



UNIVERSIDADE FEDERAL DOPIAUI - UFPI  
CAMPUS SENADOR HELVÍDIO NUNES DE BARROS - CSHNB  
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

JUCILENE MARIA DA SILVA

**CITOTOXICIDADE E GENOTOXICIDADE DE MICROINGREDIENTES  
AROMATIZANTES SINTÉTICOS, IDÊNTICOS AO NATURAL, DE UVA, AMEIXA  
E LARANJA**

PICOS – PI

2016

JUCILENE MARIA DA SILVA

**CITOTOXICIDADE E GENOTOXICIDADE DE MICROINGREDIENTES  
AROMATIZANTES SINTÉTICOS, IDÊNTICOS AO NATURAL, DE UVA, AMEIXA  
E LARANJA**

Monografia submetida à Universidade Federal do Piauí, Campus Senador Helvídio Nunes de Barros, como parte dos requisitos para obtenção do título de licenciada em Ciências Biológicas.

Picos- PI

2016

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

**S586c** Silva, Jucilene Maria da.

Citotoxicidade e genotoxicidade de microingredientes aromatizantes sintéticos, idênticos ao natural, de uva, ameixa e laranja./Jucilene Maria da Silva. – 2016.

CD-ROM : 4 ¾ pol. (30f.)

Trabalho de Conclusão de Curso(Licenciatura em Ciências Biológicas)  
– Universidade Federal do Piauí.

Orientador (a): Prof<sup>a</sup>. Dra. Ana Paula Peron.

1. Aromatizantes Alimentares. 2. Toxicidade. 3. Aberrações Celulares. I. Título.

**CDD 581.4**

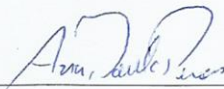
JUCILENE MARIA DA SILVA

**CITOTOXICIDADE E GENOTOXICIDADE DE MICROINGREDIENTES  
AROMATIZANTES SINTÉTICOS, IDÊNTICOS AO NATURAL, DE UVA, AMEIXA E  
LARANJA**

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 08 / 03 / 2016

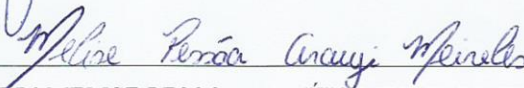
BANCA EXAMINADORA



PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. ANA PAULA PERON (ORIENTADORA)  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – UFPI



PROF.DR. JOÃO MARCELO DE CASTRO E SOUSA (EXAMINADOR)  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – UFPI



PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup> MELISE PESSOA ARAÚJO MEIRELES (EXAMINADORA)  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – UFPI

Aos meus pais que não mediram esforços para colocar a mim e meus irmãos onde estamos hoje.

DEDICO

## AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado a oportunidade de viver algo que eu jamais imaginava: uma formação acadêmica, por toda a força, coragem e determinação para superar todo obstáculo colocado a minha frente. Agradeço também a Nossa Senhora que foi minha intercessora, um exemplo de virtude, doação, pureza, coragem e fé, minha amiga nas horas boas e ruins.

Ao meu Pai Justiniano e minha mãe Joana que foram os pilares que me sustentaram para não cair em meio as dificuldades, quem me educaram com amor e simplicidade, que me ensinaram que o simples é o mais belo, que o pouco conquistado com esforço é o mais valioso. Obrigada por terem sido e continuarem sendo meu suporte, meu porto seguro, para onde eu sempre volto chorando ou sorrindo.

As minhas irmãs Joselane Maria, Heldia Maria e Jorgiane Maria que são minhas amigas, irmãs confidentes que sempre me apoiaram que sempre me deram forças neste projeto de vida acadêmica, ao meu irmão Natanael que sempre me dá suporte, que atura meu mal humor quando estou estudando. Às minhas tias, Maria e Luiza e *in memoria* ao meu avô José Torquato que nos sustentaram financeiramente a mim e meus irmãos, que nos proporcionaram todo apoio financeiro.

A minha orientadora Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Ana Paula Peron, pela paciência, atenção e colaboração para o desenvolvimento deste trabalho, a todos os professores da UFPI que colaboraram para a minha formação, a todos os meus colegas e amigos universitários principalmente Francisca Laís, Maylane Pereira, Cássia Dolores, Márcia que hoje mora fora, Daniela, Janaina, Eduardo.

As meninas que trabalharam comigo, que contribuíram de forma significativa para o desenvolvimento deste trabalho. Aos meus amigos de grupo de oração que sempre oraram por mim, a todos os meus amigos que me encorajaram quando minhas forças já não podiam mais com peso das dificuldades.

**MUITO OBRIGADA!**

## RESUMO

Objetivou-se neste estudo avaliara citotoxicidade e a genotoxicidade dearomatizantes sintéticos idêntico ao natural de Uva, Ameixa e Laranja. Esta avaliação se deu por meio das células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* L., nos tempos de exposição 24 e 48 horas, no qual cada aditivo foi avaliado nas doses de 1,4; 0,7 e 2,8 ml. Após os tratamentos, as raízes foram fixadas, hidrolisadas, coradas e analisadas em microscópio óptico, onde se analisou para cada controle e tempo de exposição um total de 5.000 células. Os dados obtidos foram submetidos ao teste estatístico Qui-quadrado ( $p < 0,05$ ). A partir dos resultados verificou-se que a dose 0,7 ml do aromatizante de Uva, no tempo de exposição 48 h, e as doses 0,7; 1,4 e 2,8 ml dos aditivos de Ameixa e Laranja, nos tempos de exposição 24 e 48 h, inibiram de forma significativa a divisão celular dos tecidos estudados, mostrando-se citotóxicas. Ainda, a dose 0,7 ml de Uva no tempo de exposição 48 h, bem como as doses 0,7; 1,4 e 2,8 ml de Ameixa, nos dois tempos de exposição estabelecidos, causaram aberrações celulares em número significativo aos meristemas de raízes, mostrando-se nas condições analisadas genotóxicas.

**Palavras-chave:** aromatizantes alimentares, toxicidade, divisão celular, aberrações celulares.

-

## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the cytotoxicity and genotoxicity of grape, plum and orange synthetic flavorings, identical to natural. The evaluation was through the root meristem cells of *Allium cepa* L., at exposure times 24 and 48 hours, in which each additive was evaluated at doses of 1.4; 0.7 and 2.8 ml. After the treatments, the roots were fixed, hydrolysed, stained and examined under an optical microscope, under which a total of 5,000 cells were analyzed for each control and exposure time. The data were subjected to the Chi-square test statistical test ( $p < 0.05$ ). The results verified that the dose of 0.7 ml of grape flavoring at the 48 hr exposure time, and the doses 0.7; 1.4 and 2.8 ml of orange and plum additives, at the 24 and 48 hr exposure times, significantly inhibited cell division of the tissues studied, presenting as cytotoxic. Furthermore, the 0.7 ml dose of the grape at the 48 hr exposure time, and the doses 0.7; 1.4 and 2.8 ml of plum, at the two exposure times established, caused cellular aberrations to the root meristems in significant numbers, thus being genotoxic under the conditions analyzed.

