

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ – UFPI**  
**CAMPUS SENADOR HELVÍDIO NUNES DE BARROS – CSHNB**  
**CURSO LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**MARIELLY DE SOUSA BEZERRA**

**POTENCIAL CITOTÓXICO E GENOTÓXICO DE PREPARADOS SÓLIDOS**  
**PARA REFRESCO**

**PICOS-PI**

**2015**

**MARIELLY DE SOUSA BEZERRA**

**POTENCIAL CITOTÓXICO E GENOTÓXICO DE PREPARADOS SÓLIDOS  
PARA  
REFRESCO**

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 Licenciada em Ciências Biológicas.

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

**PICOS-PI**

**2015**

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

**B574p** Bezerra, Marielly de Sousa.

Potencial citotóxico e genotóxico de preparados sólidos para refresco / Marielly de Sousa Bezerra . – 2015.

CD-ROM : il.; 4 ¾ pol. ( 33 f.)

Monografia(Licenciatura em Ciências Biológicas)- Universidade Federal do Piauí, Picos, 2015.

Orientador(A): Profa. Dra. Ana Paula Peron.

1. Citotoxicidade. 2. Genotoxicidade. 3. Preparados Sólidos. I. Título.

**CDD 664**

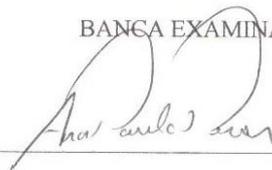
**MARIELLY DE SOUSA BEZERRA**

**POTENCIAL CITOTÓXICO E GENOTÓXICO DE PREPARADOS SÓLIDOS PARA  
REFRESCO**

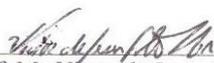
Monografia apresentada ao curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Piauí,  
Campus Senador Helvídio Nunes de Barros, como requisito parcial para a obtenção do grau de  
Licenciada em Ciências Biológicas.

Monografia aprovada em 01 / 07 / 2015

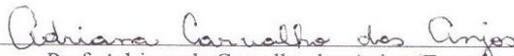
BANCA EXAMINADORA



Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ana Paula Peron (Orientadora)  
Curso de Ciências Biológicas – UFPI



Prof. Me. Víctor de Jesus Silva Meireles (Examinador)  
Curso de Ciências Biológicas – UFPI



Prof. Adriana de Carvalho dos Anjos (Examinador)  
Curso de Ciências Biológicas – UFPI

A Deus primeiramente por ser essencial em minha vida, autor de meu destino, meu guia, socorro presente na hora da angústia e aos meus pais, que sempre me incentivaram a colocar os estudos acima de tudo, vocês são meu porto seguro!

DEDICO

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente a Deus que permitiu que tudo isso acontecesse ao longo da minha vida, e não somente nestes anos como universitária, mas que em todos os momentos é o maior mestre que alguém pode conhecer. A minha mãe Maria Aldenir de Sousa Bezerra e ao meu pai Ulisses José Bezerra pela dedicação abdicando muitas vezes de seus sonhos em favor dos meus, pelo amor e todo apoio. Aos meus irmãos Wellyton de Sousa Bezerra e Paulo Márcio de Sousa Bezerra por sempre me darem forças para continuar a prosseguir. Queria agradecer também aos meus sobrinhos pelo o amor incondicional, pelo carinho e apreço dedicado a mim, Igor Eduardo, Irys Maria, Ana Sophia e Álvaro. Ao meu namorado Francisco Samuel de Almondes Sepúlveda pelo apoio que me foi dado em todo este momento da minha vida, e que sempre entendeu a minha ausência.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ana Paula Peron, pela orientação, colaboração, paciência e atenção para que eu pudesse desenvolver este trabalho você foi realmente um dos meus braços fortes, que me protegeu e me fez crescer dentro do mundo acadêmico me mostrando que eu sou capaz de tudo o que eu quiser.

Aos amigos da universidade Edeilma, Flávia Manoela, Amanda, Ana Paula, Clarice Guedes e Flaviane que sempre estiveram comigo nas horas de alegria e tristeza, me mostrando que uma amizade verdadeira pode existir. Rogo a Deus para que esta amizade não se dissolva ao longo dos anos.

A minha amiga Geiz, que sempre se preocupava comigo e me fazia sorrir nos momentos de desespero e que foi meu braço direito me ajudando mesmo sem poder nas minhas famosas lâminas, nunca terminarei de pagar a você pelas alegrias que proporcionou a minha vida.

Aos mestres pelos ensinamentos repassados, as dúvidas esclarecidas, pela amizade e paciência.

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

**OBRIGADA!!!**

*Renda-se, como eu me rendi. Mergulhe no que  
você não conhece como eu mergulhei. Não se  
preocupe em entender, viver ultrapassa  
qualquer entendimento.*

*Clarice Lispector*

## RESUMO

Os preparados sólidos para refrescos são muito consumidos pela população devido, principalmente, oferecerem praticidade em seu preparo, estarem disponíveis em vários sabores de frutas e apresentarem baixo custo de aquisição quando comparados a outros tipos de bebidas industrializadas. Apresentam formulação complexa, constituídos por várias classes de aditivos alimentares. No entanto, não existem na literatura científica estudos de toxicidade sobre estes alimentos. Assim, objetivou-se neste trabalho avaliar a toxicidade em nível celular de sucos industrializados do tipo em pó de Laranja e Goiaba, de três diferentes empresas alimentícias. Esta avaliação se deu por meio das células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* L., nos tempos de exposição de 24 e 48 horas em duas concentrações, 30g/1000ml, considerada ideal para consumo de acordo com os rótulos das amostras avaliadas, e 30g/500ml. A partir dos resultados obtidos verificou-se que os dois tipos de sucos, das três empresas consideradas, nas duas concentrações e nos dois tempos de exposição analisados, promoveram relevante efeito antiproliferativo aos meristemas das raízes, e ocasionaram número estatisticamente significativo de alterações de fuso mitótico e micronúcleos as células do organismo de prova utilizado. Portanto, nas condições de estudo descritas, todas as amostras de sucos em pó testadas foram citotóxicas e genotóxicas.

**Palavras-chave:** sucos industrializados em pó; toxicidade em nível celular; índice mitótico; aberrações celulares; *Allium cepa*

## ABSTRACT

Powdered juices are widely consumed by the population especially because of their convenient preparation, availability in various fruit flavors and low cost when compared to other industrialized beverages. They have complex formulation, consisting of several classes of food additives. However, there are no scientific studies on the toxicity of these foods. Thus, this study evaluated the toxicity at the cellular level of industrialized powdered juices of orange and guava flavors of three different food companies. This analysis was made using root meristem cells of *Allium cepa* L., at the exposure times of 24 and 48 hours, and two concentrations, 30g/1000mL, considered ideal for consumption according to the label of the products, and 30 g/500mL. Both flavors of juices, of the three companies, in both concentrations and the two exposure times promoted significant antiproliferative effect to root meristem cells and caused a statistically significant number of mitotic spindle changes and micronuclei in cells of the test system used. Therefore, under the studied conditions, all the samples of juice powder exhibited cytotoxic and genotoxic potential.

