



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

ERICK LEAL DA SILVA

**SUCOS DE FRUTAS INDUSTRIALIZADOS PRONTOS PARA CONSUMO:
SCREENING DA TOXICIDADE AGUDA EM NÍVEL CELULAR.**

PICOS, PIAUÍ
2016

ERICK LEAL DA SILVA

SUCOS DE FRUTAS INDUSTRIALIZADOS PRONTOS PARA CONSUMO:
SCREENING DA TOXICIDADE AGUDA EM NÍVEL CELULAR.

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^a. Dr^a. Ana Paula Peron.

PICOS, PIAUÍ

2016

FICHA CATALOGRÁFICA

Serviço de Processamento Técnico da Universidade Federal do Piauí

Biblioteca José Albano de Macêdo

S586s Silva, Erick Leal da.

Sucos de frutas industrializados prontos para consumo: *screening*
da toxidade aguda em nível celular / Erick Leal da Silva – 2016.

CD-ROM : il.; 4 ¾ pol. (36 f.)

Monografia(Licenciatura em Ciências Biológicas)- Universidade
Federal do Piauí, Picos, 2016.

Orientadora: Prof. Dra. Ana Paula Peron

1. Citotoxicidade-Sucos Industrializados.
- 2.Genotoxicidade.
- 3.Toxicidade Aguda-Nível celular. I. Título.

CDD 581.4

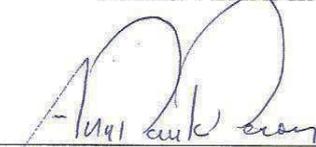
ERICK LEAL DA SILVA

**SUCOS DE FRUTAS INDUSTRIALIZADOS PRONTOS PARA CONSUMO:
SCREENING DA TOXICIDADE AGUDA EM NÍVEL CELULAR.**

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 26/07/2016

BANCA EXAMINADORA



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



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



Prof.^a. Ms. Patrícia da Cunha Gonzaga (Examinador)
Curso de Ciências Biológicas – UFPI

À minha família, em especial a minha mãe, Maria Inez e avó, Helena, que sempre me deram forças para nunca desistir e seguir sempre pelo caminho certo.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado o dom da vida, e por ter me dado saúde e força para superar todas as dificuldades. A minha família, minha base, que sempre me incentivou, pois é devido à educação e orientação que me deram ao longo da vida, que pude seguir em busca de meus próprios sonhos e desejos, os quais estão se materializando. Dedico esta conquista especialmente às duas pessoas que mais amo, minha mãe, Maria Inez e a minha avó, Dona Helena, as grandes responsáveis de terem feito que eu seguisse o caminho dos estudos, podendo assim colher os frutos, e ter a grande felicidade de sentir a sensação do dever cumprido, dessa etapa de minha vida.

A minha orientadora Prof^ª. Dr^ª. Ana Paula Peron, que me acolheu e permitiu a realização dessa conquista, apesar do pouco tempo que lhe cabia, sempre esteve apta a dar suporte, tirar dúvidas, dar correções e incentivar nos momentos que era preciso. A você professora, minha eterna gratidão e respeito.

Aos meus amigos da universidade que levarei juntos comigo para toda a vida, em especial, Italo Vinícius, Rayssa Aléxia, Andréia de Carvalho, Francisco Antônio (Chicão), Hélia de Alencar e Camila Fernanda, que puderam compartilhar comigo diversos momentos de dificuldades e estresses, porém pelas suas companhias, os tornaram suportáveis e alegres, com brincadeiras e confraternizações, proporcionando que o caminho que à primeira vista parecia tortuoso, tornar-se prazeroso. E também às minhas parceiras de laboratório, Fabelina Karollyne e Ila Monize, estas que tornaram minha vida mais fácil, a vocês agradeço imensamente.

À minha namorada, companheira de todas as horas, Leiciane Leal, pelo carinho, amor e afetividade em toda essa jornada, fazendo que eu tivesse paciência nos momentos mais adversos, nunca me deixando desacreditar que a vitória estivesse cada vez mais perto, que tudo há seu tempo, e que para tudo o seu momento certo de acontecer. Obrigado por fazer parte de minha vida.

A todos os mestres pelos ensinamentos repassados, por me proporcionarem o conhecimento, não apenas racional, mas a manifestação do caráter e afetividade da educação, por tanto que se dedicaram a mim, não somente por terem me ensinado, mas por terem me feito aprender.

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para essa conquista. Por fim, como se expressaria Mazaropi em seu personagem, o Jeca Tatu, em muitos momentos dessa longa e feliz jornada: **"Fé em Deus e pé na tábua!"**.

Eis o meu segredo: só se vê bem com o coração.
O essencial é invisível aos olhos.
Os homens esqueceram essa verdade,
mas tu não a deves esquecer.
Tu te tornas eternamente responsável
por aquilo que cativas.

Antoine de Saint-Exupéry

RESUMO

Objetivou-se nesse trabalho avaliar a toxicidade aguda em nível celular de sucos industrializados prontos para consumo, de Laranja e Uva, de cinco companhias de expressiva influência no mercado de alimentos brasileiro. Esta avaliação se deu por meio das células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* L., nos tempos de exposição 24 e 48 horas, diretamente nos preparados líquidos comercializados. Com base nos resultados obtidos verificou-se que os sucos de frutas, de todas as empresas consideradas, promoveram expressivo efeito antiproliferativo aos meristemas de raízes logo no menor tempo de exposição, e ocasionaram, nos dois tempos de análise estipulados, número estatisticamente significativo de alterações de fuso mitótico e quebras cromossômicas. Portanto, nas condições de estudo estabelecidas, todas as amostras de sucos analisadas foram citotóxicas, genotóxicas e mutagênicas. Estes resultados são importantes porque indicam que tais alimentos têm relevante potencial em causar distúrbios celulares, e dessa forma necessitam ser avaliados mais detalhadamente em sistemas testes mais complexo, como aqueles em roedores, para então estabelecer com especificidade a toxicidade em nível celular desses sucos e assegurar o bem estar daqueles que os consomem.

PALAVRAS-CHAVE: Sucos industrializados. Citotoxicidade. Genotoxicidade. Mutagenicidade. Tecido meristemático.

ABSTRACT

This work aimed to evaluate the acute toxicity at the cellular level of industrialized juices ready for consumption, Orange and Grape, five significant influence companies in the Brazilian food market. This review was through the meristem cells of roots of *Allium cepa* L., the exposure times 24 and 48 hours, directly marketed in liquid preparations. Based on the results it was found that fruit juices, all companies considered, promoted significant antiproliferative effect to root meristems have the exposure time 24 hours and resulted in the two stipulated analysis times, statistically significant number of mitotic spindle changes and chromosomal breaks. Therefore, the established study conditions, all samples analyzed juices were cytotoxic, genotoxic and mutagenic. These results are important because they indicate that such foods have important potential cause cellular disorders and, thus, need to be evaluated more fully in systems tests more complex, as those in rodents, and then establish specific toxicity in cell level of these juices and ensure the well being of those who consume them.

KEY WORDS: Industrialized juices. Cytotoxicity. Genotoxicity. Mutagenicity. Intense cell proliferation tissue.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01 – Sucos prontos utilizados.....	22
Figura 02 – Bulbos de <i>Allium cepa</i> L. em frascos com sua respectiva solução.....	23
Figura 03 – Raízes de <i>Allium cepa</i> L. em frascos, fixadas em solução Carnoy.....	24
Figura 04 – Principais fases da divisão mitótica.....	25
Figura 05 – Principais alterações encontradas nos tratamentos feitos com sucos prontos..	25

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 - Número de células observadas em cada fase do ciclo celular de tecido meristemático de raízes de *Allium cepa* L. tratadas com sucos industrializados prontos para consumo de Laranja e Uva, oriundo das companhias alimentícias A, B, C, D e E, nos tempos de exposição 24 e 48 horas.....26

Tabela 02 – Alterações celulares observadas em células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* L. tratadas com água e com os sucos industrializados prontos para beber, de Laranja e Uva, das companhias alimentícias A, B, C, D e E, nos tempos de exposição de 24 e 48 horas.....28

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
3.1 OBTENÇÃO DOS SUCOS INDUSTRIALIZADOS PRONTOS PARA CONSUMO	22
3.2 OBTENÇÃO DE CÉLULAS MERISTEMÁTICAS DE RAÍZES DE <i>A. cepa</i> PARA ANÁLISE CITOGENÉTICA.....	23
3.3 PREPARO E LEITURA DAS LÂMINAS.....	24
3.4 ANÁLISE DOS DADOS.....	24
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
5. CONCLUSÃO.....	31
REFERÊNCIAS.....	32

1. INTRODUÇÃO

Em virtude do acelerado ritmo de vida da população, a elaboração manual de sucos de frutas tornou-se um inconveniente ao cotidiano. Assim, o consumo de sucos industrializados triplicou nos últimos vinte anos, condição que fortaleceu a fixação de várias marcas comerciais no mercado nacional de sucos de frutas industrializados prontos para consumo (BIRAL *et al.*, 2013; LONGO-SILVA *et al.*, 2015). Além da praticidade em consumi-los, os sucos prontos apresentam excelentes propriedades sensoriais, como cor, odor e sabor atrativos, estando disponíveis em vários sabores de frutas e são comercializados em embalagens compactas, o que facilita sua estocagem (FERRAREZI *et al.*, 2010).

