



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

CLEIDIANE JOSEFA DOS SANTOS VELOSO

**TOXICIDADE CELULAR DE PRODUTOS DIET, ADITIVADOS POR
MICROINGREDIENTES ALIMENTARES SINTÉTICOS, UTILIZADOS COMO
AUXILIADORES NA REDUÇÃO DO PESO**

PICOS

2017

CLEIDIANE JOSEFA DOS SANTOS VELOSO

**TOXICIDADE CELULAR DE PRODUTOS DIET, ADITIVADOS POR
MICROINGREDIENTES ALIMENTARES SINTÉTICOS, UTILIZADOS COMO
AUXILIADORES NA REDUÇÃO DO PESO**

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

Orientadora: Prof.^a Dra. Ana Paula Peron.

PICOS

2017

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

V443t Veloso, Cleidiane Josefa dos Santos

Toxicidade celular de produto diet, aditivados por microingredientes alimentares sintéticos, utilizados como auxiliares na educação do peso / Cleidiane Josefa dos Santos Veloso.– 2017.

CD-ROM : il.; 4 ¾ pol. (33 f.)

Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Piauí, Picos, 2017.

Orientador(A): Prof.^a Dra. Ana Paula Peron

1. *Diet Shake*. 2. Citotoxicidade. 3. Divisão Celular-Tecido Meristemático. I. Título.

CDD 571.6

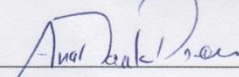
CLEIDIANE JOSEFA DOS SANTOS VELOSO

**TOXICIDADE CELULAR DE PRODUTOS DIET, ADITIVADOS POR
MICROINGREDIENTES ALIMENTARES SINTÉTICOS, UTILIZADOS COMO
AUXILIADORES NA REDUÇÃO DO PESO**

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

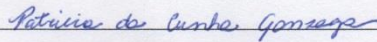
Monografia apresentada em 14 / 02 / 2017

BANCA EXAMINADORA



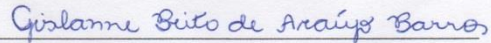
Prof.^a Dra. Ana Paula Peron (Orientadora)

Curso de Ciências Biológicas - UFPI



Prof.^a Me. Patricia da Cunha Gonzaga (Examinadora)

Curso de Ciências Biológicas - UFPI



Prof.^a Dra. Gislanne Brito de Araújo Barros (Examinadora)

Curso de Ciências Biológicas - UFPI

Dedico esse trabalho aos meus pais, à minha irmã e ao meu marido que foram o meu porto seguro diante das dificuldades deste percurso.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus que permitiu que tudo isso acontecesse, ao longo de minha vida, e não somente nestes anos como Universitária, mas que em todos os momentos é o maior mestre que alguém pode conhecer.

Agradeço aos meus pais Venancio e Josefa que me deram a vida e me ensinaram a vivê-la com dignidade, obrigada pelo extraordinário exemplo de amor e luta.

Ao Meu esposo, amigo e companheiro Mauricio pelo constante amor, dedicação e compreensão.

À minha irmã Cristiane pelo apoio, carinho e por sempre poder contar com você.

Aos meus avós por todo o ensinamento, e pelo apoio.

Aos meus amados afilhados Davi Lucas e Ana Karollyny, vocês são muito especiais para mim.

A todos os amigos e familiares que de uma forma ou de outra me incentivaram a estar onde estou hoje.

À minha estimada orientadora, prof. ^a Dra. Ana Paula Peron, pela orientação, apoio, incentivo e confiança. À senhora, minha eterna gratidão e respeito.

Agradeço ao pessoal do laboratório, pelos ensinamentos e a minha amiga Débora, por sempre poder contar com você.

Aos amigos de classe, aos professores, enfim a todos que direta ou indiretamente contribuíram para que esse sonho se tornasse realidade.

O meu muito obrigada!

“O mundo está nas mãos daqueles que têm a coragem de sonhar e de correr o risco de viver seus sonhos.”