**Key words:** industrialized powdered juice; toxicity at the cellular level; mitotic index; cellular aberrations; *Allium cepa*.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> - Número de células observadas em cada fase do ciclo celular de tecido meristemático de raízes de <i>Allium cepa</i> tratadas com preparados sólidos para refresco de Laranja nas concentrações de 30g/1000ml e 30/500ml, nos TE 24h e TE 48h, das marcas A, B e C.....	20
<b>Tabela 02</b> - Número de células observadas em cada fase do ciclo celular de tecido meristemático de raízes de <i>Allium cepa</i> tratadas com preparados sólidos para refresco industrializados de Goiaba na concentração de 30g/1000ml e 30/500, nos TE 24h e TE 48h, das marcas A, B e C.....	21
<b>Tabela 03</b> – Alterações celulares observadas em células meristemáticas de raízes de <i>Allium cepa</i> tratadas com água e com os sucos industrializados em pó, da marca B, de Goiaba e de Laranja, nas concentrações de 30g/1000ml e 30g/500ml, nos tempos de exposição de 24 e 48 horas.....	22

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>14</b>
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>20</b>
3.1 AMOSTRAS E DEFINIÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES .....	20
3.2 OBTENÇÃO DAS CÉLULAS MERISTEMÁTICAS DE RAÍZES DE <i>A. CEPA</i> E ANÁLISE CITOGENÉTICA .....	20
3.3 PREPARO E LEITURA DAS LÂMINAS, E ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	21
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>22</b>
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>29</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>30</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Devido ao acelerado ritmo de vida urbana, o consumo de sucos industrializados do tipo em pó aumentou consideravelmente nas últimas décadas tendo em vista a praticidade, a durabilidade, a boa qualidade sensorial e, principalmente, seu preço de mercado, considerando muito inferior quando comparado a outros tipos de bebidas, como por exemplo, os refrigerantes (FERRAREZI et al., 2010). Estas bebidas são preparadas a partir da dissolução do pó de suco em água, com o intuito de simular o sabor do suco de fruta natural.

No Brasil, os sucos industrializados deste tipo estão perfeitamente integrados ao dia a dia do consumidor também em virtude de renderem muitas porções e estarem disponíveis em vários sabores. São utilizados em mais de 60% dos lares brasileiros, com consumo anual de 16 litros por pessoa adulta (FERRAREZI, et al., 2010). No entanto, ao longo dos anos estes preparados sólidos para sucos sofreram diversas alterações em relação à sua formulação química, entre elas, a adição em grandes quantidades de aditivos alimentares, como acidulantes, conservantes, aromatizantes e corantes, a fim de melhorar as características sensoriais e a vida de prateleira do produto (BRITO et al., 2008). Assim, devido a grande quantidade de compostos químicos presentes em sua composição, o consumo destas bebidas, de maneira geral, é motivo de debate entre muitos pesquisadores e profissionais da área de vigilância alimentar, que as consideram maléficas à saúde da população, principalmente, das crianças (FERRAREZI et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2006).

Com exceção dos compostos químicos para cor, os outros aditivos alimentares presentes em sucos industrializados, até o momento, foram poucos estudados do ponto de vista toxicológico. Estudos recentes demonstraram efeitos adversos de alguns destes compostos, como reações alérgicas, mal funcionamento do fígado, alterações na absorção de sais minerais pelo trato digestório e toxicidade em nível celular (OLIVEIRA et al., 2013; CHEESEMAN et al., 2012). Porém, não foram encontrados na literatura científica trabalhos de avaliações toxicológicas diretamente realizadas nas soluções obtidas da diluição de sucos industrializados em pó. De acordo com Ferrarezi et al. (2010), estas avaliações são importantes por promoverem a segurança alimentar da população frente ao consumo destes alimentos e também podem ser a base de elaboração ou modificação de estratégias de segurança alimentar das agências de vigilância alimentar.

Os bioensaios vegetais são considerados bastantes sensíveis e simples no monitoramento dos efeitos citotóxicos de compostos químicos (IGANCI et al., 2006; CARITÁ; MARIN-MORALES, 2008) e a *Allium cepa* L. (cebola), por meio da região meristemática de suas raízes, é tida no meio científico como um eficiente organismo teste para a avaliação de toxicidade aguda em nível celular (MATSUMOTO et al., 2006; HERRERO et al., 2012). Este organismo de prova possui excelentes propriedades cinéticas de proliferação, cromossomos grandes e em número reduzido ( $2n=16$ ) o que facilita a detecção de aberrações celulares e de fuso mitótico (TABREZ et al., 2011). Também permite a verificação de alterações no índice de divisão celular ou mitótico quando exposto a compostos químicos com potencial ação citotóxica (ARUNG et al., 2011; NUNES et al., 2011; GERAS'KIN et al., 2011).

Assim, com base no que foi abordado, objetivou-se neste trabalho avaliar a toxicidade em nível celular de preparados sólidos para refrescos, de Laranja e Goiaba, em células meristemáticas de raízes de *A. cepa*. Estes sabores de sucos foram escolhidos em função de serem amplamente apreciados pela população em geral no preparo de refrescos.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

Nas últimas décadas, o consumo de alimentos industrializados cresceu significativamente, pois a rotina das pessoas ficou mais acelerada e o tempo para as refeições diminuiu. Esses produtos são escolhidos por sua praticidade e rapidez de preparo, além da durabilidade e qualidade sensorial (MÖRSCHBÄCHER; SOUZA, 2011). Sendo os sucos industrializados do tipo em pó um desses produtos muito consumidos pela população.

O suco de fruta pronto para beber é o principal responsável por essa expansão, que vem acompanhar a tendência mundial de consumo de bebidas que oferecem conveniência, sabor, inovação e prazer (De Marchi 2001; Rosa et al 2006), que nas últimas décadas esse consumo e alimentos industrializados cresceu significativamente (MÖRSCHBÄCHER; SOUZA, 2011). Dentre os sucos industrializados conhecidos como preparados sólidos destaca-se o suco de laranja e de goiaba, os quais apresentam em sua composição aditivos alimentares como os acidulantes, edulcorantes, aromatizantes e corantes artificiais dentre outros.

De acordo com Cunha (2008), aditivo alimentar é considerado pela legislação brasileira como uma substância intencionalmente adicionada ao alimento com a finalidade de conservar, intensificar ou modificar suas propriedades, desde que não prejudique o valor nutritivo do produto. Lima (2011) afirma que 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. Este mesmo autor também assegura que diversos estudos apontam reações adversas aos aditivos, como reações tóxicas ao metabolismo gerando quadros graves de alergia e carcinogenicidade.

Sabe-se que alguns aditivos alimentares causam danos a saúde da população, dessa forma, a seguir serão citadas as aplicações e aspectos toxicológicos de alguns aditivos alimentares, presentes nos sucos industrializados. Os corantes são usados para restaurar possíveis perdas de coloração que ocorrem durante a produção e armazenamento, para manter a uniformidade do produto e atender as expectativas dos consumidores, além de tornar os produtos mais atrativos (CUNHA, 2008). Duas classes bem distintas de corantes estão disponíveis para uso em alimentos, os sintéticos e os

naturais. (CONSTANT; STRINGHETA; SANDI, 2002). Nos últimos anos tem-se discutido a respeito da toxicidade dos corantes sintéticos e dos riscos que podem causar à saúde. Muitos dos problemas de saúde, como rinite, bronco constrição, alterações cromossômica, desenvolvimento de tumores, entre outros, têm sido reportados por diversos autores (MARMITT; PIROTTA; STÜLP, 2010).