Keywords: food flavorings, toxicity, cell division, cell aberrations.



## LISTA DE TABELAS

**Tabela 01** - Número de células observadas para cada fase do ciclo celular em tecido meristemático de raízes de *Allium cepa* tratados com água e com os aromatizantes alimentares sintéticos artificiais sabor Uva, Ameixa e Laranja, nas doses de 1,4; 0,7 e 2,8 ml, nos tempos de exposição de 24 e 48 horas.....21

**Tabela 02** – Número e tipos de aberrações celulares observadas em células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* L. tratadas com água e com aromatizantes alimentares sintéticos sabor,Uva, Ameixa e Laranja, nas doses de 1,4; 0,7 e 2,8 ml, nos tempos de exposição de 24 e 48 horas.....23

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>10</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>13</b>
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>19</b>
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>21</b>
<b>5. CONCLUSÃO.....</b>	<b>26</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>27</b>

## 1.INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas os aditivos ou microingredientes alimentares tornaram-se imprescindíveis para a indústria alimentícia. Dentre eles, os aditivos aromatizantes têm especial importância em razão de conferirem propriedades sensoriais de aroma e sabor aos mais variados tipos de alimentos industrializados (KONISHI et al., 2011; XU et al., 2013).

Na indústria, a formulação das substâncias aromatizantes é classificada como complexa. Tal classificação se dá em virtude de serem constituídas por várias classes de compostos químicos, como diluentes, antioxidantes, antiespumantes, conservantes, emulsificantes, estabilizantes, reguladores de acidez, realçadores de sabor, antieméticos, antiaglutinantes, corantes, e solventes de extração e processamento (BRASIL, 2007; KOCA et al., 2015). Em âmbito mundial, os aditivos de aroma e sabor são normatizados pelas agências *Food and Agriculture Organization* (FAO) e *Flavour and Extract Manufacturer Association* (FEMA) (XU et al., 2014), e no Brasil pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) por meio da Resolução RDC nº 2 de 15 de janeiro de 2007 (BRASIL, 2007). Estes órgãos de vigilância dividem os aromatizantes alimentares em três grupos: naturais; sintéticos idênticos aos naturais e sintéticos artificiais.

Apesar de serem fundamentais para a confecção de alimentos industrializados, os microingredientes aromatizantes são considerados um avanço polêmico do campo da ciência e tecnologia de alimentos por muitos especialistas da área de saúde. Tais profissionais alegam que estes aditivos contribuem de forma significativa para o empobrecimento da dieta e para o desencadeamento ou potencialização de patologias, como distúrbios no funcionamento do trato digestório e reações alérgicas (KONISHI et al., 2011; KOCA et al., 2015; MARQUES et al., 2015).

Além disso, peritos da área de segurança alimentar declaram que os aromatizantes, principalmente os sintéticos, suscitam uma série de dúvidas quanto aos seus potenciais efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos, uma vez que, estudos sobre a toxicidade em nível celular de tais substâncias são praticamente inexistentes na literatura científica (KONISHI et al., 2011; MARQUES et al., 2015; KOCA et al., 2015). Em razão desta carência de informações, os órgãos de vigilância alimentar, até o presente momento, ainda não possuem estabelecidos em documento os índices de Ingestão Diária Aceitável (IDA) para estes aditivos (ZEQUIN et al., 2011; MORE et al., 2012; MARQUES et al., 2015).

Compostos citotóxicos e/ou genotóxicos têm o potencial de alterar mecanismos celulares vitais, como a duplicação e a transcrição gênica, e promover alterações de fuso

mitótico e quebras cromossômicas. Estas alterações podem comprometer significativamente a divisão celular do tecido ou órgão afetado e desencadear e/ou potencializar processos cancerosos (BAGATINI et al., 2007; VALAVANIDIS et al., 2013; ZILIFDAR et al., 2014). De acordo com 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 por alimentos industrializados em demasia. Ainda, Bendino et al. (2012) e Louzada et al. (2015) citam que mais de 40% dos diversos tipos de câncer são iniciados ou potencializados em razão de dietas inadequadas ricas em aditivos alimentares.

É importante citar que na formulação dos aromatizantes alimentares, a única classe de compostos que possui restrição de uso normatizada pelos órgãos de segurança alimentar é a de solventes de extração, onde o ácido agárico, aloina, beta-azorona, berberina, cumarina, ácido cianídrico, hipericina, pulegona, quassina, safrol e isosafrol, santonina e tuyona alfa e beta possuem limites máximos toleráveis discriminados em documento (BRASIL, 1999; BRASIL, 2007). No entanto, na composição dos aromatizantes em geral, 11 são as classes de compostos químicos encontradas, onde cada uma é formada, em média, por 20 compostos químicos, e no qual a maioria não foi avaliada ainda quanto aos seus potenciais citotóxicos e genotóxicos.

As células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* L. (cebola) são eficientes bioensaios para o *screening* inicial de citotoxicidade e genotoxicidade de compostos químicos em função de oferecerem excelentes propriedades cinéticas de proliferação, cromossomos grandes e em número reduzido ( $2n=16$ ) o que facilita a detecção de alterações de fuso mitótico e de quebras cromossômicas (HERRERO et al., 2011; LACERDA et al., 2014). Também proporciona uma verificação de alterações no índice de divisão celular ou mitótico quando exposto a compostos químicos com potencial ação citotóxica (HERRERO et al., 2011; MARQUES et al., 2015). Ainda, o sistema *A. cepa* demonstra, em grande parte das vezes, similaridade satisfatória aos resultados obtidos com outros bioensaios (HERRERO et al., 2011; MARQUES et al., 2015). Como exemplo pode-se citar os trabalhos realizados por Gomes et al. (2013) e Oliveira et al. (2013) que avaliaram em células meristemáticas de raízes de *A. cepa* o potencial tóxico de corantes sintéticos utilizados na indústria de alimentos e observaram resultados semelhantes aos obtidos em sistemas testes animais e com culturas de células.