No entanto, para a obtenção das características organolépticas oferecidas atualmente, a composição destes alimentos sofreu diversas alterações ao longo de quase duas décadas, dentre as quais a incorporação de classes de aditivos ou microingredientes alimentares sintéticos de ações acidulantes, antioxidantes, aromatizantes, corantes, antieméticos, reguladores de acidez, espumantes e edulcorantes (FERRAREZI *et al.*, 2010; LONGO-SILVA *et al.*, 2015). Tais modificações foram autorizadas e normatizadas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e pela Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA) por meio da Portaria Nº 544, de 16 de novembro de 1998 que aprova os regulamentos técnicos para a fixação de padrões de identidade e qualidade de sucos e refrescos industrializados comercializados na forma líquida (BRASIL, 2000; FERRAREZI *et al.*, 2010).

Contudo, há estudos que relacionam os microingredientes a efeitos prejudiciais à saúde de quem os consomem, com destaque ao público infantil. Entre as consequências descritas estão o desenvolvimento ou potencialização de alergias crônicas e alterações no funcionamento do trato digestório (GOMES *et al.*, 2013; OLIVEIRA *et al.*, 2013; MOURA *et al.*, 2016; SALES *et al.*, 2016). Dessa forma, as agências de vigilância alimentar, como a *European Food Safety Authority* (EFSA) e a ANVISA, ressaltam em seus regulamentos técnicos a necessidade constante de estudos citotóxicos de efeito agudo dos aditivos alimentares em geral e, especialmente, dos alimentos industrializados compostos por eles. Destacam também que os resultados obtidos destas análises são a base de elaboração ou modificação de estratégias das agências de segurança alimentar e, conseqüentemente, de atuação dos profissionais responsáveis pela vigilância alimentar e nutricional da população (BRASIL, 2007; MOURA *et al.*, 2016; SALES *et al.*, 2016). Entretanto, em ampla análise a

literatura científica verificou-se que não existem trabalhos de avaliação de toxicidade de sucos industrializados comercializados na forma líquida.

A região meristemática de raízes de *Allium cepa* L. (cebola), é tida no meio científico como um eficiente bioensaio para a avaliação da toxicidade aguda em nível celular de compostos químicos em virtude de apresentarem número cromossômico reduzido ($2n=16$), o que facilita a detecção de alterações cromossômicas e de fuso mitótico (NEVES *et al.*, 2014; BIANCHI *et al.*, 2015). Esse sistema teste é aceito internacionalmente por agências de pesquisa como um instrumento de avaliação de acurada sensibilidade para análise inicial da citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade de substância de interesse, uma vez que, os resultados obtidos por meio dele demonstram similaridade satisfatória aos observados com sistemas testes animais e culturas de células (TÜKOĞLU, 2007; HERRERO *et al.*, 2011; TABREZ *et al.*, 2011; GOMES *et al.*, 2013; OLIVEIRA *et al.*, 2013; CAMPOS; MARIN-MORALES, 2016; LACERDA *et al.*, SALES *et al.*, 2016; MOURA *et al.*, 2016, SANTANA *et al.*, 2016; CAMPUS-PEREIRA *et al.*, 2016).

Conforme descrito por Zilifdar *et al.* (2014) e Valavanidis *et al.* (2013), substâncias citotóxicas, genotóxicas e mutagênicas podem prejudicar mecanismos celulares vitais, como a duplicação e a transcrição gênica, alterando drasticamente o a divisão celular de tecidos por meio da formação de aberrações celulares, como as de fuso mitótico e as quebras cromossômicas, o que pode desencadear e/ou potencializar processos cancerosos. Segundo Zaineddin *et al.* (2012), o desenvolvimento dos tipos mais comuns de câncer resulta da interação entre fatores endógenos e ambientais, sendo o mais notável deles a dieta alimentar, principalmente quando constituída de alimentos industrializados em demasia.

Com base no contexto abordado, objetivou-se nesse trabalho avaliar a citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade de preparados líquidos industrializados prontos para beber, de Laranja e Uva, de cinco companhias alimentícias com relevante atuação no mercado de alimentos no Brasil, através das células meristemáticas de raízes de *A. cepa*. Os sucos de Laranja e Uva foram selecionados para análise com base nos estudos realizados por Ferrarezi *et al.* (2010) e Pontes *et al.* (2010), que os apontam como os mais apreciados pela população brasileira.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

Antigamente, os alimentos eram fabricados e produzidos na mesma região ou regiões próximas àquelas de comercialização. Atualmente, com a união dos mercados em níveis nacionais e internacionais resultantes do desenvolvimento da logística e da globalização, grande parte dos alimentos provenientes de regiões longínquas necessita frequentemente que sejam práticos (BISSACOTTI *et al.*, 2016). Tais fatos, que corroboram com a urbanização e o ritmo acelerado da sociedade moderna, geraram mudanças no hábito alimentar da população, onde esta passou a preocupar-se mais com a praticidade no preparo dos alimentos, gerando preferência pelos que são prontos ou semi prontos para o consumo, o que promoveu o esquecimento dos alimentos *in natura* no momento da compra (AISSA, 2010).

A partir de 1990, surgiram novas formas de comercialização de sucos, fazendo crescer seu consumo no Brasil. O aumento do interesse por este produto se deu pelas mudanças de hábitos de consumos, substituindo bebidas naturais, pelas industrializadas, como refrigerantes e sucos prontos (NETO; FARIA, 2003). Gomes *et al.* (2006) acrescenta que, como opção intermediária, surgiram os sucos prontos para beber, que são pasteurizados e comercializados sob-refrigeração. Estes sucos são submetidos a tratamentos térmicos mais brandos, fazendo com que suas características sensoriais sejam mais próximas às do produto fresco, sendo isto necessário devido à exigência do consumidor em relação ao sabor natural dos sucos cítricos e, geralmente, detectam alterações em sucos submetidos a processamentos térmicos rigorosos, tais como os sucos concentrados e congelados.

A produção de sucos prontos para consumo no Brasil começou de maneira incipiente, recebendo grande impulso, quando fenômenos climáticos adversos geraram forte demanda por suco de laranja brasileiro nos Estados Unidos. A falta do produto no mercado possibilitou ao Brasil assumir papel de liderança na produção de sucos, com pronunciado destaque para os derivados de laranja, de acordo com a Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e de Bebidas não alcoólicas (ABIR, 2005).

Os sucos de frutas são consumidos e apreciados em todo o mundo, não só pelo seu sabor, mas também, por serem fontes naturais de carboidratos, pigmentos, vitaminas, minerais e outros componentes importantes. Fortalece assim, o crescimento do consumo de sucos, sendo uma das opções do consumidor por alimentos saudáveis e funcionais em função do culto à saúde e à boa forma (TEIXEIRA, 2009).

O suco líquido pronto para beber é o principal responsável pela expansão do mercado de sucos líquidos brasileiro nos últimos anos, que vem acompanhando à tendência mundial de consumo de bebidas que oferecem saúde, conveniência, sabor, inovação e prazer (ROSA *et al.*, 2006). Esses sucos devem atender à legislação específica, estando de acordo com definição, classificação, registro, padronização e requisitos de qualidade, devendo também atender à legislação sobre rotulagem de alimentos embalados. A legislação brasileira na área de alimentos é regida pelo Ministério da Saúde, por intermédio da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), sendo fiscalizadas e inspecionadas pelo Serviço de Inspeção Vegetal – (SIV) (BRASIL, 1994; VENTURINI, 2005; FERRAZERI; SANTOS; MONTEIRO, 2010).

O Art. 10º do Decreto nº 2314, de 1997, classifica as bebidas em alcoólicas e não-alcoólicas. Definindo como bebida “todo produto industrializado, destinado à ingestão humana, em estado líquido, sem finalidade medicamentosa ou terapêutica”. Por outro lado, o Art. 5.º da Lei nº 8918, define que “suco ou sumo é bebida não fermentada, não concentrada e não diluída, obtida da fruta madura e sã, ou parte do vegetal de origem, por processamento tecnológico adequado, submetida a tratamento que assegure a sua apresentação e conservação até o momento do consumo” (TEIXEIRA, 2009).