Segundo Santos, Demiate e Nagata (2012), os corantes têm sido pesquisados quanto a sua toxicidade, pois podem causar doenças como câncer e alergias. Estudos realizados por McCann et al. (2012) concluiu que o consumo de corantes artificiais provoca hiperatividade em crianças, podendo causar impulsividade e desatenção, prejudicando seu aprendizado, principalmente na escola. Os corantes do grupo azoico merecem destaque devido ser os mais utilizados em todo o mundo não só na indústria alimentícia, mas também na indústria têxtil, em cosméticos, couro e papel, devido terem baixo custo e variedade de cores (LOPES et al., 2007; ALEBOYEH; OLYA; ALEBOYEH, 2009; ARAÚJO; YOKOYAMA; TEIXEIRA, 2006). Entre os corantes desse grupo destaca-se o amarelo crepúsculo, vermelho 40 e o amarelo tartrazina (ROLLEMBERG, 2006). Ambos os corantes presentes nos sucos industrializados; dessa forma, são necessários cuidados quanto às quantidades de ingestão desse aditivo, pois diversos estudos na literatura relatam quanto as possíveis reações adversas ocasionadas pelo consumo de produtos que contenham essas substâncias, entre elas, o bronco espasmo, urticária e angioedema. Além disso, a tartrazina pode desencadear hipercinesia em pacientes hiperativos (BALBANI; STELZER; MONTOVANI, 2006).

Estudos têm demonstrado que o uso prolongado de corantes alimentares na mucosa gástrica de ratos ocasionou um aumento significativo na migração de linfócitos e eosinófilos na mucosa do antro gástrico desses animais. O que proporcionou resultados positivos em não desencadear efeitos carcinogênicos em relação à dose e o tempo de utilização (7,5mg de tartrazina/kg/dia durante dez meses), mas, por medida de segurança os autores sugerem outros estudos modificando-se a dose e tempo de exposição a tartrazina, de forma a permitir a observação dos efeitos associados a outros carcinógenos (MOUTINHO et al, 2007). No entanto em estudos realizados por Sasaki, et al. (2002) os corantes Vermelho 40 e Tartrazina induziram danos no DNA em estômago, cólon e/ou bexiga urinária com dose de 10mg/kg para a tartrazina e 100mg/kg para o vermelho 40.

Em estudos realizados com os corantes naturais urucum e cúrcuma por Chagas, et al. (2014) mostraram que, as doses testadas desses corantes foram citotóxicas as células meristemáticas de raízes de cebola, nas condições analisadas. Também presentes nos

sucos industrializados, os aromatizantes servem para fornecer sabor e aroma aos alimentos industrializados, aproximando-os ao máximo dos produtos naturais, aumentando assim a aceitação do consumidor. Essa classe de aditivos podem ser classificada como: natural, sintético idêntico ao natural, sintético artificial de reação ou transformação, de fumaça (MAGALI, 2006). Nos aditivos artificiais quando as doses são elevadas, podem provocar ações irritantes e narcóticas, outros podem produzir toxicidade crônica em longo prazo, sempre que sejam empregados em doses superiores às recomendações (SALINAS, 2002).

Estudos recentes demonstraram que os aromatizantes alimentares podem ser bastante tóxicos quando utilizados por tempo prolongado, promovendo 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, diminuição significativa no peso de camundongos (HANAN; MONAN, 2013), alergias, hipersensibilidade cutânea, indigestão em humanos (ANDERSON et al., 2013).

Assim como os corantes e os aromatizantes, os edulcorantes, são adicionados aos preparados sólidos para refresco, essa classe de aditivo alimentar compreendem um grupo de substâncias, utilizadas em substituição à sacarose, que compartilham a propriedade de interagir com receptores gustativos e produzir uma sensação que percebemos e denominamos de doce. São substâncias consideradas não calóricas pelo fato de não serem metabolizadas pelo organismo ou por serem utilizadas em quantidades tão pequenas que o aporte calórico torna-se insignificante (CAVALINI, 2005).

O aspartame um edulcorante é atualmente alvo de várias críticas, devido ao seu suposto efeito neurológico. Após a absorção, ele é rapidamente hidrolisado pela esterase no intestino delgado em três moléculas: ácido aspártico, fenilalanina e metanol. Existe a preocupação com a formação de metanol quando o aspartame é estocado por longos períodos em temperaturas elevadas. O metanol é oxidado no organismo em ácido fórmico, sendo o acúmulo deste associado à acidose metabólica e a lesões oculares. Porém, a concentração de metanol necessária para produzir este acúmulo, com efeito tóxico, foi estimada em 200 a 500mg/kg, ou seja, o equivalente a 240 a 600 litros de bebidas adoçadas com aspartame em dose única (SAUNDERS et al., 2010).

Dentre os aditivos presentes nos sucos industrializados, destaca-se também os acidulantes sendo os ácidos cítrico, fosfórico e láctico os mais utilizados em alimentos. O primeiro, devido à alta solubilidade e ao efeito tamponante, favorece a estabilidade dos produtos finais, sendo assim, bastante utilizados em geléias, doces em massa e frutas em calda (TORREZAN et al., 2001). O ácido cítrico (AC) é um dos produtos de fermentação

mais produzidos no mundo, devido, entre outras características, a sua baixa toxicidade quando comparado a outros acidulantes utilizados pelas indústrias farmacêuticas e de alimentos. (RODRIGUES, 2006).

Além dos aditivos citados acima os conservantes também são incluídos na composição dos preparados sólidos pra refresco. A principal função de aditivos conservantes é impedir o crescimento e a germinação de microorganismos mantendo, desta forma, a aparência e o sabor e protegendo os consumidores dos riscos provocados por bactérias, fungos e leveduras, responsáveis por diversas patologias e infecções. (PETRUCI et al., 2011). Os conservadores vêm sendo cada vez mais utilizadas pela indústria alimentícia, uma vez que é crescente a demanda por alimentos quimicamente estáveis e seguros, de maior durabilidade (TONETTO et al., 2008).

Os conservantes mais utilizados são: dióxido de enxofre, ácido benzóico, ácido sórbico, ácido propiônico na forma livre, ou de sais de sódio ou potássio e nitritos, nitratos de sódio e potássio (ARAÚJO, 2008). Apesar de imprescindíveis como método adicional à conservação de alimentos no panorama atual, a limitação e política decrescente do uso de conservantes químicos em alimentos estão relacionadas ao risco toxicológico que estes compostos representam à saúde do consumidor (FAI; STAMFORD; STAMFORD, 2008). Além disso, cabe ressaltar que o emprego de sais de sódio como conservadores eleva o consumo diário desse mineral, o que pode ser prejudicial à saúde humana pela correlação do sódio com a hipertensão arterial (PEREIRA; GALVAO; ZANELLA, 2005).

Os antioxidantes são adicionados nos sucos industrializados por possuir a capacidade de inibir a degradação oxidativa. Assim, a atividade antioxidante, especialmente a inibição da reação em cadeia, de produtos naturais e alimentos tem sido um parâmetro importante na determinação do valor dietético dos mesmos. O interesse pela descoberta de antioxidantes novos e seguros de fontes naturais tem aumentado, principalmente para prevenir o dano oxidativo às células vivas. O uso de antioxidantes sintéticos tem diminuído devido a suspeita de atividade como promotores de carcinogênese. (LIMA et al., 2010). Alguns antioxidantes, são geralmente danosos à saúde, mesmo abaixo das doses diárias recomendadas, pois interferem no metabolismo causando reações alérgicas, ação tóxica sobre o fígado e redução da absorção do ferro. (SANTOS; SANTOS, 2008).