Com base no contexto abordado, propôs-se no presente estudo avaliar, em meristemas de raízes de *A. cepa*, o potencial citotóxico e genotóxico de aromatizantes alimentares sintéticos idênticos aos naturais de Uva, Ameixa e Laranja, aditivos estes extensivamente utilizados na confecção de balas, gomas, sorvetes, sucos, gelatina e refrigerantes.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

Com o favorecimento do progresso da indústria química sobreveio o uso de aditivos alimentares pela indústria alimentícia para aprimorar as condições de armazenamento e proporcionar uma alimentação segura, visando suprir as perspectivas do mercado consumista (REZENDE; NASCIMENTO; PIOCHON, 2008). Vários fatores como o trabalho da mulher fora de casa, maior praticidade, presteza, resistência, adequada acessão do produto e também a estabilidade econômica vem contribuindo muito para admissão e custeamento de alimentos provindos da indústria nos costumes alimentares de todos os consumidores, desde a menor até a maior idade (AQUINO; PHILIPPI, 2002).

Tecnologicamente, os aditivos alimentares exercem um papel de grande importância para o desenvolvimento de alimentos. No entanto, o uso dos mesmos é uma questão que alerta a preocupação das pessoas que os consomem, deixando-as mais cuidadosas com a segurança alimentar. Dos muitos componentes incluídos à segurança alimentar, os aditivos alimentares ficam entre os mais controversos (VARELA; FISZMAN, 2013). Estes aditivos, embora tenham pouco custo de produção e ofereçam aos alimentos um tempo mais prolongado de validade, se mostram bem polêmicos em relação a sua ação no organismo, e são assinalados como causadores de reações antagônicas (SAYED et al.2012).

Durante séculos os aditivos foram utilizados para realçar o sabor, dar cor e prolongar o prazo de validade dos produtos alimentícios, no entanto no século XX seu uso passou a ser monitorado (RANGAN E BARCELOUX, 2008). A partir daí, o uso de muitos aditivos nos Estados Unidos já foi proibido, por conta de seus possíveis efeitos danosos à saúde (FDA, 2011). Nos primórdios da utilização de aditivos alimentares, estes eram de origem natural, tempos depois os aditivos sintéticos foram gradativamente sendo introduzidos até que sua utilização se tornou predominante (RANDHAWA;BAHNA, 2009).

Diversos estudos apontam reações adversas aos aditivos, tanto na forma crônica como aguda. Pode-se citar como exemplo as reações tóxicas no metabolismo causadoras de alergias, alteração no comportamento e até carcinogenicidade, que é observada em um tempo mais prolongado (POLONIO, 2009). Para definirem os efeitos danosos causados por um aditivo alimentar ou qualquer um dos seus derivados, submete-se este aditivo a testes e avaliações de toxicidade adequada. É necessário que todos os aditivos alimentares sejam analisados e avaliados sempre que necessário para assim observar as mudanças das condições de uso e de quaisquer dados científicos (BAPTISTA, 2003).

Nos Estados Unidos o uso de aditivos alimentares é monitorado pela Food and Drug Administration (FDA) e no Brasil pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). No ano de 1962 foi criado o JECFA (*Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*) que tem como objetivo avaliar o potencial tóxico a mutagenicidade e carcinogenicidade desses aditivos alimentares (ANTUNES; ARAÚJO, 2000). Este comitê (JECFA), baseado em dados experimentais, tem como dever aconselhar ou não o uso de um determinado aditivo e estabelecer a quantidade da Ingestão Diária Aceitável (IDA) para cada aditivo. A Ingestão Diária Aceitável (IDA) recomenda a quantidade certa de um aditivo a ser ingerida diariamente a longo prazo, não vindo esta causar nenhum risco à saúde humana, dentro dos conhecimentos atuais (ANTUNES; ARAÚJO, 2000).

O Comitê do Código Alimentarius da Organização Mundial de Saúde (FAO/OMS) elaborou o Sistema Internacional de Numeração de Aditivos alimentares (INS) estabelecendo um sistema numérico internacional de identificação dos aditivos alimentares nas listas de ingredientes como opção à consignação do nome específico do aditivo. No rótulo do produto o aditivo alimentar deve ser indicado pelo nome ou seu INS sendo diferenciado dos ingredientes (MARCELO et al., 2011). A declaração dos aditivos alimentares nas listas de ingredientes presentes nos rótulos dos produtos deve informar tanto o nome ou número INS quanto a função principal ou fundamental do aditivo no alimento (BRASIL, 2002).

Dentre os diversos tipos de aditivos alimentares pode-se citar os corantes, conservantes, antioxidantes, edulcorantes, acidulantes, espessantes, estabilizantes, umectantes, e aromatizantes.

Os corantes trazem como principal objetivo proporcionar a conservação da cor natural do produto alimentício sendo de essencial importância para que este seja aceito pelo consumidor quando avaliado a primeira vista. Os alimentos coloridos atraem as pessoas antes pela visão, e não pelo paladar. A dialética do consumo desses produtos tem início no olhar: alimentos coloridos, vistosos, atraentes possuem todos os atributos para serem saborosos. Portanto a aparência do produto para que seja aceitável é a maior justificativa para o uso dos corantes (PRADO; GODOY, 2007). Estes estão divididos em duas classes distintas: sintéticos e naturais, disponíveis para o uso em alimentos. Embora os corantes sintéticos apresentem pouco custo de produção e maior firmeza, o número permitido pelos países desenvolvidos está caindo gradativamente a cada ano, sendo estes substituídos por corantes naturais. (CONSTANT; STRINGHETA; SANDI, 2002). Reddy, Alexander-lindo e Nair (2005) afirmam que grande parte dos corantes naturais além de proporcionar cor aos alimentos também possuem propriedades benéficas à saúde.

Diferentemente dos corantes, o grupo dos conservantes alimentares consiste em substâncias que quando acrescentadas a produtos alimentícios impedem ou atrasam as alterações ocasionadas pela ação de bactérias ou outros agentes. Ultimamente a indústria de alimentos vem utilizando cada vez mais conservantes, já que é numerosa a solicitação por alimentos estáveis quimicamente, seguros e com maior prazo de validade (TONETTO et al., 2008). Embora sejam essenciais para a conservação de alimentos, a barreira e política decrescente da utilização de conservantes químicos estão diretamente ligadas ao risco toxicológico que estas substâncias exibem à saúde de quem as consome (FAI; STAMFORD; STAMFORD, 2008).