(Paulo Coelho)

RESUMO

Objetivou-se na presente pesquisa avaliar a citotoxicidade e a genotoxicidade de produtos *diet shakes* de três marcas amplamente comercializadas no Brasil, denominadas neste estudo de A, B e C. As avaliações foram realizadas em células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* L. em dois tempos de exposição, 24 e 48 horas. Os produtos (tratamentos) referentes a A e B foram avaliados nas concentrações 0,05; 0,10 e 0,20 g/mL, e C nas concentrações 0,08; 0,16 e 0,32 g/mL. Tais concentrações foram definidas com base nas informações descritas nos rótulos de cada *shake* em avaliação. A partir dos resultados obtidos, verificou-se que os produtos *diet* nas três concentrações, inclusive as sugeridas como ideais para consumo pelos fabricantes, nos dois tempos de análise considerados, causaram efeito antiproliferativo significativo aos meristemas de raízes, e reduziram drasticamente a divisão celular do tecido as quais foram avaliadas. No entanto, nenhum dos tratamentos causou alterações celulares em número significativo aos tecidos das raízes. Assim, os produtos testados foram citotóxicos, porém, não genotóxicos, as células meristemáticas de raízes de *A. cepa*. Ainda, observou-se que em todos os tratamentos realizados, nas três concentrações e nos dois tempos de exposição estabelecidos, a maioria das células em divisão encontrava-se em prófase, não observando-se células em fase de anáfase e telófase nos meristemas expostos a nenhum dos produtos avaliados. Os resultados obtidos na presente pesquisa indicam que os *shakes diet* das três marcas selecionadas demonstraram ter potencial em causar toxicidade em nível celular. Dessa forma, sugere-se realizar estudos mais detalhados sobre a citotoxicidade destes *shakes* em sistemas testes fisiologicamente mais complexos para a verificação e aprofundamento dos dados aqui obtidos, uma vez que, estes produtos são utilizados como auxiliares na redução de peso pela população em geral e comercializados sem restrição de venda em drogarias de todo país.

PALAVRAS-CHAVE: *diet shake*, citotoxicidade, divisão celular, tecido meristemático.

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the cytotoxicity and genotoxicity of diet shakes products of three brands widely marketed in Brazil, named in this study of A, B and C. The evaluations were performed in meristematic cells of *Allium cepa* L. roots in two Exposure times, 24 and 48 hours. The products (treatments) for A and B were evaluated at concentrations of 0.05; 0.10 and 0.20 g / mL, and C at concentrations 0.08; 0.16 and 0.32 g / ml. Such concentrations were defined based on the information described on the labels of each shake being evaluated. From the results obtained, it was found that the dietary products at the three concentrations, including those suggested as ideal for consumption by the manufacturers, in the two analysis times considered, caused a significant antiproliferative effect to the root meristems, and drastically reduced the cell division of the Which were evaluated. However, none of the treatments caused significant cellular changes in the tissues of the roots. Thus, the products tested were cytotoxic, but not genotoxic, meristematic cells of A. strain roots. It was also observed that in all the treatments performed, at the three concentrations and in the two exposure times established, the majority of the cells in division were in prophase, not observing cells in phase of anaphase and telóphase in the meristems exposed to None of the products evaluated.

The results obtained in the present research indicate that the diet shakes of the three selected brands have shown potential to cause toxicity at the cellular level. Thus, it is suggested to carry out more detailed studies on the cytotoxicity of these shakes in physiologically more complex test systems to verify and deepen the data obtained here, since these products are used as aids in weight reduction by the population in general and Sold without restriction of sale in drugstores throughout the country.