A fim de se determinarem os eventuais efeitos nocivos de um aditivo alimentar ou dos seus derivados, o aditivo deve ser submetido a ensaios e a uma avaliação de toxicidade adequada. Todos os aditivos alimentares devem ser mantidos sob observação

permanente e serem novamente avaliados sempre que for necessário, tendo em vista as variações das condições de utilização e de quaisquer novos dados científicos (BAPTISTA, 2003). Sendo o sistema teste *Allium cepa* bastante eficiente nessa avaliação.

Embora haja um grande consumo de produtos industrializados, mais especificamente, um grande consumo de sucos industrializados ainda falta estudos relacionados ao potencial toxicológico desses produtos. Sabe-se que alguns aditivos já demonstraram toxicidade porém não se tem informações sobre este aspecto em sucos industrializados

O uso de Sistema Teste Vegetal como modelo biológico, *Allium cepa*, para investigar genotoxicidade em conservantes alimentares propõe a demonstração de que essas substâncias sintéticas atuam no ciclo celular alterando assim o tempo de proliferação das células. Esse modelo experimental é bastante prático devido à simplicidade e aos custos baixos. (AIUB; FELZENSZWALB, 2011). O método de avaliação de alterações cromossômicas em raízes de cebola é validado pelo Programa Internacional de Segurança Química (IPCS, OMS) e o Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP) como um eficiente teste para análise e monitoramento *in situ* da genotoxicidade de substâncias ambientais (Cabrera; Rodriguez, 1999). Visto que por meio dele é possível observar anomalias do ciclo mitótico, como metáfase colchícinica, pontes anáfasicas e telofásicas; e anomalias interfásicas, como micronúcleos e células binucleadas (Matsumoto *et al.* 2006; Leme e Marin-Morales 2008).

O sistema de teste de *Allium* é bem aceito para o estudo de efeitos de citotoxicidade, porque as suas raízes ficam em contato direto com a substância testada, permitindo a avaliação de concentrações diferentes, as alterações cromossômicas e as da divisão das células meristemáticas da raiz de cebola são frequentemente usados para alertar a população sobre o consumo de diversos produtos (Vicentini *et al.*, 2001).

Visto que o crescimento de muitas raízes é aparentemente um processo contínuo que para somente em condições adversas como seca e baixas temperaturas. O ápice da raiz é coberto por uma coifa, que é uma massa de células semelhantes a um dedal, que protege o meristema apical, localizado internamente a ela. O meristema apical é composto por células relativamente pequenas e multifacetadas com citoplasma denso e núcleos grandes. A região meristemática apical da raiz é mitoticamente ativa durante seu desenvolvimento e possuem uma curta distância entre a região inativa do meristema apical (centro quiescente) (RAVEN, 2010).

Para possibilitar a avaliação dos efeitos ou danos que agentes mutagênicos podem causar, faz-se necessário que a amostra esteja em constante divisão mitótica, objetivando

identificar os efeitos tóxicos e alterações ocorridas ao longo de um ciclo celular, e o referido teste vegetal tem sido amplamente empregado com esse propósito (Silva et al., 2005).

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 AMOSTRAS E DEFINIÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES

Amostras de sucos industrializados do tipo em pó de Laranja e Goiaba, das empresas alimentícias *General Foods Corporation*<sup>®</sup>, *Três Corações Alimentos S/A*<sup>®</sup> e *General Brans*<sup>®</sup>, - referidas adiante como A, B e C, respectivamente - foram adquiridas em mercado varejista na cidade de Picos, Piauí, Brasil. Teve-se o cuidado de verificar se as amostras de sucos estavam dentro do prazo de validade e se suas embalagens não estavam danificadas.

No rótulo de cada amostra sugeria-se diluir o conteúdo total da embalagem, de 30g, em um litro de água fria. Dessa forma, a primeira concentração estabelecida para avaliação foi de 30g/1000 ml. A segunda concentração estipulada foi de 30g/500 ml, em virtude de que nem sempre a diluição em água destes sucos é feita conforme as instruções do rótulo das embalagens. Neste estudo, a diluição dos sucos foi realizada em água mineral previamente resfriada em geladeira.

#### 3.2 OBTENÇÃO DAS CÉLULAS MERISTEMÁTICAS DE RAÍZES DE *A. CEPA* E ANÁLISE CITOGENÉTICA

Os bulbos de cebola foram colocados em frascos aerados com água destilada, à temperatura ambiente ( $\pm 27^{\circ}\text{C}$ ), até a obtenção de raízes de 2,0 cm de comprimento. Para análise de cada grupo tratamento estabeleceu-se um grupo experimental com cinco bulbos de cebola. Antes de colocar as raízes em contato com os seus respectivos tratamentos (soluções), 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 24 horas (TE 24 h).

Após 24 horas 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 48 horas (TE 48 h). Após este período, raízes novamente foram coletadas e fixadas. Os TE 24 e 48 h foram escolhidos com o intuito de se avaliar a ação destes grupos tratamentos em mais de um ciclo celular. A fixação das raízes se deu em

Carnoy 3:1 (etanol: ácido acético) por 24 horas. Em cada coleta, retirou-se, em média, três raízes por bulbo.

Em todo os tempos de exposição considerados, os frascos com os tratamentos em estudo permaneceram em agitação leve e constante. Este procedimento foi realizado com o intuito de não permitir a precipitação das soluções analisadas. Os TE 24 h e 48 h foram estabelecidos com o intuito de se avaliar as soluções dos preparados sólidos para refresco em mais de uma ciclo celular.

### 3.3 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), e analisadas em microscópio óptico em objetiva de 400x. Para cada bulbo de cebola analisou-se 1.000 células, totalizando 5.000 células para o controle, TE 24h e TE 48h de cada grupo tratamento em análise.

Foram observadas células em interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase. Para o cálculo do índice mitótico (IM) utilizou-se a seguinte equação: (número total de células em mitose ÷ número total de células analisadas) x 100. Avaliou-se também a ação das concentrações por meio do número de células micronucleadas, de metáfases colchícinicas, pontes anáfasicas e telofásicas, ampliações gênicas, células com aderências, brotos nucleares e anáfases multipolares.

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na Tabela 1, é apresentado o número de células em interfase e em diferentes fases da divisão celular, e os valores de índices mitóticos obtidos a partir de células de tecido meristemático de raízes de *A. cepa* tratadas com suco de Laranja industrializado em pó nas concentrações de 30g/1000ml e 30g/500ml, referentes as marcas A, B e C. As células foram analisadas nos tempos de exposição de 24 e 48 horas. Na apresentação dos resultados também foram mostrados os valores significativos de  $\chi^2$ .

Tabela 01 - Número de células observadas em cada fase do ciclo celular de tecido meristemático de raízes de *Allium cepa* tratadas com preparados sólidos para refresco de Laranja nas concentrações de 30g/1000ml e 30/500ml, nos TE 24h e TE 48h, das marcas A, B e C.