Para a obtenção das características sensoriais oferecidas atualmente, os sucos industrializados, ao longo de duas décadas, passaram por diversas alterações em relação a sua formulação química original, entre elas, a adição de várias classes de aditivos alimentares ou microingredientes, como acidulantes, antioxidantes, aromatizantes, corantes, antieméticos, reguladores de acidez, espumantes e edulcorantes (LONGO-SILVA *et al.*, 2015). A presença de aditivos alimentares na composição dessas bebidas artificiais, segundo recomendações da Organização Mundial de Saúde – (OMS) e a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), não deve ser utilizada internacionalmente em produtos destinados a crianças menores de um ano (WHO, 2007; FAO, 2013).

O avanço da indústria química trouxe vários benefícios à indústria alimentícia, passando a utilizar um grande número de aditivos nos alimentos para melhorar as suas condições de armazenamento, aroma, sabor e conservação (REZENDE *et al.*, 2008). Segundo Honorato *et al.* (2013), os aditivos alimentares são todos ou qualquer ingredientes adicionados a algum alimento, sem o intuito de nutrir, com o objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais (como aroma, cor, sabor e odor) durante a fabricação, processamento, tratamento, embalagem, acondicionamento, armazenagem, transporte ou manipulação do alimento.

O uso de aditivos nos alimentos não é algo recente e nem somente exclusivo dos avanços tecnológicos da indústria alimentícia. Os nossos antepassados já disponibilizavam de métodos de conservação e de realçar o sabor dos alimentos, como pelo uso do sal para preservar carnes e peixes, adicionavam ervas e especiarias para dar sabor às comidas, conservavam frutas com açúcar e utilizavam a salmoura para diversas hortaliças. Os aditivos alimentares exercem um papel importante na produção de alimentos, seja para sua conservação e/ou melhorar suas características organolépticas e sápidas e manter e/ou aumentar seu valor nutricional (TONETTO *et al.*, 2008). É real o importante papel que os aditivos alimentares desempenham no desenvolvimento de alimentos, porém o uso deles é um tema que vem despertando a preocupação dos consumidores, que estão se tornando cada vez mais cautelosos sobre a segurança alimentar nos últimos anos, levando em questão que entre os vários itens relacionados à segurança alimentar, o uso de aditivos está entre os mais discutíveis (VARELA; FISZMAN, 2013). Segundo Albuquerque *et al.*, (2012) nos rótulos dos produtos são indicados quais os aditivos alimentares presentes, mas não cita informação dos seus efeitos na saúde humana, não possibilitando ao consumidor escolher alternativas mais saudáveis.

Os aditivos alimentares são definidos pela *Food and Agriculture Organization/World Health Organization* (FAO/WHO) e Portaria nº 540 - SVS/MS de 27 de outubro de 1997 publicada pela ANVISA como sendo: “toda substância que não apresenta valor nutritivo, adicionada ao alimento com a finalidade de impedir alterações, manter, conferir ou intensificar seu aroma, cor e sabor, modificar ou manter seu estado físico geral, ou exercer qualquer ação exigida para uma boa tecnologia de fabricação do alimento”. Nessa definição não inclui os contaminantes ou substâncias nutritivas que sejam incorporadas ao alimento para manter ou melhorar suas propriedades nutricionais (ANTUNES; ARAÚJO, 2000; BRASIL, 2007).

Dall’agnol *et al.* (2013) menciona que as mudanças no hábito alimentar das pessoas, ao longo do tempo, passou a atrair a atenção de especialistas que passaram a se preocupar mais com o que é ingerido, sobretudo a partir dessas tecnologias aplicadas na indústria alimentícia, o que vêm suscitando questionamentos acerca da segurança de quem os consomem.

De acordo com Lima (2013), é notável a necessidade de que cada país verifique periodicamente a quantidade do consumo total de aditivos, para certificar-se que a ingestão total do aditivo adicionado intencionalmente não ultrapasse as recomendações de ingestão diária aceitável, pois os aditivos alimentares podem trazer malefícios à saúde, no modo que

não são totalmente inofensivos, pois sob uma visão toxicológica têm sido realizados vários estudos em busca de investigar os efeitos maléficos que os aditivos podem acarretar ao homem.

As pessoas têm apresentado altos índices de doenças crônicas (não transmissíveis), como a obesidade, doenças circulatórias, cardiovasculares, entre outras. Esse fato tem gerado questionamentos quanto à segurança do emprego de aditivos em produtos alimentícios (SIMAO, 2010). Soares *et al.* (2006) assegura que a adição de aditivos aos alimentos é uma questão polêmica mundialmente, pelo fato de não ser fácil pelo ponto de vista toxicológico, garantir a segurança do uso desses aditivos, uma vez que determinadas substâncias podem ter comportamentos totalmente diferentes, por conta das quantidades ingeridas. Por isso, o conceito do que é nocivo à saúde, passa necessariamente, pela avaliação das quantidades ingeridas durante certo período, chegando até a estimativa durante o período total de vida.

O uso dos aditivos alimentares no âmbito mundial é notificado no controle da IDA (Ingestão Diária Aceitável), desenvolvida pelo *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives* (JECFA). O JECFA, é baseado em dados experimentais, tem a missão de recomendar, ou não, o uso de determinado aditivo. Ao recomendar o uso, o JECFA deve também estabelecer o valor da Ingestão Diária Aceitável (IDA) para cada aditivo. A IDA indica a quantidade de um aditivo para alimentos que pode ser ingerida diariamente, que não apresenta riscos à saúde humana. A regulamentação interna do uso de aditivos para alimentos é feita por órgãos específicos em muitos países. Nos Estados Unidos, o órgão responsável é o *Food and Drug Administration* (FDA). Já no Brasil o órgão que tange especificamente, a elaboração e a publicação da legislação que dispõe sobre o uso de aditivos alimentares é a ANVISA. As substâncias que não constarem da legislação da ANVISA não pode ser utilizado em alimentos (ANTUNES; ARAÚJO, 2000; BRASIL, 2009).

O Comitê de Especialistas *Joint FAO/OMS* sobre Aditivos Alimentares (JECFA) oferece qualidade e segurança alimentar aos produtos lançados ao consumidor, monitorando e avaliando a presença de aditivos alimentares, bem como de contaminantes, substâncias tóxicas e resíduos de medicamentos veterinários (FAO, 2013; BISSACOTTI *et al.*, 2016).

Segundo Marques *et al.* (2015), os aditivos alimentares se tornaram obrigatórios na alimentação em função de, entre outras características, prolongarem a qualidade sensorial e o tempo de prateleira dos alimentos industrializados. Polonio e Peres (2009) relatam ser notável sob o ponto de vista tecnológico, que os aditivos assumam papel importante na produção de alimentos em larga escala. No entanto, é de total importância que haja maior preocupação quanto aos riscos toxicológicos provocados pela ingestão diária dessas substâncias.

Em consonância com Polonio e Peres (2009), Honorato *et al.* (2013) relata também que a utilização de produtos alimentícios que apresentam na sua composição estes aditivos suscita uma série de dúvidas quanto a sua toxicidade em nível sistêmico e celular, e declara ser urgente a realização de pesquisas que avaliem seus potenciais toxicológicos.

Gomes *et al.* (2013) e Oliveira *et al.* (2013) mencionam em suas literaturas a existência de estudos que associam estes compostos a efeitos prejudiciais à saúde de quem os consomem, como o desenvolvimento de alergias, câncer e alterações no funcionamento do trato digestório. Dessa forma, Marques *et al.* (2015) ressalta que, a avaliação toxicológica em nível sistêmico e celular destes aditivos e, especialmente, dos alimentos constituídos por tais compostos, são de extrema importância em função de promoverem a segurança alimentar da população e servirem de base para a elaboração ou modificação de estratégias de segurança alimentar das agências de vigilância alimentar. De acordo com o IBGE (2010), há um crescente consumo de produtos industrializados de alimentos e um decrescente consumo de alimentos caseiros, o que gera um maior consumo de aditivos e uma maior preocupação por pesquisadores da área da Saúde.

A utilização cada vez mais acentuada de produtos como fármacos, agroquímicos, cosméticos, corantes e muitos outros, tem demonstrado aumento nas taxas de metagênese ambiental. Tais agentes mutagênicos invadem a célula e se dirigem ao núcleo causando alterações no material genético, podendo desregular o ciclo celular, fazendo com que a célula se reproduza descontroladamente invadindo tecidos adjacentes, dando início à formação de tumores (RIBEIRO *et al.*, 2003).