KEY WORDS: diet shake, cytotoxicity, cellular division, meristematic tissue.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Bulbo de <i>Allium cepa</i> com raízes no tamanho de realizar a coleta.....	21
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Número de células em cada fase do ciclo celular observado em tecido meristemático de raízes de <i>Allium cepa</i>	22
---	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REFERENCIAL TEÓRICO	14
3 MATERIAIS E MÉTODOS	21
3.1 OBTENÇÃO DOS PRODUTOS DIET SHAKE.....	21
3.2 DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE DIET SHAKE PARA AVALIAÇÃO DE TOXICIDADE EM NÍVEL CELULAR.....	21
3.3 TESTE DE TOXICIDADE EM CÉLULAS MERISTEMÁTICAS DE RAÍZES DE <i>ALLIUM CEPA</i>	21
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
5 CONCLUSÃO.....	26
REFERÊNCIAS.....	27

1 INTRODUÇÃO

O Brasil nos últimos anos vivenciou intensas modificações econômicas e sociais em sua sociedade, o que promoveu alterações em seu modelo de saúde e alimentação. Tais modificações contribuíram para minimização da pobreza e exclusão social, porém, em contrapartida, ocasionou um crescimento acelerado do sobrepeso em indivíduos de diferentes classes sociais (SOUSA et al., 2016). Com o aumento na incidência da obesidade, evidenciou-se uma crescente variedade de produtos que foram lançados no mercado brasileiro tidos como potentes redutores de peso, dentre os quais pode-se citar os *shakes* em pó.

Estes *shakes* são indicados para substituir uma ou duas refeições diárias, e são comercializados sem restrições de venda em farmácias de todo o país (CAVICHOLI et al. 2012). São classificados como alimentos *diet* por terem composição balanceada de vitaminas, minerais, fibras alimentares, e quantidades reduzidas de carboidratos e ácidos graxos, afim suprirem basicamente as necessidades nutricionais daqueles que o consome (ARAÚJO et al., 2013). No Brasil, os alimentos *diet* em geral são normatizados e autorizados para consumo e comercialização pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), por meio da Portaria n. 30, de 13 de dezembro de 1998, que aprova o Regulamento referente a alimentos para o controle de peso (BRASIL, 1998).

Os *diet shakes* também são classificados como alimentos industrializados em razão de serem aditivados por microingredientes sintéticos das classes aromatizante, corante, antiemético, espessante, emulsificante e edulcorante (SOUSA et al., 2016). O acréscimo destes microingredientes, entre outras características, tem a finalidade de promover a diluição total do pó, o que acarreta a aparência homogênea do produto quando dissolvido em água ou leite, bem como, de reduzir significativamente a capacidade de absorção da umidade do ar ou higroscópica do pó durante o armazenamento e após aberto para consumo. Também suavizam o sabor, cheiro e a cor deste alimento tornando-o mais atrativo ao consumidor.

Porém, pesquisadores como Tonetto et al. (2008) e Carvalho et al. (2017), e a própria ANVISA (BRAISL, 2007) declaram que muitos aditivos alimentares, como os aromatizantes, corantes, antieméticos, espessantes, emulsificantes e edulcorantes, entre outros, suscitam uma série de dúvidas quanto aos seus potenciais efeitos citotóxicos, genotóxicos, mutagênicos e carcinogênicos. Assim, verifica-se a necessidade de se realizar estudos que, por meio de bioensaios adequados, avaliem a toxicidade em nível celular de produtos industrializados, como os *diet shakes*, para assim proporcionar, com propriedade, o bem estar daqueles que os consomem. De acordo com Brasil (2007), as análises toxicológicas de aditivos alimentares e,

principalmente, dos alimentos acrescidos de tais compostos, são a base de elaboração ou modificação dos documentos que normatizam a composição básica de alimentos e/ou produtos semi-industrializados e industrializados (BRASIL, 2007; BEZERRA et al., 2016; SALES et al., 2017). No entanto, não foram encontrados trabalhos de avaliação de toxicidade de produtos alimentares do tipo *diet shake* na literatura científica a nível nacional e internacional.