SUCO DE LARANJA 30g/1000ml								
Empresa	TE	TCII	P	M	A	T	TCD	IM (%)
A	CO	4255	287	214	137	107	745	14,9 <sup>a</sup>
	24 h	4660	221	78	19	18	336	6,7 <sup>b</sup>
	48 h	4732	130	113	24	00	267	5,3 <sup>b</sup>
B	CO	4424	260	107	103	106	576	11,5 <sup>a</sup>
	24 h	4853	64	41	09	33	147	2,9 <sup>b</sup>
	48 h	4865	36	13	14	02	65	1,3 <sup>b</sup>
C	CO	4023	581	181	110	105	977	19,5 <sup>a</sup>
	24 h	4767	152	69	12	00	233	4,7 <sup>b</sup>
	48 h	4930	37	17	16	00	70	1,4 <sup>b</sup>
SUCO DE LARANJA 30g/500ml								
Empresa	TE	TCII	P	M	A	T	TCD	IM (%)
A	CO	4287	366	158	163	26	713	14,3 <sup>a</sup>
	24 h	4692	187	105	14	02	308	6,2 <sup>b</sup>
	48 h	4703	195	72	30	00	297	5,9 <sup>b</sup>
B	CO	3869	667	199	121	145	1132	22,6 <sup>a</sup>
	24 h	4650	118	182	40	10	350	7,0 <sup>b</sup>
	48 h	4669	105	127	86	13	331	6,6 <sup>b</sup>
C	CO	4281	375	143	185	17	720	14,4 <sup>a</sup>
	24 h	4795	96	107	11	01	215	4,3 <sup>b</sup>
	48 h	4863	58	74	05	00	137	2,7 <sup>b</sup>

A – Empresa *General Foods Corporation*; B – Empresa *General Brans*; C – Empresa *Três Corações Alimentos S/A*; TCII – Total de células em interfase e indiferenciadas; TE – Tempo de Exposição; CO – Controle; IM – Índice Mitótico; TCD – Total de células em divisão. Valores de IM seguidos da mesma letra dentro de um mesmo tratamento não diferem significativamente entre si ao nível de 5% pelo teste  $\chi^2$ .

Tabela 02 - Número de células observadas em cada fase do ciclo celular de tecido meristemático de raízes de *Allium cepa* tratadas com preparados sólidos para refresco de Goiaba, nas concentrações de 30g/1000ml e 30/500, e nos TE 24h e TE 48h, referentes as companhias alimentícias A, B e C.

SUCO DE GOIABA 30g/1000 ml								
Empresa	TE	TCII	P	M	A	T	TCD	IM (%)
A	CO	3669	695	541	92	03	1331	26,6 <sup>a</sup>
	24 h	4653	347	159	20	03	529	10,6 <sup>b</sup>
	48 h	4866	99	24	04	07	134	2,7 <sup>c</sup>
B	CO	3813	831	168	153	35	1187	23,7 <sup>a</sup>
	24 h	4495	229	219	53	04	505	10,1 <sup>b</sup>
	48 h	4887	58	12	07	06	83	1,7 <sup>c</sup>
C	CO	4263	632	138	128	139	1037	20,7 <sup>a</sup>
	24 h	4884	193	113	114	56	476	9,5 <sup>b</sup>
	48 h	4935	11	29	11	14	65	1,3 <sup>c</sup>
SUCO DE GOIABA 30g/500ml								
Empresa	TE	TCII	P	M	A	T	TCD	IM (%)
A	CO	4309	361	153	164	16	694	13,9 <sup>a</sup>
	24 h	4944	50	03	00	03	56	1,1 <sup>b</sup>
	48 h	4954	22	23	2	00	47	0,9 <sup>b</sup>
B	CO	4388	210	158	111	38	517	10,3 <sup>a</sup>
	24 h	4876	57	37	11	09	114	2,3 <sup>b</sup>
	48 h	4915	59	23	02	01	85	1,7 <sup>b</sup>
C	CO	4266	360	189	170	14	733	14,7 <sup>a</sup>
	24 h	4678	93	43	26	14	176	3,5 <sup>b</sup>
	48 h	4853	92	40	15	00	147	2,9 <sup>b</sup>

A – Empresa *General Foods Corporation*; B – Empresa *General Brands*; C – Empresa *Três Corações Alimentos S/A*; TCII – Total de células em interfase e indiferenciadas; TE – Tempo de Exposição; CO – Controle; IM – Índice Mitótico; TCD – Total de células em divisão. Valores de IM seguidos da mesma letra dentro de um mesmo tratamento não diferem significativamente entre si ao nível de 5% pelo teste  $\chi^2$ .

Com base nos resultados apresentados na Tabela 01, é possível verificar que as três marcas de sucos industrializados em pó de Laranja estudadas, nas concentrações de 30g/1000ml e 30g/500ml, nos TE 24 e 48h, causaram redução estatisticamente significativa da divisão celular do tecido meristemático de raízes de *A. cepa*, mostrando-se tóxicas nestas condições de estudo. Também é possível observar que, apesar de não estatisticamente significativo, o índice mitótico teve redução ainda mais acentuada com o aumento do tempo de exposição. Na Tabela 2, é apresentado o número de células em interfase e em diferentes fases da divisão celular, bem como os valores de índices mitóticos obtidos da análise de células de tecido meristemático de raízes de *A. cepa* tratadas com suco de Goiaba industrializado em pó, nas concentrações de 30g/1000ml e 30g/500ml, referentes as marcas A, B e C. As células foram avaliadas nos tempos de exposição de 24 e 48 horas. Na apresentação dos resultados é apresentado os valores significativos de  $\chi^2$ .

A partir dos resultados obtidos na Tabela 02, é possível observar que na concentração de 30g/1000ml do suco de Goiaba as três marcas em estudo, no TE 24h, causaram redução drástica do índice divisão celular das células de raízes de *A. cepa* em relação aos seus respectivos controles. Essa redução da divisão celular se acentuou ainda mais com o aumento do tempo de exposição, onde observa-se que os índices mitótico obtidos no TE 48h de todas as marcas em estudo foram significativamente menores que os índices de divisão celular observados para os seus respectivo TE 24h.

Já para a concentração 30g/500ml (Tabela 02), verifica-se que o índice de divisão celular foi reduzido significativamente no TE 24h para as três marcas de sucos em estudo, em relação aos seus respectivos controles. Ainda para esta concentração, com o aumento do tempo de exposição, o índice de divisão celular diminuiu de forma significativa, ou seja, quando comparado os índices de divisões celulares obtidos em TE 48h com os seus respectivos índices de divisões celulares observados em TE 24h verifica-se que eles estatisticamente diferentes entre si. De acordo com Gomes et al. (2013), a redução de índice mitótico ocasionada por compostos químicos em células de tecidos normais, sem nenhum tipo de mutação e/ou alteração celular, 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 está localizado.

Na Tabela 3, é apresentado as aberrações de fuso mitótico e de micronúcleo encontradas em células meristemáticas de raízes de *A. cepa* tratadas com água e com o suco industrializado em pó, referente a marca B, de Goiaba, nas concentrações de 30g/1000ml e 30g/500ml, nos tempos de exposição de 24 e 48 horas. Na descrição dos resultados foram mostrados os valores significativos de  $\chi^2$ .

Tabela 03 – Alterações celulares observadas em células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* tratadas com água e com os sucos industrializados em pó, da marca B, de Goiaba e de Laranja, nas concentrações de 30g/1000ml e 30g/500ml, nos tempos de exposição de 24 e 48 horas.