De acordo com Valavanidis *et al.* (2013), os organismos vivos estão frequentemente expostos às substâncias citotóxicas e genotóxicas que podem prejudicar mecanismos celulares vitais, como a duplicação e a transcrição gênica, alterando drasticamente o mecanismo de divisão celular do tecido afetado e induzir o aparecimento de aberrações celulares, como as de fuso mitótico e quebras cromossômicas. Dessa forma, segundo Zilifdar *et al.* (2014) e Zaineddin *et al.* (2012), tais compostos têm potencial de desencadear processos cancerosos, onde o desenvolvimento dos tipos mais comuns de câncer resulta da interação entre fatores endógenos e ambientais, sendo o mais notável deles a dieta alimentar, principalmente quando constituída por alimentos industrializados em demasia.

Levando em conta todos os efeitos prejudiciais supracitados, Longo-Silva *et al.* (2015), diz que se deve tentar compreender os fatores que contribuem para a oferta de bebidas artificiais no contexto domiciliar. Além de, serem reflexo dos hábitos alimentares inadequados generalizados entre a população, são marcantes as modificações no perfil de

aquisição e alimentos pelas famílias e no consumo de refeições pré-preparadas, reforçando ainda a influência da publicidade e a confiança depositada em produtos apresentados na mídia e anúncios publicitários, sobretudo decorrente da desinformação sobre os riscos para a saúde e nutrição associados ao consumo precoce e continuado destes 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 (SANSEVERINO; SPRITJER; FACCINI, 2001).

A manifestação dos efeitos tóxicos em organismos só ocorre se o agente tóxico alcançar locais específicos do organismo, em concentrações e tempo suficiente para produzir algum tipo de efeito. Os fatores mais importantes que influenciam a toxicidade em um organismo são as formas de administração, a duração e frequência de exposição, sendo observadas no interior das células, sendo que estas não estão livres de sofrer constantes alterações e mutações (BARROS *et al.*, 2008).

Os estudos citogenéticos de espécies vegetais informam a respeito de possíveis alterações cromossômicas nas plantas devido à presença de agentes mutagênicos na sua composição ou decorrentes do seu metabolismo. O estudo dos mutagênicos em núcleos eucarióticos vem sendo observado através de métodos citológicos. A mutação pode resultar da ação de compostos químicos, ambientais e radioativos e da estabilidade intrínseca dos ácidos nucléicos. Os agentes mutagênicos podem ser detectados, citologicamente pela inibição do ciclo celular, interrupção em metáfases, indução de alterações cromossômicas numéricas e estruturais e de trocas entre cromátides irmãs entre outros (TEIXEIRA, 2009).

Segundo Bagatini *et al.* (2007), além de sua grande utilização nos testes de citotoxicidade/mutagenicidade de plantas medicinais, o sistema teste de *Allium cepa* L. (cebola), pode ser utilizado para o monitoramento da poluição ambiental e avaliação do potencial mutagênico de muitos compostos químicos. Células meristemáticas de raízes de plantas são indicadores apropriados para a detecção de efeitos clastogênicos causados por poluentes do meio ambiente, especialmente para o monitoramento de contaminantes da água e do solo, podendo-se considerar o sistema teste de *A. cepa* L. o mais adequado para detecção de toxicidade/genotoxicidade para avaliação de níveis de poluição ambiental, os quais representam riscos diretos ou indiretos para a população humana.

Os bioensaios vegetais são considerados bastantes sensíveis e simples no monitoramento dos efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos de compostos químicos. Dentre estes, a região meristemáticas de raízes de *A. cepa* L., é tida no meio científico como

um eficiente bioensaio para o *screening* inicial de toxicidade aguda em nível celular. Este organismo de prova possui excelentes propriedades cinéticas de proliferação, cromossomos grandes e em número reduzido ($2n=16$) o que facilita a detecção de alterações cromossômicas e de fuso mitótico, que permite também a verificação de alterações no índice de divisão celular ou mitótico quando exposto a compostos químicos com potencial ação citotóxica (BEZERRA *et al.*, 2016).

O uso do bioindicador *A. cepa* L. para testes de citotoxicidade foi validado por muitos pesquisadores que realizaram de forma conjunta testes em animais *in vivo*, obtendo 18 resultados similares, propiciando informações valiosas para a saúde humana. Através deste teste podem ser observados dois tipos de toxicidade: observação de tumores, e avaliação de crescimento de raízes e raízes torcidas, entre outros são os parâmetros macroscópicos. Os parâmetros microscópicos estão relacionados à caracterização do índice mitótico, na análise na taxa de divisão celular, aberrações cromossômicas, como cromossomos em anel, pontes cromossômicas, cromossomos pegajosos, que ocorrem principalmente nas fases de metáfase e anáfase e a formação de micronúcleos, como indicadores de anormalidade no DNA (VICENTINI *et al.*, 2001; TEIXEIRA, 2009).

Então é percebido, que a avaliação da citotoxicidade, mutagenicidade e genotoxicidade de sucos industrializados, por meio do sistema teste *A. cepa* L., é autêntica e necessária. Levando em conta também que as agências *Codex Alimentarius Commission*, FEMA (KONISHI *et al.*, 2014) e ANVISA (BRASIL, 2009) mencionam em seus arquivos a necessidade constante de estudos toxicológicos de efeito agudo envolvendo os aditivos alimentares em geral, e de ser comumente necessário o aperfeiçoamento das ações de controle sanitário na área de alimentos pretendendo-se sempre o bem estar de quem os utiliza, e também por serem a base de elaboração ou modificação de estratégias de órgãos regulamentadores e de profissionais responsáveis pela vigilância alimentar e nutricional da população. Em consonância, Takahashi *et al.* (2004) diz ainda que, conhecer os componentes físicos, químicos e biológicos que causam alterações gênicas, é necessário para melhor preservar a saúde humana.

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 dezembro de 2015 a março de 2016.

3.1 OBTENÇÃO DOS SUCOS INDUSTRIALIZADOS PRONTOS PARA CONSUMO

Amostras de sucos industrializados prontos para consumo, de Laranja e Uva, referente as empresas *Coca-cola Brain*[®], *Won Nutrition*[®] e *Maratá Sucos do Nordeste Ltda*[®], *Sucos Suvalan*[®] e *Ambev*[®] - referidas adiante como A, B, C, D e E, respectivamente - foram adquiridas em mercado varejista na cidade de Picos, Piauí, Brasil. Teve-se o cuidado de verificar se as amostras estavam dentro do prazo de validade e se suas embalagens estavam intactas (Figura 01). As análises de toxicidade foram realizadas diretamente nas soluções comercializadas.



Figura 01 – Sucos prontos utilizados.
Fonte: Acervo do pesquisador (2016).

3.2 OBTENÇÃO DE CÉLULAS MERISTEMÁTICAS DE RAÍZES DE *A. cepa* PARA A 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 a suas respectivas amostras de sucos (tratamentos), 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 (Figura 02).

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. Após este período, raízes novamente foram coletadas e fixadas (Figura 03). Os tempos de exposição 24 e 48 horas foram escolhidos com o intuito de avaliar a ação dos 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, retiraram-se, três raízes por bulbo. Em todos os tempos de exposição considerados, os frascos com os tratamentos em estudo permaneceram em agitação leve e constante. Tal procedimento foi realizado com o intuito de não permitir a precipitação das soluções.



Figura 02 - Bulbos de *Allium cepa* L. em frascos com sua respectiva solução.
Fonte: Acervo do pesquisador (2016).

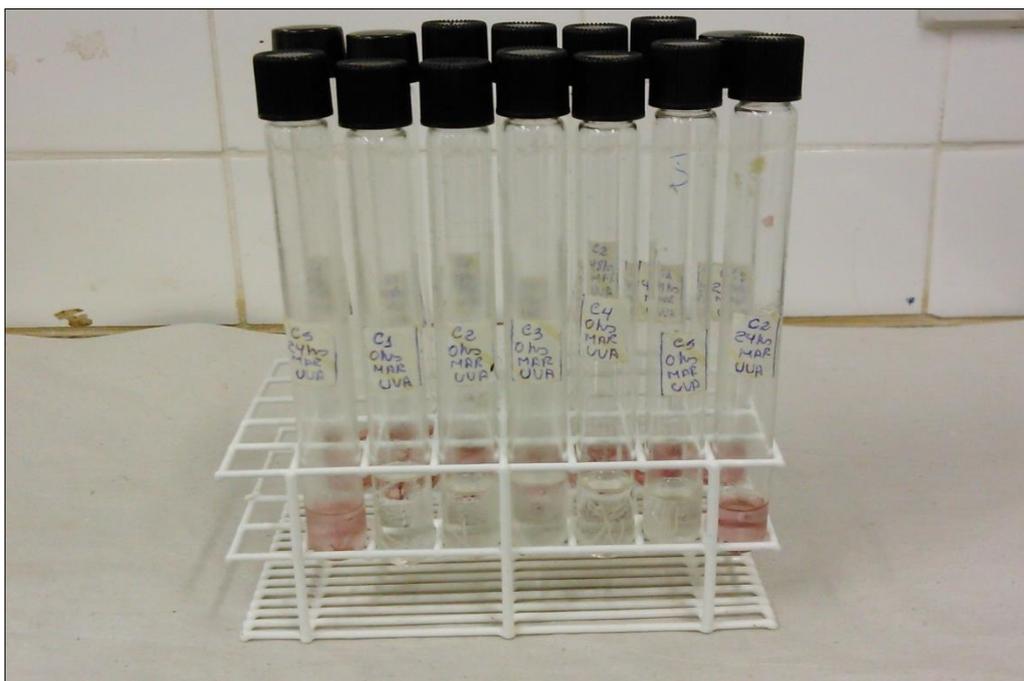


Figura 03 - Raízes de *Allium cepa* L. em frascos, fixadas em solução Carnoy.
Fonte: Acervo do pesquisador (2016).