Um tipo de aditivos que possui funções bem similares com as dos conservantes é o dos antioxidantes, sendo estes considerados compostos que apresentam a capacidade de inibir a deterioração oxidativa. Com isto, a prestação antioxidante – de maneira especial a reação em cadeia de produtos naturais e alimentos – tem se mostrado um fator importante na deliberação do valor dietético do mesmo. Tem aumentado o interesse pela descoberta de antioxidantes modernos e seguros oriundos de fontes naturais, com o objetivo de precaver o detrimento oxidativo de células vivas. Devido à desconfiança de atividades causadoras de carcinogenicidade, o uso de antioxidantes sintéticos tem baixado. Porém o desempenho de antioxidantes sintéticos e seus benefícios para a saúde ultimamente tem chamado atenção dos acadêmicos, sobretudo aqueles retirados de plantas (LIMA et al., 2010).

Outro grupo de aditivos é o dos edulcorantes, conhecidos popularmente como adoçantes sintéticos, sendo considerado um conjunto de compostos que substitui a sacarose. Estes, quando entram em contato com os nossos receptores gustativos, produzem uma sensação que identificamos e chamamos de “doce”. Essas substâncias, por não serem produzidas pelo nosso metabolismo ou por serem utilizadas em pequena quantidade, apresentam uma contribuição calórica insignificante; sendo por isto consideradas não calóricas (CAVALINI, 2005).

Enquanto os edulcorantes atuam como adoçantes alimentares, há um grupo de substâncias adicionadas aos alimentos que possui finalidade de exibir sabores azedos e ácidos. Essas substâncias são chamadas de acidulantes, que além de proporcionar os sabores azedo e ácido participam em um sistema de tamponamento (DAMODARAN et al., 2010). De todos os acidulantes os mais usados em produtos alimentícios são o: ácido cítrico, fosfórico e láctico (TORREZAN et al., 2001). Além de terem seu sabor alterado por adoçantes e acidulantes, os alimentos podem ainda possuir alterações em sua consistência por um tipo de aditivo chamado de espessantes. Estes são compostos que crescem a consistência do alimento sem causar



alteração significativa, além de oferecerem resistência. São elementos que apresentam propriedades hidrossolúveis e hidrofílicas, usados com o propósito de dispersar, consolidar e evitar a sedimentação de substâncias em suspensão (ALVES, 2009).

Segundo Valsechi (2001), os alimentos recebem também aditivos estabilizantes, sendo estas substâncias que atuam evitando a separação de ingredientes em diferentes fases ao longo do tempo, proporcionando uma interação homogênea de ingredientes que normalmente se separariam; como, por exemplo, a água e o óleo. Outro grupo fundamental de aditivos alimentares é o dos umectantes ou surfactantes, apresentando propriedades que retêm ou absorvem água oferecendo um longo prazo de validade aos produtos. Em vista disso, o lacto de sódio vem sendo utilizado no controle e inibição do crescimento de alguns microrganismos durante o tempo de estocagem (FRANCESCHINI et al., 2006).

Além de todos os tipos de aditivos supracitados há ainda um grupo especial, que terá o seu potencial citotóxico avaliado no presente trabalho, o grupo dos aromatizantes. Estes são um tipo de aditivo alimentar que apresenta fundamental importância por exibirem propriedades sensoriais que caracterizam cada sabor e aroma de produtos diversos. O aroma influencia diretamente em mais da metade do gosto de um alimento, e diante de uma elevada variedade de opções e do surgimento de novos produtos alimentícios no mercado são as propriedades que os diferenciam que vão determinar se o produto vai ou não ser aceito pelo consumidor (MELLO et al., 2004).

O Brasil, em termos de mercado de ingredientes e aditivos, fatura anualmente um valor entre 1,5 bilhão a 2 bilhões. Estima-se que cerca de 50% dessa fatura provém do aroma e o restante engloba todos os outros ingredientes e aditivos (GOUVEIA, 2006). Os aromatizantes são utilizados para conferir sabor e aroma aos alimentos industrializados tornando-os mais próximos a produtos de origem natural, aumentando assim as chances de aceitação do consumidor. Identifica-se essa classe de aditivo pela letra F. Eles se classificam em: natural, sintético idêntico ao natural, sintético artificial, de reação ou transformação de fumaça (FERREIRA, 2006).

Segundo a ANVISA (2007) os aromatizantes naturais são aqueles obtidos por extração (processos físicos), ou processos biotecnológicos (microbiológicos ou enzimáticos) através da matéria-prima animal ou vegetal, aceitáveis para o consumo humano com a presença de substâncias odoríferas ou sápidas em estado natural ou após um tratamento adequado. Em contrapartida, os aromatizantes sintéticos são aqueles obtidos por processos químicos e que se agrupam em duas categorias: a dos aromatizantes sintéticos idênticos aos naturais e a dos aromatizantes sintéticos artificiais.

Os aromatizantes sintéticos idênticos aos naturais são compostos de natureza química resultantes de síntese e aqueles isolados por reações químicas a partir de matérias-primas de origem animal, vegetal ou microbiana que exibem uma estrutura química igual aos compostos presentes nas matérias-primas (processadas ou não). Por outro lado, os aromatizantes sintéticos artificiais são substâncias de natureza química resultante de reações de síntese e que não estão presentes ainda em produtos de origem animal, vegetal ou microbiana em estado primário ou habilitados para o consumo humano (ANVISA, 2007).

De acordo com Salinas (2002), aromatizantes artificiais sintéticos são bem mais utilizados nos alimentos, por conterem alto poder aromatizante, baixo custo e constância do aroma. Estes quando aplicados em dose baixa não oferecem risco de toxicidade, porém se aplicados em dose alta podem causar irritações, ações narcóticas, outros podem produzir toxicidade crônica prolongada sempre que empregados em altas doses; já nos aromatizantes naturais não há risco. Todos os aromas apresentam-se bem complexos, onde alguns produtos trazem em sua constituição mais de mil substâncias como a finalidade de apresentar apenas um aroma que o caracterize (CARVALLO et al., 2005). Por serem muitas em apenas um produto e por terem constituição química, segundo Antunes et al. (2000) determinadas substâncias podem apresentar efeitos mutagênicos e/ou tornar favorável o desenvolvimento de tumores enquanto outras podem destacar ou extinguir estes efeitos.

O efeito mutagênico é a decorrência de alterações genéticas causadas por substâncias físicas, químicas e biológicas induzidas por mutações celulares em um organismo (RIBEIRO; SALVADORE; MARQUES, 2003). Segundo Ribeiro e Marques (2003) as mutações são as alterações no DNA causadas por erros na duplicação do material genético ou na divisão celular. Estas, apesar de serem de grande relevância para o processo evolutivo, podem em sua maioria apresentar efeitos prejudiciais, como malformações, desenvolvimento de câncer, envelhecimento e morte (ERDTMANN et al., 2003).