SUCO DE LARANJA							
30g/1000ml							
Empresa	TE	Metáfase colchicínica	Ponte anáfásica	Ponte telofásica	Micronúcleo	Célula binucleada	TAC
A	CO	00	00	00	01	00	01 <sup>a</sup>
	24h	31	14	13	57	01	116 <sup>b</sup>
	48h	13	19	07	71	00	110 <sup>b</sup>
B	CO	00	01	00	00	00	01 <sup>a</sup>
	24h	47	12	17	38	00	104 <sup>b</sup>
	48h	22	10	12	69	00	113 <sup>c</sup>
C	CO	00	01	00	00	00	01 <sup>a</sup>
	24h	24	08	10	31	02	73 <sup>b</sup>
	48h	18	05	03	18	00	44 <sup>b</sup>

SUCO DE LARANJA 30g/500ml							
Empresa	TE	Metáfase colchicínica	Ponte anáfasica	Ponte telofásica	Micronúcleo	Célula binucleada	TAC
A	CO	01	00	00	00	00	01 <sup>a</sup>
	24h	23	34	13	97	01	167 <sup>b</sup>
	48h	15	17	19	79	00	130 <sup>b</sup>
B	CO	00	00	00	01	00	01 <sup>a</sup>
	24h	24	07	19	88	00	138 <sup>b</sup>
	48h	18	11	09	92	00	130 <sup>b</sup>
C	CO	00	00	00	01	00	01 <sup>a</sup>
	24h	13	22	02	43	05	85 <sup>b</sup>
	48h	02	08	00	28	00	38 <sup>b</sup>

A – Empresa *General Foods Corporation*; B – Empresa *General Brans*; C – Empresa *Três Corações Alimentos S/A*; C – Concentração; TE – Tempo de Exposição; CO – Controle; TCA – Total de Alterações Celulares.

Tabela 04 – Alterações celulares observadas em células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* tratadas com água e com os sucos industrializados em pó de Goiaba das companhias alimentícias A, B e C, nas concentrações de 30g/1000ml e 30g/500ml, nos tempos de exposição de 24 e 48 horas.

SUCO DE GOIABA 30g/1000ml							
Empresa	TE	Metáfase colchicínica	Ponte anáfasica	Ponte telofásica	Micronúcleo	Célula binucleada	TAC
A	CO	00	00	00	01	00	01 <sup>a</sup>
	24h	18	22	08	50	00	148 <sup>b</sup>
	48h	09	12	14	28	01	64 <sup>b</sup>
B	CO	00	01	00	00	00	01 <sup>a</sup>
	24h	13	04	01	34	00	52 <sup>b</sup>
	48h	04	01	01	14	00	20 <sup>b</sup>
C	CO	00	01	00	00	00	01 <sup>a</sup>
	24h	27	21	08	32	01	89 <sup>b</sup>
	48h	09	09	03	19	00	40 <sup>b</sup>

SUCO DE GOIABA 30g/500ml							
Empresa	TE	Metáfase colchicínica	Ponte anáfasica	Ponte telofásica	Micronúcleo	Célula binucleada	TAC
A	CO	01	00	00	00	00	01 <sup>a</sup>
	24h	22	18	13	58	00	111
	48h	14	05	05	29	00	53
B	CO	00	00	00	01	00	01 <sup>a</sup>
	24h	19	11	07	45	00	82 <sup>b</sup>
	48h	03	00	07	17	02	27 <sup>b</sup>
C	CO	00	00	00	01	00	01 <sup>a</sup>
	24h	11	11	17	23	00	62 <sup>b</sup>
	48h	09	01	00	18	01	29 <sup>b</sup>

A – Empresa *General Foods Corporation*; B – Empresa *General Brans*; C – Empresa *Três Corações Alimentos S/A*; C – Concentração; TE – Tempo de Exposição; CO – Controle; TCA – Total de Alterações Celulares.

Como pode ser verificado na Tabela 03, o suco de Goiaba e Laranja, da marca B, nas concentrações de 30g/1000ml e 30g/500ml, induziu o aparecimento de alterações de fuso mitótico, como metáfases colchicínica e pontes anáfasicas e telófasicas, bem como quebras cromossômicas, como micronúcleos, as células meristemáticas de raízes de *A. cepa*, nos dois tempos de exposição analisados. Os sucos referentes as marcas A e C, não causaram alterações celulares as células do organismo de prova utilizado.

Conforme já mencionado anteriormente, não existem na literatura científica, trabalhos de avaliação toxicológica em nível celular avaliando sucos industrializados em pó. No entanto, são encontrados trabalhos de avaliação de toxicidade em nível celular de alguns dos constituintes químicos das classes de aditivos alimentares presentes na formulação destes alimentos, de maneira em geral. Dentre a classe de corantes estão principalmente os do grupo azo, representados pelo Amarelo Crepúsculo, Amarelo Tartrazina e o Vermelho Bordeaux (MORRISON et al., 2012).

Em um trabalho realizado por Gomes et al. (2013), foi verificado que estes três corantes alimentares foram altamente citotóxicos as células meristemáticas de raízes de *Allium cepa*. Sarikaya et al. (2012), investigando o efeito do Vermelho Bordeaux em larvas de *Drosophila melanogaster*, verificaram que este aditivo causou mutações somáticas as células das glândulas salivares deste organismo de prova. Mpountoukas et al. (2010) conduziram um experimento em culturas de células de sangue periférico humano para avaliar o efeito citotóxico do Vermelho Bordeaux e da Tartrazina e verificaram que tais aditivos causaram redução significativa do índice mitótico, bem como induziram o aparecimento de micronúcleos nas células deste sistema teste. Ainda, Shimada et al. (2010) avaliaram o efeito do corante Vermelho Bordeaux em várias concentrações nas células de cólon de ratos e camundongos, e verificaram que todas as doses testadas causaram aberrações cromossômicas e redução do índice de divisão celular as células dos tecidos analisados.

Dentre os conservantes alimentares encontrados em preparados sólidos para sucos estão o benzoato de potássio, benzoato de sódio e nitrato de potássio (Oliveira et al., 2006), compostos estes que, segundo Mpountoukas et al. (2010) e Zequin et al. (2011), foram clastogênicos, mutagênicos e citotóxicos a células normais de sangue periférico humano. Em relação aos aromatizantes, Oliveira et al. (2006) relatam que grandes quantidades de aditivos de aroma e sabor – dos tipos artificiais, idênticos aos naturais e naturais - são encontrados em refrescos industrializados. Porém, não foram encontrados na literatura resultados de avaliações toxicológicas envolvendo os aditivos de aroma e sabor utilizados na confecção destes alimentos.

Oliveira et al. (2006) relatam que entre os espessantes utilizados em sucos em pó estão o carboximetilcelulose e as gomas arábica e xantana. Já entre os compostos reguladores de pH estão o ácido cítrico, ácido fumárico, citrato de potássio e citrato de sódio. Porém, da mesma forma que os aromatizantes, não foram encontrados estudos de avaliação de toxicidade envolvendo estes compostos químicos destas duas classes de aditivos alimentares. Dentre os umectantes presentes nestes alimentos encontra-se o diacetilsulfossocinato de sódio. O grupo diacetil deste aditivo alimentar, em ensaio de mutação gênica em linfoma de ratos, causou danos significativos ao loci do cromossomo 11 destas células, causando perda da expressão dos genes para enzima timidina-quinase neste animais (WHITTAKER et al., 2008). Este composto também teve o potencial de ocasionar a substituição de bases de timina por guaninas em regiões de eucromatina, e o rompimento de pontes de hidrogênio e de dissulfeto em estrutura terciária de enzimas envolvidas no processo de divisão celular (MORE et al., 2012).