3.3 PREPARO E LEITURA DAS LÂMINAS

As lâminas, 03 por bulbo, foram feitas seguindo o protocolo proposto por Guerra e 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 cada controle, tempo de exposição 24 e 48 horas de cada grupo tratamento em análise. 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.

3.4 ANÁLISE DOS DADOS

Foram observadas células em intérfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase (Figura 04). 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 amostras de sucos por meio da frequência de micronúcleos, metáfases colchicínicas, pontes anafásicas e telofásicas, ampliações gênicas,

células com aderências, brotos nucleares e anáfases multipolares (Figura 05). Para a análise estatística dos dados utilizou-se o teste do Qui-quadrado (χ^2), com nível de probabilidade <0.05 .

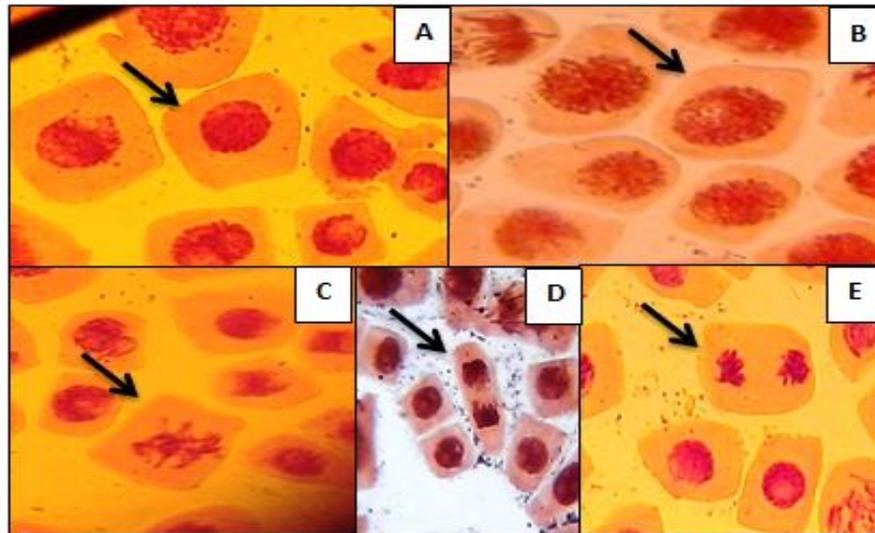


Figura 04 - Principais fases da divisão mitótica

A. Célula em interfase. B. célula em prófase. C. célula em metáfase. D. célula em anáfase. E. célula em telófase
Fonte: Acervo do pesquisador (2016).

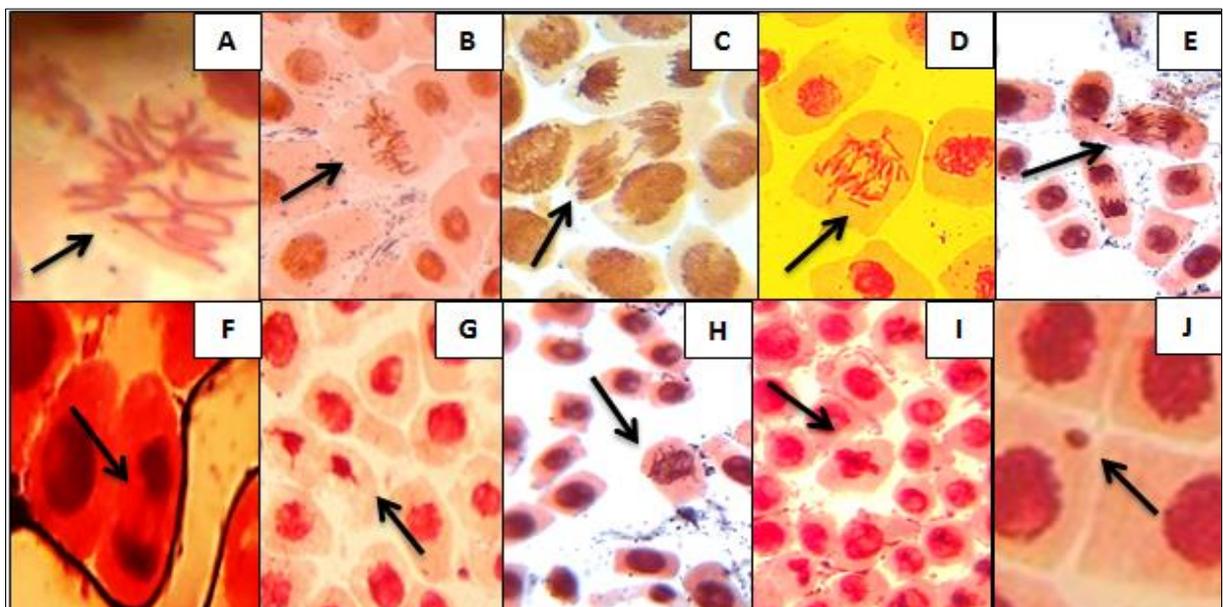


Figura 05 - Principais alterações encontradas nos tratamentos feitos com sucos prontos

A. Metáfase colchicínica. B. Metáfase com quebra cromossômica. C. Ponte anafásica. D. Anáfase colchicínica.
E. Anáfase com atraso cromossômico. F. Ponte Telofásica. G. Telófase com atraso cromossômico. H.
Amplificação gênica. I. Núcleo lobulado. J. . Micronúcleo.

Fonte: Acervo do pesquisador (2016).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base nos resultados descritos na Tabela 01, verifica-se que os sucos de Laranja e Uva referente a empresa A reduziu significativamente o índice de divisão celular no tempo de exposição de 24 h quando comparado ao índice mitótico observado para o seu respectivo controle. Essa condição se acentuou no tempo de exposição 48 h, onde o índice de divisão celular observado foi estatisticamente menor que os observados para seus respectivos controles e tempo de exposição 24 h. Já os preparados líquidos de Laranja e Uva das empresas B, C, D e E causaram expressiva redução da divisão celular no tecido meristemático, nos dois tempos de exposição considerados, em relação aos índices mitóticos observados para seus respectivos controles. No entanto, não foram observadas diferenças significativas de índice de divisão celular entre os seus respectivos tempos de exposição 24 e 48 horas.

Tabela 01 – Número de células observadas em cada fase do ciclo celular de tecido meristemático de raízes de *Allium cepa* L. tratadas com sucos industrializados prontos para consumo de Laranja e Uva, oriundo das companhias alimentícias A, B, C, D e E, nos tempos de exposição 24 e 48 horas.