Os efeitos tóxicos manifestam-se em um organismo apenas se o agente causador da toxicidade alcançar lugares específicos do organismo em concentração e tempo suficiente para desenvolver algum tipo de efeito (BARROS et al., 2008). Segundo Polonio e Peres (2009), esses efeitos adversos estão ligados à frequência e à quantidade consumida por peso corporal. Com isso a classe infantil é a mais afetada, pois possuem menor peso e menor tolerância.

Atualmente, recomenda-se que essas substâncias sejam frequentemente submetidas a testes rigorosos para avaliar a sua capacidade carcinogênica e mutagênica uma vez que esses compostos químicos são colocados continuamente à disposição dos consumidores (BAYNES;

DOMINICZAK, 2000, SANSEVERINO; SPRITJER; FACCINI, 2001).Dentre os testes está o de *Allium cepa* que segundo Leme e Marin-Morales (2009) é um teste viável pois este apresenta uma sensibilidade elevada, pouco custo, rapidez e é de fácil manipulação e utilização de amostras sem tratamento prévio. Gomes et al. (2013) e Oliveira et al. (2013) ressaltam que os testes com *Allium cepa* apresentam resultados semelhantes a de outros testes, mostrando-se eficientes parâmetros de análises citotóxicas.

### **3.MATERIAIS E MÉTODOS**

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Citogenética Vegetal e Animal do Campus Senador Helvídio Nunes de Barros da Universidade Federal do Piauí, Município de Picos, Estado do Piauí, no período de janeiro a agosto de 2015.

#### **3.1 Obtenção dos aromas alimentares e definição das doses.**

Para a realização das análises, os microingredientes aromatizantes sabor uva, ameixa e laranja foram obtidos de uma indústria de fabricação de aditivos alimentares localizada na cidade de Recife, Estado de Pernambuco, Brasil, especializada na comercialização nacional e internacional de aditivos alimentares sintéticos. No rótulo dos três aromatizantes sugeriu-se a utilização de 7ml de aromatizante para 1,0 Kg de massa. Os bulbos de cebolas utilizados no experimento pesaram, em média, 200g. Assim, de forma proporcional ao recomendado nos frascos dos aditivos, definiu-se inicialmente para análise a dose de 1,4 ml, e a partir dela estabeleceu-se duas outras, 0,7 e 2,8 ml.

É importante mencionar que, de acordo com o Regulamento Técnico sobre Aromatizantes/Aroma e Sabor aprovado pela ANVISA em 2007 e ainda em vigência, a formulação de qualquer aromatizante alimentar sintético é padronizada mundialmente, sendo de responsabilidade das agências de segurança alimentar a fiscalização de tal composição (BRASIL, 1999; BRASIL, 2007; MARQUES et al., 2015). Ainda, é pertinente informar que após uma extensa busca em sites especializados na venda nacional e internacional de aditivos de aroma e sabor, a dosagem ideal para consumo, recomendada por diferentes fabricantes, foi, quase que por unanimidade, a mesma que a utilizada neste trabalho, de 7 ml de aromatizante de Uva ou Ameixa ou Laranja para 1 kg de massa.

#### **3.2 Obtenção das células meristemáticas de raízes de *A. cepa* e análise citogenética.**

As cebolas foram colocadas para enraizar em frascos com água destilada, à temperatura ambiente ( $\pm 25^{\circ}\text{C}$ ) e aerada, até a obtenção de raízes com cerca de 2,5 cm de comprimento. Para análise de cada dose (solução) estabeleceu-se um grupo experimental com cinco bulbos de cebola.

Antes de se colocar as raízes em contato com as suas respectivas doses, algumas raízes foram coletadas e fixadas para servirem de controle (CO) do próprio bulbo. Em seguida, as raízes restantes foram colocadas em suas respectivas soluções, por 24 horas, procedimento este denominado de tempo de exposição de 24 horas (TE 24h). Após este tempo foram

retiradas algumas raízes e fixadas. Feito este procedimento, as raízes restantes de cada bulbo foram devolvidas as suas respectivas soluções onde permaneceram por mais 24 horas, o que se denominou de tempo de exposição de 48 horas (TE 48h). Após este período, raízes novamente foram coletadas e fixadas. A fixação das raízes se deu em Carnoy 3:1 (etanol: ácido acético), a temperatura ambiente, por 24 h. Para cada coleta de raiz, retirou-se, em média, três raízes por bulbo.

### **3.3 Preparo, leitura das lâminas, e análise estatística.**

As lâminas, em média 03 por bulbo, foram preparadas seguindo o protocolo proposto por Guerra e Souza (2002), e analisadas em microscópio óptico em objetiva de 40x. Para cada cebola analisou-se 1.000 células, totalizando 5.000 células para o controle, tempo de exposição 24h e tempo de exposição 48h de cada grupo tratamento em análise. Foram observadas células em interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase. Calculou-se o número de células em interfase e em divisão de cada controle e tempo de exposição, e em seguida determinado o índice de divisão celular ou índice mitótico. Avaliou-se também a ação das doses por meio do número de células micronucleadas, de metáfases colchícinicas, pontes anáfasicas, pontes telofásicas e metáfases poliplóides.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 01, é apresentado o número de células em interfase e em diferentes fases da divisão celular, e os valores de índice mitóticos obtidos a partir de células dos meristemas de raízes de *A. cepa* tratados com água e com os aromatizantes de Uva, Ameixa e Laranja. Na descrição dos resultados foram apresentados os valores significativos de  $\chi^2$ .

Tabela 01 - Número de células observadas para cada fase do ciclo celular em tecido meristemático de raízes de *Allium cepa* tratados com água e com os aromatizantes alimentares sintéticos de Uva, Ameixa e Laranja, nas doses de 0,7;1,4 e 2,8 ml, nos tempos de exposição de 24 e 48 horas.

