C. **Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença**. 9ªed. São Paulo: Manole, Vol. 2, 2003.

SILVA, J.; FONSECA, M. B. Estudos Toxicológicos no Ambiente e na Saúde Humana, In: **Genética Toxicológica**, SILVA, J., ERDTMANN, B., HENRIQUES, J. A. P. (Orgs.), pp. 69-84, Alcance, Porto Alegre, 2003.

STEVENS, L. J. et al. Amounts of artificial food dyes and added sugars in food and sweets commonly consumed. **Clinical Pediatrics (Phila)**, v. 53, n. 4, 2014.

TABREZ, S. et al. Genotoxicity testing and biomarker studies on surface water: an over view of the techniques and their efficacies. **Journal of Environmental Science and Health Part C, Environmental Carcinogenesis & Ecotoxicology Reviews**, v. 29, p. 250-75, 2011.

TEIXEIRA, R. O. et al. Assessment of two medicinal plants, *Psidium guajava* L. and *Achillea millefolium* L., in in vitro and in vivo assays. **Genetics and Molecular Biology**, v. 26, n. 4, p. 551-555.

TONETTO, A. et al. **O Uso de Aditivos de Cor e Sabor em Produtos Alimentícios**. 2008. 21 f. Texto de apoio (Especialização em Atividade Física Adaptada e Saúde) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

WHITAKE, R. P. et al. Evaluation of the butter flavoring chemical diacetyl and a fluorochemical paper additive for mutagenicity and toxicity using the mammalian cell gene mutation assay in L5178Y mouse lymphoma cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 2928-2933, 2008.

WROLSTAD, C. A.; CULVER, C. A. Alternatives to those artificial FD&C food colorants. **Food Science and Technology – Annual Reviews**, v. 3, p. 59-57, 2012.



TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO DIGITAL NA BIBLIOTECA  
"JOSÉ ALBANO DE MACEDO"

**Identificação do Tipo de Documento**

- ( ) Tese  
( ) Dissertação  
( X ) Monografia  
( ) Artigo

Eu, Alexsânia Moraes Santana,

autorizo com base na Lei Federal nº 9.610 de 19 de Fevereiro de 1998 e na Lei nº 10.973 de 02 de dezembro de 2004, a biblioteca da Universidade Federal do Piauí a divulgar, gratuitamente, sem ressarcimento de direitos autorais, o texto integral da publicação

Palavras citativas e matriciais de aromatizantes alimentares sintéticos líquidos doces, idênticos aos naturais produzidos de forma individual e em associação  
de minha autoria, em formato PDF, para fins de leitura e/ou impressão, pela internet a título de divulgação da produção científica gerada pela Universidade.

Picos-PI 03 de março de 2015.

Alexsânia Moraes Santana  
Assinatura

\_\_\_\_\_  
Assinatura