Os meristemas de raízes de *Allium cepa* L. (cebola) são considerados no meio científico como um eficiente bioensaio para a avaliação da toxicidade aguda em nível celular de compostos químicos em razão de apresentarem número cromossômico reduzido ($2n=16$), o que favorece a detecção de alterações cromossômicas ou clastogênicas, de fuso mitótico ou aneugênicas, e de distúrbios no índice proliferação celular (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 da citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade de substância de interesse, uma vez que, os resultados obtidos por intermédio dele demonstram, em grande parte das vezes, similaridade satisfatória aqueles obtidos via sistemas testes animal e em culturas de células (HERRERO et al., 2011; LACERDA et al., 2014; TABREZ et al., 2011; GOMES et al., 2013; OILIVEIRA et al., 2013; CAMPOS; MARIN-MORALES, 2016; MOURA et al., 2016, SANTANA et al., 2016).

Com base no contexto abordado, teve-se como objetivo no presente estudo avaliar, em células meristemáticas de raízes de *A. cepa*, a citotoxicidade e genotoxicidade de alimentos *diet shakes*, de três diferentes marcas comerciais, de ampla saída em drogarias de todo o Brasil.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

O número de pessoas com sobrepeso/obesidade está aumentando cada vez mais no Brasil. No entanto, a busca pelo corpo perfeito está ganhando espaço, com o ideário de corpos fortes, torneados e magros, influenciando o modo pelo qual o corpo se apresenta para si próprio (BRASIL, 2006b). Nesse contexto surgem as chamadas dietas da moda que mesmo sendo consideradas como inadequadas pelos nutricionistas, são muito utilizadas por proporcionarem uma perda rápida de peso (VIGGIANO, 2007). Diante disso, está se cada vez dando mais importância a aparência corporal.

Segundo dados da Diretriz da Sociedade Brasileira de Medicina do Esporte (DSBME, 2003), no Brasil o uso de suplementos tem crescido nas academias e clubes onde se realizam atividades físicas. Dessa forma Hirschbruch (2008) afirma que os fatores responsáveis pelo uso abusivo dos suplementos são o fácil acesso a essas substâncias através de vendas em farmácias e lojas especializadas sem prescrição de um médico ou nutricionista. Sendo as mesmas utilizadas muitas vezes em quantidades exageradas com o intuito de obter um melhor rendimento, redução de gordura corporal ou aumento da massa muscular. Vários estudos realizados no Brasil revelam que 24 a 40% dos praticantes de atividade física, que frequentam academias, utilizam algum tipo de suplemento, sendo que a maior parte deles adquirem esses produtos sem nenhuma orientação e/ou indicação de médicos ou nutricionistas (GOSTON, CORREIA, 2009).

Goston (2008) também cita que são vinculados a esses produtos promessas de diminuição da gordura corporal, acréscimo de massa muscular, aumento da capacidade aeróbica proporcionando dessa forma um melhor desempenho físico, além do mais melhora a estética corporal e retarda o envelhecimento. Associados a isso, Milani, Teixeira e Marques (2014) ressaltam que os suplementos alimentares são utilizados devido à falta de paciência em esperar pelos resultados com a prática do exercício físico. De acordo com Fermino, Pezzini e Reis (2010) entre os interesses citados o principal alvo dos praticantes de exercícios físicos em academias é a estética corporal. Sendo que esses indivíduos relatam serem insatisfeitos com o próprio corpo, mesmo possuindo a composição corporal dentro dos padrões considerados saudáveis.

Fernandes, Gomes e Navarro (2009) mencionam que o aumento da prática de atividade física é um fator que influencia um acréscimo cada vez maior da preocupação com a alimentação e, em consequência eleva a demanda por suplementos nutricionais que possam

ajudar na prática dessas atividades. Conforme Saba (2011), o conceito de beleza física está associado ao volume ou definição dos músculos. Assim, o ambiente das academias favorece a dispersão desse padrão estético de corpo magro, com pequena quantidade de gordura e com grande definição muscular. Dessa forma é admissível que o aumento da divulgação pela mídia de diferentes suplementos e seus efeitos benéficos sobre a saúde tenha tido influência em relação ao aumento do consumo destes produtos (MARINHO, 1994).