AROMATIZANTE DE UVA								
Dose (ml)	TE	TCII	P	M	A	T	TCD	IM (%)
0,7	CO	3320	894	297	294	195	1680	33,6 <sup>a</sup>
	24h	3673	743	198	195	191	1327	26,5 <sup>a</sup>
	48h	4442	162	129	121	146	558	11,2 <sup>b</sup>
1,4	CO	3469	767	233	260	271	1531	30,6 <sup>a</sup>
	24h	4445	178	149	118	110	555	11,1 <sup>b</sup>
	48h	4539	126	113	114	108	461	9,2 <sup>b</sup>
2,8	CO	3605	753	322	167	153	1395	27,9 <sup>a</sup>
	24h	4364	265	91	92	98	546	10,9 <sup>b</sup>
	48h	4520	238	87	79	76	480	9,6 <sup>b</sup>
AROMATIZANTE DE AMEIXA								
Dose (ml)	TE	TCII	P	M	A	T	TCD	IM (%)
0,7	CO	3992	518	135	183	172	1008	20,2 <sup>a</sup>
	24h	4486	181	126	161	46	514	10,3 <sup>b</sup>
	48h	4832	79	39	38	12	168	3,4 <sup>c</sup>
1,4	CO	4040	447	193	178	142	960	19,2 <sup>a</sup>
	24h	4668	143	113	47	29	332	6,7 <sup>b</sup>
	48h	4775	81	67	33	44	225	4,5 <sup>b</sup>
2,8	CO	4027	529	200	152	92	973	19,5 <sup>a</sup>
	24h	4659	178	97	34	32	341	6,8 <sup>b</sup>

48h		4731	143	73	24	29	269	5,4 <sup>b</sup>
AROMATIZANTE DE LARANJA								
Doses associadas (ml)	TE	TCII	P	M	A	T	TCD	IM (%)
0,7	CO	4255	241	194	162	148	745	14,9 <sup>a</sup>
	24h	4859	60	26	34	21	141	2,8 <sup>b</sup>
	48h	4849	55	33	47	16	151	3,2 <sup>b</sup>
1,4	CO	4324	207	143	192	134	676	13,5 <sup>a</sup>
	24h	4778	94	34	49	45	222	4,4 <sup>b</sup>
	48h	4897	47	20	24	12	103	2,1 <sup>b</sup>
2,8	CO	4532	219	121	113	115	568	11,4 <sup>a</sup>
	24h	4789	63	61	38	49	211	4,2 <sup>b</sup>
	48h	4871	57	23	21	28	129	2,6 <sup>b</sup>

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

A partir dos resultados apresentados na Tabela 01, verificou-se que o índice mitótico referente a dose 0,7 ml, no tempo de exposição 24 h, não foi significativo quando comparado com o índice de divisão celular observado para o seu respectivo controle. No entanto, o índice de divisão celular para o tempo de exposição 48 h desta mesma dose foi estatisticamente menor que os índices mitóticos observados para os seus respectivos controle e tempo de exposição 24 h.

Em relação as doses de 1,4 e 2,8 ml do aditivo de Uva (Tabela 01) foi observado que os índices de divisão celular referentes aos tempos de exposição 24 e 48 h foram significativamente menores que os obtidos para os seus específicos controles. Ainda, para estas duas doses, quando comparado os índices mitóticos do tempo de exposição 24 h com os índices de divisão celular dos seus específicos tempos de exposição 48 h constatou-se que não diferiram estatisticamente entre si.

Para os aromatizantes de Ameixa e Laranja (Tabela 01) observou-se que, para as três doses avaliadas, 0,7; 1,4 e 2,8 ml, os índices mitóticos obtidos para os dois tempos de exposição considerados foram significativamente menores que os índices de divisão celular obtidos para os seus respectivos controles. Porém, quando confrontados o índice de divisão celular referente ao tempo de exposição 24 h destas três doses com os seus específicos índices

mitóticos para o tempo de exposição 48 h, verificou-se que não foram significativamente diferentes entre si. Assim, a partir dos resultados apresentados na Tabela 01 que a dose 0,7 ml de Uva no tempo de exposição 48 h, e as doses 0,7; 1,4 e 2,8 ml de Ameixa e Laranja nos tempos de exposição 24 e 48 h foram citotóxicas as células meristemáticas de raízes de *A. cepa*.

Na Tabela 2, são apresentados o número e os tipos de aberrações celulares encontrados em células meristemáticas de raízes de *A. cepa* tratadas com água e com os aromatizantes alimentares sintéticos de Uva, Ameixa e Laranja nos tempos de exposição 24 e 48 horas e nas doses de 0,7, 1,4 ou 2,8 ml. Na descrição dos resultados foram apresentados os valores significativos de  $\chi^2$ .

Tabela 02 – Número e tipos de aberrações celulares observadas em células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* tratadas com água e com os aromatizantes de Uva e Ameixa, nas doses de 0,7; 1,4 e 2,8 ml, nos tempos de exposição 24 e 48 horas.

AROMATIZANTE DE UVA							
Dose (ml)	TE	Metáfase colchicínica	Ponte anáfásica	Ponte telofásica	Micronúcleo	Célula binucleada	TAC
0,7	CO	00	00	01	00	00	01 <sup>a</sup>
	24h	01	00	00	00	00	01 <sup>a</sup>
	48h	22	49	13	89	00	173 <sup>b</sup>
1,4	CO	00	00	01	00	00	01 <sup>a</sup>
	24h	09	72	22	111	03	217 <sup>b</sup>
	48h	00	37	59	98	01	195 <sup>b</sup>
2,8	CO	00	01	00	00	00	01 <sup>a</sup>
	24h	00	28	33	171	02	234 <sup>b</sup>
	48h	18	20	49	108	00	197 <sup>b</sup>
AROMATIZANTE DE AMEIXA							
Dose (ml)	TE	Metáfase colchicínica	Ponte anáfásica	Ponte telofásica	Micronúcleo	Célula binucleada	TAC
0,7	CO	01	00	00	00	00	01 <sup>a</sup>
	24h	07	11	08	47	09	73 <sup>b</sup>



	48h	04	13	09	35	00	61 <sup>c</sup>
	CO	00	01	00	00	00	01 <sup>a</sup>
1,4	24h	09	13	13	59	00	94 <sup>b</sup>
	48h	09	17	09	62	00	97 <sup>b</sup>
	CO	01	00	00	00	00	01 <sup>a</sup>
2,8	24h	13	18	07	55	00	93 <sup>b</sup>
	48h	05	27	17	39	01	88 <sup>b</sup>

TE – Tempo de Exposição; CO – Controle; TAC – Total de Alterações Celulares. Dentro de um mesmo tratamento, valores de TAC seguidos da mesma letra não diferem significativamente ao nível de 5% pelo teste  $\chi^2$ .

Os resultados apresentados na Tabela 02 mostram que a dose 0,7 ml do aromatizante de Uva, no tempo de exposição 24 h, não promoveu danos em número relevante as células dos meristemas analisados. Entretanto, esta mesma dose no tempo de exposição 48 h promoveu alterações em número significativo as células estudadas quando confrontada com a quantidade de alterações observadas para os seus específicos controle e tempo de exposição 24 h.

As três doses avaliadas do aromatizante de Ameixa, nos tempos de exposição 24 e 48 h, induziram número significativo de alterações de fuso mitótico e micronúcleos as células das raízes estudadas. Portanto, para a tabela 02 conclui-se que a dose 0,7 ml de Uva, no maior tempo de exposição considerado, e as doses 0,7; 1,4 e 2,8 ml de Ameixa, nos dois tempos de exposição, foram genotóxicas as células do organismo teste utilizado.