SUCO INDUSTRIALIZADO DE LARANJA								
Empresa	TE	TCII	P	M	A	T	TCD	IM (%)
A	CO	4136	319	146	267	132	864	17,3 ^a
	24 h	4645	130	84	72	69	355	7,1 ^b
	48 h	4849	56	30	41	24	151	3,0 ^c
B	CO	3971	481	207	179	162	1029	20,6 ^a
	24 h	4744	177	23	18	38	256	5,1 ^b
	48 h	4846	93	29	16	36	174	3,5 ^b
C	CO	4322	232	158	136	152	678	13,6 ^a
	24 h	4806	101	54	12	17	194	3,9 ^b
	48 h	4828	58	52	12	10	172	3,4 ^b
D	CO	4201	251	119	246	183	799	15,9 ^a
	24 h	4745	98	71	50	36	255	5,1 ^b
	48 h	4823	83	34	31	29	177	3,5 ^b
E	CO	4076	302	292	187	143	924	18,4 ^a
	24 h	4633	99	97	82	89	367	7,3 ^b
	48 h	4678	83	79	79	81	322	6,4 ^b

SUCO INDUSTRIALIZADO DE UVA								
Empresa	TE	TCII	P	M	A	T	TCD	IM (%)
A	CO	4282	534	80	43	61	718	14,4 ^a
	24 h	4685	274	12	09	20	315	6,3 ^b
	48 h	4847	96	20	06	31	153	3,1 ^c
B	CO	4298	499	93	47	63	702	14,4 ^a
	24 h	4159	71	21	07	42	141	2,8 ^b
	48 h	2971	71	11	00	47	129	2,6 ^b
C	CO	4422	232	158	136	52	578	11,6 ^a
	24 h	4806	101	54	12	17	194	3,9 ^b
	48 h	4838	78	60	02	22	162	3,2 ^b
D	CO	4305	189	191	117	198	695	13,9 ^a
	24 h	4704	44	57	13	22	196	3,9 ^b
	48 h	4817	89	71	17	06	183	3,7 ^b
E	CO	4399	178	176	176	71	601	12,0 ^a
	24 h	4750	78	86	53	33	250	5,0 ^b
	48 h	4824	69	45	41	21	176	3,5 ^b

A – Coca-cola Brain[®]; B – Won Nutrition[®]; C – Maratá Sucos do Nordeste Ltda[®]; D – Sucos Suvalan[®]; E – Ambev[®]; TCII – Total de células em interfase e indiferenciadas; TE – Tempo de Exposição; CO – Controle; P – Prófase; M – Metáfase; A- Anáfase; T- Telófase; 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 χ^2 .

Estes resultados demonstram que todas as amostras de sucos avaliadas, nas condições de estudos estabelecidas, foram citotóxicas as células meristemáticas de raízes de *Allium cepa*, por terem ocasionado efeito antiproliferativo acentuado aos meristemas de raízes. De acordo com Gomes *et al.* (2013), Marques *et al.* (2015), Moura *et al.* (2016) e Sales *et al.* (2016), a redução do índice mitótico ocasionada por compostos químicos em tecidos sem nenhum tipo de mutação e/ou alteração celular é prejudicial ao organismo em que ocorrem, em razão de não permitir ou limitar a reposição de células, alterar a produção de proteínas e, conseqüentemente, resultar no mal funcionamento do órgão onde está localizado.

Em relação aos resultados apresentados na Tabela 02, os sucos de Laranja e Uva das cinco empresas alimentícias, nos dois tempos de exposição considerados, induziram formação expressiva de alterações de fuso mitótico, representadas no presente estudo pelas metáfases colchicínicas e pontes anafásica e telofásica, mostrando-se genotóxicas, e de quebras cromossômicas, caracterizadas pela formação de micronúcleos.

Tabela 02 – Alterações celulares observadas em células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* L. tratadas com água e com os sucos industrializados prontos para beber, de Laranja e Uva, das companhias alimentícias A, B, C, D e E, nos tempos de exposição de 24 e 48 horas.

SUCOS INDUSTRIALIZADOS DE LARANJA						
Empresa	TE	Metáfase colchicínica	Ponte anáfásica	Ponte telofásica	Micronúcleo	TAC
A	CO	00	00	00	01	01 ^a
	24h	32	11	09	37	89 ^b
	48h	13	17	11	32	73 ^b
B	CO	00	01	00	00	01 ^a
	24h	12	02	03	25	42 ^b
	48h	08	17	07	21	53 ^b
C	CO	00	01	00	00	01 ^a
	24h	09	04	04	32	49 ^b
	48h	02	01	08	30	41 ^b
D	CO	01	00	00	00	01 ^a
	24h	23	17	02	44	86 ^b
	48h	19	19	00	23	71 ^b
E	CO	01	00	00	00	01 ^a
	24h	24	07	03	42	76 ^b
	48h	09	09	11	44	73 ^b

SUCOS INDUSTRIALIZADOS DE UVA						
Empresa	TE	Metáfase colchicínica	Ponte anáfásica	Ponte telofásica	Micronúcleo	TAC
A	CO	01	00	00	00	01 ^a
	24h	19	13	13	32	77 ^b
	48h	17	13	19	22	71 ^b
B	CO	01	00	00	00	01 ^a
	24h	22	09	09	32	72 ^b
	48h	13	13	04	40	70 ^b
C	CO	01	00	00	00	01 ^a
	24h	04	13	09	22	48 ^b
	48h	17	01	09	24	51 ^b
D	CO	01	00	00	00	01 ^a
	24h	23	19	03	24	69 ^b
	48h	11	27	00	29	67 ^b
E	CO	01	00	00	00	01 ^a
	24h	14	09	13	33	69 ^b
	48h	03	19	02	41	65 ^b

A – Coca-cola Brain[®]; B – Won Nutrition[®]; C – Maratá Sucos do Nordeste Ltda[®]; D – Sucos Suvalan[®]; E – Ambev[®]; TE – Tempo de Exposição; CO – Controle; TCA – Total de Alterações Celulares. Valores de TCA seguidos da mesma letra dentro de um mesmo tratamento não diferem significativamente entre si ao nível de 5% pelo teste χ^2 .

Alterações de fuso mitótico quando em frequência significativa causam instabilidade nuclear por induzir lesões cromossômicas estruturais, dando origem a fragmentos acêntricos, que, em consequência, formarão os micronúcleos ao final da divisão celular. A presença significativa de células micronucleadas, como a observada aqui com os sucos prontos, classifica substâncias, compostos ou soluções testadas como mutagênicas (CORCUERA *et al.*, 2015). Tal condição com os preparados líquidos indica que os mesmos devam ser avaliados em sistemas testes animais, uma vez que, de acordo com Queiroz *et al.* (2013), a ocorrência de alterações celulares, apesar de não ser medida de carcinogenicidade, está frequentemente associada ao aparecimento de câncer, já que há correlação positiva entre o aumento de aberrações de fuso mitótico, bem como das células micronucleadas, e a detecção de neoplasias.

Ainda, a frequência de alterações celulares observadas na Tabela 02 corroboram aos resultados de redução da divisão celular obtidos na Tabela 01. Aissa *et al.* (2012) relatam que metáfases com alinhamento incorreto de cromossomos na placa equatorial ou metáfases colchícnicas, assim como, cromossomos em atraso na anáfase e/ou telófase ou pontes anáfasicas e telofásicas, resultam na formação de células com números cromossômicos distintos, bem como com alterações cromossômicas estruturais. Considerando que o princípio do ciclo celular é a formação de células idênticas, a produção de células com discrepantes variações na estrutura e no número cromossômico tendem a ser eliminadas de tecidos com funcionamento normal.

Conforme mencionado anteriormente, não existem na literatura científica, até o momento, trabalhos de avaliação toxicológica em nível celular referentes a sucos industrializados comercializados na forma líquida. Entretanto, são encontrados trabalhos de avaliação de citotoxicidade de alguns dos constituintes químicos das classes de aditivos alimentares presentes na formulação destes alimentos, conforme descrito no documento técnico que regulariza estes preparados líquidos (BRASIL, 2009). Porém, é de grande importância mencionar que a composição química de sucos de frutas industrializados prontos para consumo, como os das cinco empresas aqui avaliados, é permitida e assegurada pela legislação brasileira (BRASIL, 2009; FERRAREZI *et al.*, 2010; PONTES *et al.*, 2010).

Os corantes alimentares artificiais encontrados nos sucos de Laranja prontos para consumo são o Amarelo Crepúsculo e a Tartrazina. Já para os de Uva, um dos corantes utilizados é o Vermelho 40. Os corantes Amarelo Crepúsculo, Tartrazina e Vermelho 40 são classificados como aditivos alimentares azoicos por terem em sua formulação o grupamento azo, um derivado nitroso com a propriedade de produzir amina aromática e ácido sulfanílico

(SARDI *et al.*, 2010). Estes aditivos de cor demonstraram potencial em alterar o *turner-over* das células durante a intérfase e no processo de hiperplasia regenerativa, contribuindo de forma significativa para o desenvolvimento de cânceres do trato digestório em roedores (POLÔNIO; PERES, 2009). Estes três corantes azoicos também foram significativamente citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos nas células meristemáticas de raízes de *A. cepa* L. (GOMES *et al.*, 2013).

Dentre os diluentes presentes nos aditivos de aroma e sabor encontram-se o álcool benzoico e o diacetil (2,3-butadiona), compostos que promoveram alterações significativas ao fuso mitótico e a divisão celular de células de sangue periférico humano (DEMIR *et al.*, 2011) e danos significativos ao loco do cromossomo 11 de roedores, causando perda de expressão de genes essenciais de controle da divisão celular (WHITTAKER *et al.*, 2008), respectivamente. Ademais, More *et al.* (2012) verificaram que o diluente diacetil teve o potencial de substituir bases de timina por guaninas em regiões de eucromatina ocasionando o rompimento de pontes de hidrogênio e de dissulfeto em estrutura terciária de enzimas importantes para a mitose. Entre os conservantes estão o benzoato de potássio, benzoato de sódio, nitrato de potásio, citotóxicos e genotóxicos a células normais de sangue periférico humano (MPOUNTOUKAS *et al.*, 2010; ZEQUIN *et al.*, 2011), ácido bórico, ácido cítrico, citrato de potássio e citrato de sódio, citotóxicos e genotóxicos as células de meristema de raízes de *A. cepa* L. (TÜKOĞLU, 2007).