Os suplementos alimentares são formulados por proteínas, vitaminas, minerais, aminoácidos, lipídeos, ácidos graxos, carboidratos e fibras, isoladas ou associadas entre si (CFN 2006). Dentre os suplementos alimentares utilizados encontram-se os *shakes*, produtos utilizados por um grande número de pessoas principalmente os praticantes de atividade física visando o rápido emagrecimento. O *shake* é um alimento completo e com baixas calorias, formado com a mais avançada engenharia nutricional, além de contribuir com o emagrecimento saudável e progressivo, reúne ainda ingredientes como o colágeno de gelatina hidrolisada, que atua sobre a firmeza e a elasticidade da pele, vitaminas, minerais e fibras alimentares que ajudam no bom funcionamento orgânico. Diet *shake* é um alimento auxiliador na redução de peso baseado na substituição da refeição e no controle do apetite.

O lançamento no mercado de uma grande variedade de suplementos juntamente com a influência da mídia tem aumentado o consumo desses produtos. No entanto, esses suplementos não vêm acompanhados de informações para o uso correto por seus consumidores (CANTORI; SORDI ; NAVARRO, 2009). De acordo com Hernandez e Nahas (2009), se utilizados de forma adequada, os suplementos alimentares aumentam o rendimento nas atividades físicas, e proporcionam maior disposição para realizar tarefas diárias. No entanto na maioria dos casos esses suplementos são utilizados sem a orientação de um profissional, fato que ocorre devido à grande facilidade de obtenção do produto, com isso as pessoas consomem esses suplementos de forma inadequada, deixando muitas vezes de realizar uma refeição substituindo-a pelos suplementos, o que pode acarretar a perda de vitaminas, sais minerais e nutrientes essenciais para a saúde. Causando efeitos colaterais como: fraqueza, irritabilidade, tontura, dor de cabeça, alopecia, unhas fracas, desmaio, intoxicação alimentar, alterações metabólicas do sistema digestivo, que podem ocasionar doenças como diabetes, osteoporose, anemia e até perda temporária de movimento dos membros (BASTOS, 2015).

Segundo Iriart, Chaves e Orleans (2009) ainda são desconhecidos os efeitos colaterais relacionados ao uso de suplementos por longos períodos de tempo, tanto em doses terapêuticas quanto supra-fisiológicas. No entanto as consequências mais registradas são de

natureza endócrina e reprodutiva, como: atrofia testicular que pode resultar em perda de função definitiva, menor produção de testosterona, carcinoma prostático, ginecomastia; hepática: icterícia colestásica, amarelamento do branco dos olhos e das unhas, carcinoma hepatocelular, peliose hepática, adenoma hepático e hepatite; cardiovascular: aumento nas lipoproteínas de baixa densidade (LDL), colesterol e uma diminuição nas lipoproteínas de alta densidade (HDL) (FERREIRA et al 2007) e psicologia: sintomas depressivos, síndromes psiquiátricas e distúrbios psicológicos durante os períodos de abstinência (FERREIRA et al, 2007; FONINI, 2008).

Os suplementos alimentares devem ser utilizados somente com a prescrição de um nutricionista (profissional habilitado), respeitando os níveis máximos de segurança regulamentados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Resolução CFN nº 390 (BRASIL, 2006). A portaria nº 32, de 13 de janeiro de 1998, do Ministério da Saúde e da ANVISA, relata que os suplementos nutricionais podem ser apresentados nas formas sólidas, semissólidas, líquidas e aerossol, como: tabletes, comprimidos, drágeas, pós cápsulas, granulados, pastilhas, soluções, suspensões e sprays. Além do mais são considerados suplementos vitamínicos ou minerais os alimentos que servem para contemplar com estes nutrientes a dieta diária de uma pessoa saudável, em casos onde a ingestão a partir da alimentação, não seja suficiente ou quando a dieta requer suplementação. Devem conter no mínimo de 25% e no máximo até 100% da Ingestão Diária Recomendada (IDR) de minerais e ou vitaminas, na porção diária indicada pelo fabricante, não podendo ser utilizados para substituição de alimentos nem considerados como dieta exclusiva.