Convém ressaltar que este foi o primeiro estudo a avaliar e demonstrar toxicidade em nível celular para as soluções aromatizantes de Uva, Ameixa e Laranja, substâncias estas comercializadas livremente no mercado varejista. Outro ponto importante observado foi que para os três aditivos estudados, a dose 1,4 ml, proporcional a dose recomendada para uso pelos fabricantes, ocasionou toxicidade as células meristemáticas de raízes de *Aliium cepa*. Ainda, o potencial tóxico para os três aromatizantes foi evidenciado logo na menor dose avaliada, a de 0,7 ml.

Apesar de serem escassos os estudos sobre a toxicidade em nível celular de microingredientes aromatizantes, são encontrados na literatura científica trabalhos que demonstraram citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade de alguns dos constituintes químicos com ações diluente e conservante que fazem parte, de acordo com Resolução RDC nº 2 de 15 de janeiro de 2007 (BRASIL, 2007), da formulação dos aditivos de aroma e sabor em geral. Entre estes constituintes químicos está o álcool benzoico, compostos responsável por manter a uniformidade e facilitar a incorporação e dispersão dos aromas nos produtos

alimentícios. Em análise a ação em nível celular deste diluente, Demir et al. (2010) verificaram que este álcool promoveu danos significativos ao fuso mitótico, e, conseqüentemente, a divisão celular de células de sangue periférico humano.

Outro diluente encontrado na formulação dos aromatizantes é o diacetil (2,3-butadiona). Whittaker et al. (2008) citam que este composto em ensaio de mutação gênica em linfoma de ratos causou danos significativos ao loci do cromossomo 11 destas células, causando perda de expressão dos genes para enzima timidina-quinase. Ainda, More et al. (2012) verificaram que o diluente diacetil teve o potencial de substituir bases de timina por guaninas em regiões de eucromatina e ocasionar o rompimento de pontes de hidrogênio e de dissulfeto em estrutura terciária de enzimas envolvidas no processo de divisão celular.

Já entre os constituintes químicos responsáveis em retardar a ação de microrganismos, enzimas e agentes físicos nas soluções de aroma e sabor, estão o benzoato de potássio, benzoato de sódio e nitrato de potásio (Brasil, 1999), agentes conservantes que, segundo Mpountoukas et al. (2010) e Zequin et al. (2011), foram citotóxicos e genotóxicos às células normais de sangue periférico humano. Na composição dos aromatizantes alimentares também são encontrados os compostos conservantes ácido bórico, ácido cítrico, citrato de potássio e citrato de sódio (Brasil, 1999) que, de acordo Tükoğlu (2007), acarretaram redução significativa ao índice de divisão celular de células de meristemas de raízes de *A. cepa*, mostrando-se citotóxicos.

## 5. CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos neste trabalho constatou-se que a dose 0,7 do aroma de uva no tempo de exposição 48 horas e as três doses 0,7; 1,4 e 2,8 ml dos aromas sabor ameixa e laranja nos dois tempos de exposição 24 e 48h mostraram-se citotóxicas e que as doses 0,7 de uva e 0,7; 1,8 e 2,8ml de ameixa foram genotóxicas as células meristemáticas de *allium cepa*.

Portanto com base nessa e outras pesquisas já realizadas de avaliação da toxicidade em nível celular sobre compostos presentes na formulação dos aromatizantes alimentares, verifica-se que embora a utilização dos aromatizantes alimentares seja permitida pela EFSA, FEMA e ANVISA, há urgente necessidade de estudos mais detalhados, a médio e longo prazo, em diferentes sistemas teste, dosagens e tempo de exposição, para aí se determinar com propriedade a toxicidade em nível celular destas substâncias e/ou das classes de compostos químicos que as constituem e, dessa forma, assegurar a utilização e consumo segura das mesmas pela população.

## REFERÊNCIAS

- ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Procedimentos para a indicação do uso de aroma na rotulagem de alimentos.** Informe técnico nº 26, de 14 de julho de 2007.
- AQUINO, R.C.; PHILIPPI, S.T. Consumo infantil de alimentos industrializados e renda familiar na cidade de São Paulo. **Revista de Saúde Pública**, v.36, n. 6, p.655-660, 2002.
- ALVES, M. **A aplicabilidade do polímero carboximetilcelulose (CMC).** [Pós-graduação]. São Paulo (SP): Faculdade de Tecnologia do Estado de São Paulo; 2009.
- 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.
- BAPTISTA, P.; VENÂNCIO, A. **Os perigos para a segurança alimentar o processamento de alimentos.** Forvisão – Consultoria em Formação Integrada. 1ed.2003. P 109
- BAYNES, J.; DOMINICZAK, M. H. Bioquímica médica. 1ªed. São Paulo: Manole, 2000.
- BRASIL. Resolução RDC nº 259 – ANVISA/MS, de 20 de setembro de 2002. Regulamento Técnico para Rotulagem de Alimentos Embalados. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 23 set. 2002.
- 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.
- 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 Nov, 2015.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento Técnico sobre Aditivos Aromatizantes/Aroma. Resolução N. 104 de 14 de maio de 1999.** Disponível em: <[http://www.engetecno.com.br/port/legislacao/norqual\\_aditivos\\_aromatizantes.htm](http://www.engetecno.com.br/port/legislacao/norqual_aditivos_aromatizantes.htm)>.v Acesso em: 13 Nov, 2015.
- 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. 327-336, out./dez. 2005.
- CARVALHO, P. R. de. Aditivos dos Alimentos. **Revista Logos**, São Paulo, n. 12, pp. 57 -69, 2005.
- CONSTANT, P.B.L.; STRINGHETA, P.C.; SANDI, D. Corantes Alimentícios. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos.** v.20, n.2 p. 203-220, jul./dez. 2002.
- DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema.** 4. ed. Porto Alegre: Editora Artmed.2010. p. 900.