Na classe de antioxidantes para sucos industrializados encontra-se o ácido ascórbico e o tocoferol. Também não foram encontrados estudos de toxicidade em nível envolvendo estes dois compostos químicos. No entanto, Santos e Santos (2008), relatam que os antioxidantes utilizados na formulação de alimentos industrializados tem a capacidade de interferir no metabolismo de roedores causando reações alérgicas, ação tóxica sobre o fígado, redução da absorção do ferro, e potencializa o desenvolvimento de alguns tipos de câncer em roedores, como por exemplo, o de cólon.

É importante relatar que a Agência de Vigilância Alimentar (ANVISA) não possui em documento uma regulamentação própria para a confecção de sucos industrializados. A regulamentação existente é sobre os aditivos alimentares de maneira geral. Esta agência reguladora, apesar de não citar em documento quais estudos, quais concentrações e quais aromatizantes determinaram tal conclusão, declara que doses elevadas de aromatizantes alimentares podem provocar ações irritantes e narcóticas, e produzir toxicidade crônica ao trato digestório a longo prazo, sempre que utilizados de maneira indiscriminada.

Assim, considerando os resultados obtidos neste estudo, de toxicidade em nível celular dos sucos em pó de Laranja e Goiaba, frente aos dados de toxicidade em nível celular de compostos químicos presentes na formulação de preparados sólidos para refresco disponibilizados na literatura científica, sugere-se a realização de mais estudos de avaliação do potencial tóxico, em diferentes sistemas testes, das soluções diretamente obtidas da diluição do pó de suco em água. Estes estudos serão importantes para se definir com propriedade a real toxicidade destes alimentos, e podem auxiliar efetivamente a base de elaboração de estratégias de segurança alimentar das agências (nacional e internacional) de vigilância alimentar.



## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Todas as concentrações analisadas, para as três marcas de sucos industrializados em pó estudadas, foram citotóxicas as células meristemáticas de raízes de *A. cepa*. Somente os sucos de Goiaba e de Laranja, da marca B, nas concentrações de 30g/1000ml e 30g/500ml, foram genotóxicos as células do sistema teste analisado.

## REFERÊNCIAS

- AIUB, C.A.F.; FELZENSZWALB, I. O uso de *Allium cepa* como modelo experimental para investigar genotoxicidade de substâncias usadas em conservantes alimentares. **Genética na Escola**, Rio de Janeiro, v.1, n.06, p.12-15, 2011.
- ALEBOYEH, A.; OLYA, M. E.; ALEBOYEH, H.; Oxidative treatment of azo dyes in aqueous solution by potassium permanganate. **Journal of Hazardous Materials**, v. 162, n. 23, p. 1530–1535, 2009.
- ARAÚJO, D. B.; BARRAL, T.; ARAÚJO, R. P. C. Análise das características de produtos contendo aspartame comercializados em Salvador, Bahia, Brasil. **Pesquisa Brasileira Odontologia**, São Paulo, v.8, n.2, p. 223-228, 2008.
- ARAÚJO, F.V.F.; YOKOYAMA, L.; TEIXEIRA, L. A. Remoção de Cor em Soluções de Corantes Reativos por Oxidação Com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n.1, p.1114, 2006.
- ARUNG, E. T. et al. Melanin biosynthesis inhibitory and antioxidant activities of quercetin<sup>3'</sup>-O-beta-D-glucose isolated from *Allium cepa*. *Zeitschrift fur Naturforschung C*. **Journal of biosciences**. v.66, n. 5/6, p. 209-14, 2011.
- BALBANI A.P.S.; STELZER, L.B.; MONTOVANI, J.C. Pharmaceutical excipients and the information on drug labels. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, Rio de Janeiro, v.72, n. 3, p.400- 406, 2006.
- 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, 2015.
- BRITO, Carlos Antônio Kogushi et al. Caracterização físico-química, enzimática e aceitação sensorial de três cultivares de abacaxi. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, Ponta Grossa, v. 2, n. 2, p. 1-14, 2008.
- 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**, England. v.72, p.722-725, 2008.
- CAVALLINI, D. C. U.; BOLINI, H. M. A. Perfil sensorial de suco de manga adoçado com diferentes edulcorantes e com sacarose. **Revista de Nutrição**, Araraquara, v.16, n.4, p. 327336, out./dez. 2005.
- CHAGAS, L. C. ; MEIRELES, D. M. S.; PERON, A. P. \* Análise preliminar da citotoxicidade dos aditivos alimentares urucum e cúrcuma Cytotoxicity of the food additive annatto and

turmeric. **Acta Toxicologia**, Argentina. (2014) 22 (2): 69-75

CHEESEMAN, M. A. .Artificial food color additives and child behavior. *Environ Health Perspect.* 2012; 20:15-16. DOI: doi: 10.1289/ehp.1104409.

CONSTANT, P.B.L.; STRINGHETA, P.C.; SANDI, D. Corantes Alimentícios. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v.20, n.2 p.203-220, 2002.

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

DE MARCHI,R. **Desenvolvimento de uma bebida a base de maracujá (*Passiflora edulis Sims. F. flavicarpa Deg.*) com propriedades de reposição hidrolítica**. 2001. 92 f. Dissertação(Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2001.

FAI, A.E.C.; STAMFORD, T.C. M.; STAMFORD, T.L.M. Potencial Biotecnológico de quitosana em sistemas de conservação de alimentos. **Revista Ibero Polímeros**, Espanha, v.9, n.5, p. 10-15, 2008.

FERRAREZI, A. C., SANTOS, K. O. D.; MONTEIRO, M. (2010). Avaliação crítica da legislação brasileira de sucos de fruta, com ênfase no suco de fruta pronto para beber. *Revista de Nutrição*, 667-677.

GERAS`KIN, S. et al. Genotoxicity assay of sediment and water samples from the Upper Silesia post-mining areas, Poland by means Allium test. **Chemosphere**, England, v.83, n. 8, p.1133-1146, 2011.

GOMES, K.M.S.; OLIVEIRA, M.V.G.A.; Carvalho FRS, Menezes, CC, Peron AP. Citotoxicity of food dyes sunset yellow (E-110), bordeaux red (E-123), and tatzine yellow (E-102) on *Allium cepa* L. root meristematic cells. *Cienc Tecnol Aliment.* 2013;33:218-23.

GUERRA M, Souza MJ. Como observar os cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. Ribeirão Preto, SP: FUNPEC, 2002.

HERRERO, O. et al. Toxicological evaluation of three contaminant of emerging concern by use of *Allium cepa* test. **Mutation Research**, Amsterdam, v.743, n. 1-2, p.24-34, 2012.

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 de Biologia**, São Paulo, v.73, p. 79-82, 2006

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. *Mut Res.* 2008;650:80-86.