Em relação aos edulcorantes utilizados nos preparados líquidos prontos para beber encontram-se, o aspartame, ciclamato de sódio, acesulfame de potássio e a sacarina sódica, com exceção dos sucos prontos para consumo da Ambev, que não possuem edulcorantes em sua composição química, segundo o site de apresentação de seus produtos. Van EyK *et al.* (2015), verificaram por meio das linhagens celulares Caco-2 (células de colón), HT-29 (células de cólon) e HEK-293 (células de rim), que estes edulcorantes foram citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos as células estudadas. Corroborando aos resultados destes pesquisadores, Sasaki *et al.* (2002), através do teste do cometa, observaram que o sacarina sódica e o ciclamato de sódio foram genotóxicos e mutagênicos as células de cólon de roedores.

5. CONCLUSÃO

Todas as amostras de sucos analisadas foram citotóxicas, genotóxicas e mutagênicas às células meristemáticas de raízes de *A. cepa*.

Os resultados obtidos neste estudo, aliados aos dados de toxicidade em nível celular de alguns dos aditivos alimentares presentes na formulação básica dos sucos prontos, sinalizam a necessidade de avaliações mais detalhadas, em sistemas testes com maior nível de complexidade, para então estabelecer com segurança a toxicidade em nível celular desses alimentos.

REFERÊNCIAS

ABIR. Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e de Bebidas Não Alcoólicas. **A Indústria de Refrigerantes e de Bebidas não Alcoólicas**, 2005.

AISSA, A. F. Avaliação da atividade antimutagênica do beta-caroteno microencapsulado em células de ratos tratados com o antitumoral doxorubicina empregado os ensaios de micronúcleo e cometa. São Paulo: **Faculdade de ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo**, 2010.

AISSA, A.F., BIANCHI, M.L.P., RIBEIRO, J.C., HERNANDES, L.C., FARIA, A.F., MERCADANTE, A.Z.; ANTUNES, L.M.G. Comparative study of β -carotene and microencapsulated β -carotene: Evaluation of their genotoxic and antigenotoxic effects. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 5, p. 1418-1424, 2012.

ANTUNES, L. M. G.; ARAÚJO, M. C. P. Mutagenicidade e antimutagenicidade dos principais corantes para alimentos. **Rev. Nutr**, v. 13, n. 2, p. 81-88, 2000.

BAGATINI, M. D.; SILVA, A. C. F; TEDESCO, S. B. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Rev Bras Farmacogn**, v. 17, n. 3, p. 444-447, 2007.

BARROS, S. B. M.; DAVINO, S. C.; OGA, S.; CAMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO, J. A. O. Avaliação da toxicidade. **Fundamentos de Toxicologia**. São Paulo: Ed. Atheneu. p.59-70, 2008.

BEZERRA, M. S.; MALAQUIAS G. S.; CASTRO E SOUSA, J. M.; PERON, A. P. Cytotoxic and genotoxic potential of powdered juices. **Food Science and Technology** (Campinas), v. 36, n. 1, p. 49-55, 2016.

BIANCHI, J.; MANTOVANI, M.S.; MARIN-MORALES, M.A. Analysis of the genotoxic potential of low concentrations of Malathion on the *Allium cepa* cells and rat hepatoma tissue culture. **Journal of Environmental Sciences**, v. 36, p.102-111, 2015.

BIRAL, A.M.; TADDEI, J.A.; PASSONI, D.F.; PALMA, D. Dental caries and food practices among children attending daycare centers in the city of São Paulo. **Revista Brasileira de Nutrição**, v. 26, n. 1, p. 37-48, 2013.

BISSACOTTI, A. P.; ANGST, C. A.; DE FREITAS SACCOL, A. L. Implicações dos aditivos químicos na saúde do consumidor. **Disciplinarum Scientia| Saúde**, v. 16, n. 1, p. 43-59, 2016.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de procedimentos para pedidos de inclusão e extensão de uso de aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia de fabricação na legislação brasileira**. Brasília, 2009.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Normativa nº 01, de 7 de janeiro de 2000. Regulamento técnico geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para suco de fruta. **Diário Oficial da União**. Brasil, 10 de janeiro de 2000. Seção 1, p. 2.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Lei nº 8.918, de 14 de Julho de 1994**. Padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas, autoriza a criação da comissão intersetorial de bebidas e dá outras providências. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?>>. Acesso em: 16 de Junho de 2016.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Informe Técnico nº. 26, de 14 de junho de 2007**. Disponível: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/informes/26_140607.htm>. Acesso em: 16 de Maio de 2014.

CAMPOS-VENTURA, B.; MARIN-MORALES, M.A.; DESK, S. Micronuclei and chromosome aberrations derived from the action of Atrazine herbicide in *Allium cepa* meristematic cells. **SDRP Journal of Earth Sciences & Environmental Studies**, v. 1, n. 1, p. s/n, 2016.

CAMPUS-PEREIRA, F. D.; GONÇALVES, L.; HARA, R. V.; MARIN-MORALES, M. A. Action of a polyamine putrescine in genetic material of *Allium cepa*. **Toxicology Letters**, v. 238, n. 2, p. 120-121.

CORCUERA, L.A.; VETTORAZZI, A.; ARBILLAGA, L.; PÉREZ, N.; GIL, A.G.; AZQUETA, A.; DE CERAIN, A. L. Genotoxicity of Aflatoxin B1 and Ochratoxin A after simultaneous application of the in vivo micronucleus and comet assay. **Food and Chemical Toxicology**, v. 76, n. s/n, p. 116-124, 2015.

DALL'AGNOL, R. P.; SANTOS, J. A. B.; MACHADO, G. J. C.; SILVA, R.; SANTOS, A. P. S. A utilização de corantes artificiais em produtos alimentícios no Brasil. **Anais do Simpósio Internacional de Inovação Tecnológica-SIMTEC**, v. 1, n. 1, 2013.

DEMIR, E.; KOCAOGLU, S.; KAYA, R. Assessment genotoxic effects of benzyl derivatives by comet assay. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, p.1239-1242, 2010. Disponível em: <<http://www.abir.org.br>>. Acesso em 02 out. 2006.

FAO, FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. **Food safety and quality**. 2013. Disponível em: <<http://bit.ly/Zi5PNg>>. Acesso em: 11 jun. 2013.

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

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 tatrazine yellow (E-102) on *Allium cepa* L. root meristematic cells. **Food Science and Technology**, v. 33, n. 1, p. 218 – 223, 2013.

GOMES, M. S. Estudo da pasteurização de suco de laranja utilizando ultrafiltração. **UFRGS**. 2006.

GUERRA, M.; SOUZA, M. J. Como observar os cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. Ribeirão Preto, SP: **FUNPEC**, 2002, 304p.

HERRERO, O., MARTÍN, J.P.; FREIRE, P.F.; LÓPEZ, L.C.; PEROPADRE, A.; HAZEN, M.J. Toxicological evaluation of three contaminant of emerging concern by use of *Allium cepa* test. **Mutation Research**, v.743, p. 24-34, 2011.

HONORATO, T. C.; BATISTA, E.; NASCIMENTO, K. O.; PIRES, T. Aditivos alimentares: aplicações e toxicologia. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, 8(5), 01-11, 2013.

IBGE-**Brazilian Institute of Geography and Statistics**. Family Budget Survey 2008-2009. 1st ed. Rio de Janeiro (RJ) Brazil, 2010.

KONISHI, Y.; HAYASHI, S. M.; FUKUSHIMA, S. Regulatory forum opinion piece*: supporting the need for international harmonization of safety assessments for food flavoring substance. **Toxicologic Pathology**, n. 42, n. 6, p. 949 – 953, 2011.

LACERDA, L.P.; MALAQUIAS, G.; PERON, A.P. Antiproliferative action of aqueous extracts of *Hymenaea stigonocarpa* Mart. (Fabaceae) on the cell cycle of *Allium cepa* L. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, n. 3, p. 1147-1150, 2014.

LIMA, G. F. Aditivos alimentares: definições, tecnologia e reações adversas. **Veredas Favip-Revista Eletrônica de Ciências**, v. 4, n. 2, 2013.