- DEMIR E, KOCAOGLU S, KAYA R. Assessment genotoxic effects of benzyl derivatives by comet assay. **Food Chem Toxicol.** 2010;48:1239-42. DOI: 10.1016/j.fct.2010.02.016.
- ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J. A. P.; SILVA, J. Genética toxicológica. **Porto Alegre: Alcance**, p. 422, 2003.
- 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.** v. 9, n. 5, p. 10-15, abr. 2008.
- FERREIRA, M. R. **A leitura de rótulo de produto alimentício na escola.** 2006. 101fl. Dissertação (Mestrado em linguística aplicada). Universidade de Taubaté. Taubaté. 2006.
- FRANCESCHINI, R. et al. Caracterização sensorial de salsicha ovina. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 2, p. 127-135, abr./jan. 2006.
- GOMES, K. M. S.; OLIVEIRA M. V. G. A.; CARVALHO F. R. S.; MENEZES, C. C.; PERON A. P. Citotoxicity of food dyes sunset yellow (E-110), bordeaux red (E-123), and tartrazine yellow (E-102) on *Allium cepa* L. root meristematic cells. **CiencTecnolAliment.** 2013;33:218-23.
- GOUVEIA, F. Indústria de alimentos: no caminho da inovação e de novos produtos. **Inovação Unimep**, v.2, n.5, p.32-37, nov./dez. 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.
- 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. **Mut Res.** 2012;743:24-34. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2011.12.028sse
- KOCA, N.; ERBAY Z.; KAYMARK-ERTEKIN, F. Effects of spray-dripping conditions on the chemical, physical and sensory properties of cheese powder. **J. Dairy Sci.**, 2015; 98\; 2934-2943. DOI: 10.3168/jds.2014-9111.
- KONISHI, Y.; HAYASHI, S. M.; FUKUSHIMA, S. Regulatory forum opinion piece\*: supporting the need for international harmonization of safety assessments for food flavoring substance. **ToxicolPathol.** 2011;42:949-53. DOI: 10.1177/0192623313495603.
- LACERDA, L. P.; MALAQUIAS, G.; PERON, A. P. Antiproliferative action of aqueous extracts of *Hymenaeastigonocarpa* Mart. (Fabaceae) on the cell cycle of *Allium cepa* L. **An Acad Bras Cienc.** 2014;86:1147-50. DOI: 10.1590/0001-3765201420130163.
- LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research**, v. 682, n. 1, p. 71–81, 2009; 682:71-81. doi:10.1016/j.mrrev.2009.06.002414215.
- LIMA, A. R. et al. Compostos bioativos do café: atividade antioxidante *in vitro* do café verde e torrado antes e após a descafeinação. **Revista Quím Nova**, v. 33, n. 1, p. 20-24, 2010.
- MARCELO, V. A; CYNTHIA, M; JULIANO, C. P; JORGE, K; ROSANA, C. A; ANTÔNIO, A. M. Aditivos em alimentos. **Rev. Bras. Alerg. Imunopatol**, v.34, n. 5, p. 117-186, 2011.

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. **FoodSciTechnol**. 2015;35:183-88. DOI: 10.1590/1678-457x.6596.

MELLO, C.; THOMÉ, F.; LIMA, M. **Aromatizantes. Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Rio Grande do Sul: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2004.

MORE, S. S.; RAZA, A.; VINCE, R. (2012). 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. DOI: 10.1021/jf300180e.

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. DOI: 10.1016/j.fct.2010.07.030.

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 Sci Biol Sci**. 2013;35:557-62.

OLIVEIRA, M. V. A. et al. Citotoxicidade dos corantes alimentares erythrosine (E -127), azul brilhante (E-133) e red 40 (E-129) em sistema -teste vegetal. **Acta Scientiarum Biological Science**, v. 35, p. 557 -562, 2013.

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

PRADO, M. A.; GODOY, H. T. Teores de corantes artificiais em alimentos determinados por cromatografia líquida de alta eficiência. **Revista Química Nova**, v. 30, n.2, p. 268-273, set. 2007.

RANGAN, C.; BARCELOUX, D. **Medical Toxicology of Natural Substances: Foods, Fungi, Medicinal Herbs, Plants, and Venomous Animals**. 2008.

RANDHAWA, Shahid; BAHNA, Sami L. Hypersensitivity reactions to food additives. **Current opinion in allergy and clinical immunology**, v. 9, n. 3, p. 278-283, 2009.

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: Anal do Congresso de Pedagogia. Jataí; 2008.

RIBEIRO, L. R.; SALVADORI, D. M. F.; MARQUES, E. K. **Mutagênese Ambiental**. Editora da ULBRA, Edição Única, P. 173-198, 2003.

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

SANSEVERINO, A. M.; NESSIMIAN, J. L. Hábitats de larvas de Chironomidae (Insecta, Diptera) em riachos de Mata Atlântica no Estado do Rio de Janeiro. **Acta Limnológica Brasiliensia**, v. 13, n. 1, p. 29-38, 2001.

SAYED H. M., FOUHAD D., ATAYA F. S., HASSAN N. H., FAHMY M.A. The modifying effect of selenium and vitamins A, C and E on the genotoxicity induced by sunset yellow in male mice. **Mut Res.** maio v. 744, n. 2, p. 145-53, mai. 2012.

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

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

TÜRKOĞLU, Ş. Genotoxicity of five food preservatives tested on root tips of *Allium cepa* L. **Mut Res.** 2007;626:4-14. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2006.07.006.

VALAVANIDIS, A.; VLACLOGRANNI, T.; FIOTAKIS. K.; LORIDAR, S. 2013. Pulmonary oxidative stress, inflammation and cancer: respirable particular matter fibrous dusts and ozone as major causes of lung carcinogenesis through reactive oxygen species mechanism. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, 10 (9): 3886-3907. <http://dx.doi.org/10.3390/ijerph10093886>.

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, Jan. 2013.

VALSECHI, O.A. Aditivos. **Universidade Federal de São Carlos Centro de Ciências Agrárias.** São Paulo, Araras, 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 Chem Toxicol.** 2008;46:2928-33. DOI: 10.1016/j.fct.2008.06.001.

XU, Z.; G. U. C.; WANG, K.; JU, J.; WANG, H.; RUAN, K.; FENG, Y. Arctigenic acid, the key substance responsible for the hypoglycemic activity of *FructusArctii*. **Phytomedicine.** 2015;22:128-37. DOI: 10.1016/j.phymed.2014.11.006.

ZILIFDAR, F.; ALPES-HAYTA, S.; YILMAZ, S.; KAPLAN-ORZEN, C.; FOTO, E.; AYDOGAN, N. 2014. Genotoxic potential and eukaryotic DNA topoisomerase inhibitory effects of some benzoxazine derivative. **Medicinal Chemistry Research**, 23 (1), 480 – 486.

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 Toxicol.** 2011;49:763-69. DOI: 10.1016/j.fct.2010.11.040.



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

**Identificação do Tipo de Documento**

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

Eu, Jucilene Maria 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 Citotoxicidade e genotoxicidade de microingredientes aromatizantes sintéticos, idêntica ao natural, de uva, ameixa e laranja 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 24 de Janeiro de 20 17.

Jucilene Maria da Silva  
Assinatura

Jucilene Maria da Silva  
Assinatura