- LIMA, A.R.; et al. Compostos bioativos do café: atividade antioxidante in vitro do café verde e torrado antes e após a descafeinação. **Revista Química Nova**, São Paulo, v.33, n.1, p.20-24, 2010.
- LIMA, G.F. Aditivos alimentares: definições, tecnologia e reações adversas. VEREDAS FAVIP - **Revista Eletrônica de Ciências**. v. 4, n. 2 , Dez. 2011.
- LOPES, et al. Associação de glutamina e probióticos no trofismo mucoso do cólon na peritonite experimental. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgia**, Rio de Janeiro, v. 34, n. 1, p.200, 2007.
- MAGALI, R. F. **A leitura de rótulo de produto alimentício na escola**. 2006. 101f. Dissertação (Mestrado em linguística aplicada) - Universidade de Taubaté, Taubaté, 2006.
- MARMITT, S.; PIROTTA, L.V.; STÜLP, S. Aplicação de fotólise direta e UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a efluente sintético contendo diferentes corantes alimentícios. **Revista Química**, v.33, n.2, p.384-8, 2010.
- MATSUMOTO, S. T. et al. Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberration in onion root-tips. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.29, p. 148-58, 2006.
- MATSUMOTO S.T. et al. , Mantovani M.S., Malagutti M.I.A., Dias A.L., Fonseca I.C., Marin Morales M.A. Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberration in onion root-tips. *Gen Mol Biol*. 2006;29:148-158.
- MCCANN, D. et al. Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. **The Lancet**, v. 370, n. 9598, p. 1560-1567, 2012.
- MPOUNTOUKAS P, Pantazaki A, Kostareli E, Christodoulou P, Kareli D, Poliliou S, Lialiaris, T. Cytogenetic evaluation and DNA interaction studies of the food colorants amaranth, erythrosine and tartrazine. *Food Chem Toxicol*. 2010;48:2934-44.
- MORE S.S. ;, RAZA, A.; VINCE, R. The butter flavorant, diacetyl, forms a covalent adduct with 2-deoxyguanosine, uncoils DNA, and leads to cell death. *J. Agric. Food Chem*. 2012;60:3311-17.
- MÖRSCHBÄCHER, A. P.; SOUZA, C. F. V. Determinação do teor de aditivos em preparados sólidos para refresco sabor abacaxi comercializados na região do Vale do Taquari, RS. **Revista Destaques acadêmicos**, Lajeado, n. 4, p. 49-54, 2011.
- MORRISON, J. M.; WRIGHT, C. M.; JOHN, G. H. Identification, isolation and characterization of a novel azoreductase from *Clostridium perfringens*. **Anaerobe**, v. 18, n. 2, p.229-34, 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anaerobe.2011.12.006>
- MOUTINHO, I. L. S. et al. Prolonged use of food dye tartrazine (FD&C yellow nº 5) and its effects on the gastric mucosa of Wistar rats. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 67, n. 5, p. 141-145, 2007.
- NUNES, E. A. et al. Genotoxic assessment on river water using different biological systems. **Chemosphere**. England, v.84, n. 1, p.47-53, 2011.

OLIVEIRA, C.H.; BINOTTI, R.S.; QUAGLIARA,P.C.; REBECHI, M. Substâncias químicas presentes em sucos de frutas em pó comercializadas no Brasil. *Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia*, v. 19, n. 3, 2006

OLIVEIRA M.V.A. et al.; Alves D.D.L.; Lima L.H.G.M.; Castro J.M.C.; Peron A.P.; Cytotoxicity of erythrosine (E-127), brilliant blue (E-133) and red 40 (E-129) food dyes plant test system. *Acta Sci Biol Sci*. 2013;35:557-62.

PEREIRA, M. A. G.; GALVAO, R.; ZANELLA, M. T. Efeitos da suplementação de potássio via sal de cozinha sobre a pressão arterial e a resistência à insulina em pacientes obesos hipertensos em uso de diuréticos. *Revista de Nutrição*, Campinas, v.18, n.1, p. 5-17, 2005.

PETRUCI, J. F. da S.; CARDOSO, A. A.; PEREIRA, E. A. Desenvolvimento e validação de método analítico para determinação de benzoato, sorbato, metil e propilparabenos em produtos alimentícios utilizando a eletroforese capilar. *Química Nova*, São Paulo, v.34, n.7, p. 1177-1181. 2011.

RODRIGUES, C. **Desenvolvimento de bioprocesso para produção de ácido cítrico por fermentação no estado sólido utilizando polpa cítrica**. 2006. 93 f. Dissertação (Mestre em Processos Biotecnológicos ) - Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2006.

ROLLEMBERG, M. C. E. Espectrofotometria derivativa: uma estratégia simples para a determinação simultânea de corantes em alimentos. *Química Nova*, São Paulo, v.29, n. 2, p.230-233, 2006.

ROSA, S. E. S, COSENZA, J. P, LEÃO, L. T. S. Panorama do setor de bebidas no Brasil. *BNDES Setorial*.v. 23, pag.101-50, 2006.

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

SANTOS, M. E.; DEMIATE, I. M.; NAGATA, N. Determinação simultânea de amarelo tartrazina e amarelo crepúsculo em alimentos via espectrofotometria UV-VIS e métodos de calibração multivariada. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 30, n. 4, 2012.

SANTOS, R. M. P.; SANTOS, S. A. O ensino do tema aditivo químicos com o apoio de mapas conceituais e fluxogramas na sétima série do ensino fundamental. *Caderno Pedagógico*, Pato Branco, 2008.

SARIKAYA, R.; SELVI, M.; ERKOÇ, F. Evaluation of potencial genotoxicity of five food dyes using the somatic mutation and recombination test. *Chemosphere*, v. 88, n. 8, p. 9749, 2012.<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.03.032>

SASAKI, Y. F. et al; KAWAGUCHI, S.; KAMAYA A, OHSHITA A, KABASAWA K, IWAMA K, TANIGUCHI K, TSUDA S. The comet assay with 8 mouse organs: result with 39 currently used additives. *Mutat Res. Augv*. 519, pag. 103-19, 2002.

SAUNDERS, C. et al. Revisão da literatura sobre recomendações de utilização de edulcorantes em gestantes portadoras de diabetes mellitus. *Femina*, Rio de Janeiro, v.38, n.4,p.179-184, 2010.

SILVA, P. T. et al. Sucos de laranja industrializados e preparados sólidos para refresco: estabilidade química e físico-química. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Campinas, v. 25, n. 3, p. 597-602, 2005.

SHIMADA, C. et al. Differential colon DNA damage induced by azo food additives between rats and mice. **The Journal of Toxicology Sciences**, v. 35, n. 4, p. 547-54, 2010.<http://dx.doi.org/10.2131/jts.35.547>

TABREZ, S. et al. Genotoxicity testing and biomarker studies on surface water: an over view of the techniques and their efficacies. **Environmental Carcinogenesis Ecotoxicology Review**, v.29, n. 3, p.250-75, 2011.

TONETTO, A.; et al. O Uso de Aditivos de Cor e Sabor em Produtos Alimentícios. **Tecnologia de Alimentos**. São Paulo: Faculdade de ciências farmacêuticas, nov.2008.

TORREZAN, R.; JARDINE, J. G.; VITALI, A. A. Efeito da adição de solutos e ácidos em poupa de goiaba. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.19, n.1, p. 43-45, 2001.

VICENTINI, V. E. P. et al; CAMPAROTO, M. L, TEIXEIRA, R. O, MANTOVANI, M. S. *Averrhoa carambola* L., *Syzygiumcumini* (L.) Skeels and *Cissussicyoides* L.: medicinal herbal tea effects on vegetal and test systems. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 23, pag. 593-598, 2001.

WHITTAKER, P, Clarke JJ, San RH, Begley TH, Dunkel VC. 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 Chem Toxicol*. 2008;46:2928-33.

ZEQUIN,N.; YÜZBAŞIOĞLU D, Unal F, Yilmaz S, Aksoy H. The evaluation of the genotoxicity of two food preservatives: sodium benzoate and potassium benzoate. *Food Chem*



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

**Identificação do Tipo de Documento**

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

Eu, Marielly de Sousa Bezerra,  
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  
Potencial citotóxico e genotóxico de preparados  
sólidos para refresco  
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 09 de Março de 2016.

Marielly de Sousa Bezerra  
Assinatura

\_\_\_\_\_  
Assinatura