LONGO-SILVA, G.; TOLONI, M.H.; MENEZES, R.C.E.; ASAKURA, L.; OLIVEIRA, M. A.A.; TADDEI, J.A.D.A.C. Introdução de refrigerantes e sucos industrializados na dieta de lactentes que frequentam creches públicas. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 33, n. 1, p. 34-41, 2015.

MARQUES, G. S.; SILVA, S. I. O.; SOUSA, J. M. C.; FERREIRA, P. M. P.; PERON, A. P. Cytotoxicity and mutagenic potential of liquid synthetic food flavoring evaluated individually and in association. **Cienc Tecnol Aliment**. 2015; 35: 183-88.

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. **Journal of Agriculture and Food Chemical**, v. 60, p. 3311-3317, 2012.

MOURA, A.G.; SANTANA, G.M.; FERREIRA, P.M.P.; SOUSA, J.M.C.; PERON, A.P. Cytotoxicity of Cheese and Cheddar Cheese food flavorings on *Allium cepa* L root meristems. **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, n. 2, p. 39-443, 2016.

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 and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 10, p. 2934-2944, 2010.

NETO, R. S., FARIA, J. A. F., Alterações químicas e enzimáticas em suco de laranja pasteurizado. **Higiene Alimentar**, 2003, vol.17, nº114/115, p. 60-67.

NEVES, E.S.; FERREIRA, P.M.P.; LIMA, L.H.; PERON, A.P. Action of aqueous extracts of *Phyllanthus niruri* L.(Euphorbiaceae) leaves on meristematic root cells of *Allium cepa* L. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 86, n. 3, p. 1131-1137, 2014.

OLIVEIRA, M.V.A.; 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 Scientiarum. Biological Science**, v. 35, n. 4, p. 557-562, 2013.

POLÔNIO, M.L.T.; PERES, F. Consumo de aditivos alimentares e efeitos a saúde: desafios para a saúde pública brasileira. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 25, n. 8, p. 1653-1666, 2009.

PONTES, P.R.B.; SANTIAGO, S.S.; SZABO, T.N.; TOLEDO, L.P.; GOLLUCKE, A. (2010). Atributos sensoriais e aceitação de sucos de uva comerciais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 2, p. 313-318, 2010.

QUEIROZ, F.M.D.; MATIAS, K.W.D.O.; CUNHA, M.M.F.D.; SCHWARZ, A., 2013. Evaluation of (anti) genotoxic activities of *Phyllanthus niruri* L. in rat bone marrow using the micronucleus test. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 49, n. 1, p. 135-148, 2013.

REZENDE, S.; NASCIMENTO, D.; PIOCHON, E. Educação alimentar: aditivos alimentares encontrados nos sucos consumidos pelos acadêmicos do curso de ciências biológicas de Jataí - GO. In: **Anais dos Congressos de Pedagogia**. Jataí; 2008.

RIBEIRO, L.R.; SALVADORI, D. M. F.; MARQUES, E.K. Teste do micronúcleo em medula óssea de roedores in vivo. **Mutagênese Ambiental**. Editora Ulbra. Canoas: 1º edição, 2003

ROSA, S. E.S.; COSENZA, J. P.; LEAO, L. T. S. Panorama do setor de bebidas no Brasil. **BNDES Setorial**. 2006; 23: 10150.

SALES, I. M. S. **Análise citogenética da toxicidade de aditivos aromatizantes sintéticos artificiais**. Picos: Universidade Federal do Piauí, 2016.

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

SANTANA, G.M.; DEUS, M.S.M.; SOUSA, J.M.C.; FERREIRA, P.M.P.; FERNANDES, H.B.; PERON, A.P. (2016). Antimitotic and antimutagenic action of the *Hymenaea stigonocarpa* bark on dividing cells. **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, n. 2, p. 520 – 525, 2016.

SARDI, M.; HALDEMANN, Y.; NORDMANN, H.; BOTTEX, B.; SAFFORD, B.; SMITH, B.; TENNANT, D.; HOWLETT, J.; JASTI, P.R. Use of retailer fidelity card schemes in the assessment of food additive intake: sunset yellow a case study. **Food Additives and Contaminants**, v. 27, n. 11, p. 1507-1515, 2010.

SASAKI, Y.F.; KAWAGUCHI, S.; KAMAYA, A.; OHSHITA, M.; KABASAWA, K.; IWAMA, K.; TANIGUCHI, K.; TSUDA, S. The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. **Mutation Research**, v. 519, n. 2, v. 1-2, p. 103-119, 2002.

SIMÃO, V. Avaliação da qualidade de alimentos para aves de companhia quanto ingredientes, corantes artificiais, fungos e micotoxinas. **UFSC**, 2010.

SOARES, D. M.; BARBOSA, R. M. N.; PAIVA, J. E. A influência dos contextos aditivos alimentares na aprendizagem de funções inorgânicas. **Higiene alimentar**, v. 20, n. 147, p. 25-29, 2006.

TABREZ, S.; SAHKIL, S.; UROOJ, M.; DAMANHORI, G.A.; ABUZENADAH, A.M.; AHMAD, D. 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**, v. 29, n. 3, p. 250-275, 2011.

TAKAHASHI, C. S.; SALVADORI, D. M. F.; RIBEIRO, L. R. **Teste do micronúcleo em eritrócito de medula óssea de camundongo**. Disponível na Internet em <<http://www.sbmcta.org.br/index.php?arq=doc01>>. Acesso em: 20 de maio de, 2015.

TEIXEIRA, R. M. Uma abordagem do cenário geral de sucos industrializados no contexto da alimentação saudável. **BDM**. 2009.

TONETTO, A.; HUANG, A.; YOKO, J.; GONÇALVES, R. O uso de aditivos de cor e sabor em produtos alimentícios. São Paulo: **Faculdade de ciências farmacêuticas**, 2008.

TÜRKOĞLU Ş. Genotoxicity of five food preservatives tested on root tips of *Allium cepa* L. **Mutation Research**, v. 626, p. 4-14, 2007.

VALAVANIDIS, A.; VLACHOGIANNI, T.; FIOTAKIS, K.; LORIDAS, S. Pulmonary oxidative stress, inflammation and cancer: respirable particulate matter, fibrous dusts and ozone as major causes of lung carcinogenesis through reactive oxygen species mechanisms. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 10, n. 9, p. 3886-3907, 2013.

VAN EYK, A.D. The effect of five artificial sweeteners on Caco-2, HT-29 and HEK-293 cells. **Drug and Chemical Toxicology**, v. 38, n. 3, p. 318-327, 2015.

VARELA, P.; FISZMAN, S. M. Exploring consumers knowledge and perceptions of hydrocolloids used as food additives and ingredients. **Food Hydrocolloids**, v.30, n.1, p.477-484, 2013.

VENTURINI, F; WALDEMAR, G. **Tecnologia de Bebidas: matéria prima, processamento, BPF/APPCC, legislação e mercado**. São Paulo: Edgard Bluncher, 2005.

VICENTINI, V. E. P. et al. *Averrhoa carambola* L., *Syzygium cumini* L. *Skeels* and *Cissus sicyoides* L.: medicinal herbal tea effects on vegetal and test systems. **Acta Scientiarum**, v. 23, p. 593-598, 2001.

WHITTAKER, P.; CLARKE, J.J.; SAN, R.H.; BEGLEY, T.H.; DUNKEL, V.C. 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, n. 8, p. 2928-2933, 2008.

WHO, Food, Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization. Evaluation of certain food additives and contaminants: Sixty-seventh report of Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. [Who Technical Report Series 940]. Geneva: WHO; 2007.

ZAINEDDIN, A.K.; BUCK, K.; VRIELING, A.; HEINZ, J.; FLESCH-JANYS, D.; LINSEISEN, J.; CHANG-CLAUDE, J. The association between dietary lignans, phytoestrogen-rich foods, and fiber intake and postmenopausal breast cancer risk: a German case-control study. **Nutrition and Cancer**, v. 64, n. 5, p. 652-665, 2012.

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 and Chemical Toxicology**, v. 49, n. 4, p. 763-769, 2011.

ZILIFDAR, F.; ALPER-HAYTA, S.; YILMAZ, S.; KAPLAN-ÖZEN, Ç.; FOTO, E.; AYDOĞAN, Z.; YILDIZ, I.; AKI, E.; YALÇIN, I.; DIRIL, N. Genotoxic potentials and eukaryotic DNA topoisomerase I inhibitory effects of some benzoxazine derivatives. **Medicinal Chemistry Research**, v. 23, n. 1, p. 480-486, 2014.



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

Identificação do Tipo de Documento

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

Eu, Erick Beal da Silva,
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
Sucos de frutas industrializados pronto para consumo:
screening da toxicidade aguda em nível celular
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 06 de outubro de 2016.

Erick Beal da Silva

Assinatura

Erick Beal da Silva

Assinatura