No entanto a grande preocupação é com a toxicidade desses produtos industrializados como por exemplo os diet *shakes* existentes no mercado, que fazem parte de dietas desequilibradas e vastamente constituídas por microingredientes sintéticos, como corantes, aromatizantes, antieméticos, espessantes, edulcorantes e emulsificantes. Devido o avanço da indústria química, a indústria alimentícia passou a utilizar um grande número de aditivos, com o intuito de melhorar as condições de armazenagem e oferecer alimentos seguros, atendendo assim as expectativas do mercado consumidor. Dessa forma além da estabilidade econômica, outros fatores como, maior praticidade, rapidez, durabilidade e boa aceitação do produto vem contribuindo cada vez mais para a introdução e manutenção de alimentos industrializados nos hábitos alimentares de consumidores de todas as idades (AQUINO; PHILIPPI, 2002).

Os aditivos alimentares exercem um papel importante na conservação dos alimentos de acordo com a visão tecnológica. No entanto o uso dos mesmos, é um assunto que desperta

a preocupação dos consumidores, pois estes estão cada vez mais preocupados com a segurança alimentar. Dos vários itens que tem relação com a segurança dos alimentos, os mais contestados são os aditivos alimentares (VARELA; FISZMAN, 2013). A Portaria n° 540-SVS/MS, de 27 de outubro de 1997 define que aditivo alimentar é qualquer ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos, sem o propósito de nutrir, mas com o objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais, durante a fabricação, processamento, preparação, embalagem, tratamento, armazenagem, acondicionamento, transporte ou manipulação de um alimento.

Segundo WU et al, (2013) há cerca de 25 mil aditivos alimentares usados em todo o mundo. Sendo que um grande número de estudos, tem afirmado que o consumo de quantidades excessivas de aditivos sintéticos pode causar reações adversas gastrointestinais, respiratórias, dermatológicos e neurológicos. Exatamente por estas razões, o Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) tem se reunido anualmente desde 1956 para aferir a segurança desses aditivos, atualizar e estabelecer as normas de segurança dos mesmos.

Gouveia, (2006) relata que o mercado brasileiro de ingredientes e aditivos fatura anualmente entre R\$ 1,5 bilhão e R\$ 2,5 bilhões. Cerca de 50% desse faturamento é procedente do aroma e o restante agrega todos os outros ingredientes e aditivos. Os aromatizantes são utilizados com o intuito de fornecer sabor e aroma aos alimentos industrializados, aproximando-os ao máximo aos produtos naturais, aumentando dessa forma a aceitação pelo consumidor. Essa classe de aditivo pode ser classificada como: natural, sintético, idêntico ao natural, sintético artificial (MAGALI, 2006). Os mesmos possuem especial importância por conferirem propriedades sensoriais que caracterizam cada sabor e aroma dos mais diversos produtos. Grande parte do sabor do alimento é diretamente influenciada pelo seu aroma e em meio a uma grande variedade de opções e o surgimento de alimentos no mercado, são as características diferenciais que vão determinar a aceitação do produto pelo consumidor (MELLO et al., 2004).

No Brasil, a regulamentação do uso de aditivos utilizados no setor alimentício, incluindo os corantes era efetivada pela Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos (DINAL) do Ministério da Saúde. Hoje em dia, esta fiscalização é feita pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Os corantes são aditivos alimentares definidos como toda substância que confere, intensifica ou restaura a coloração de um alimento.

Existem três categorias de corantes aceitas pela legislação para o uso em alimentos, os corantes naturais, o corante caramelo e os corantes artificiais. Dentre esses, o corante caramelo é o utilizado na fabricação dos *shakes* sendo adquirido a partir de açúcares pelo

aquecimento a temperatura superior ao seu ponto de fusão e subsequente ao tratamento aconselhado pela tecnologia. Em geral, a importância da aparência do produto para a sua aceitabilidade é a maior justificativa para o emprego de corantes. Sendo assim a manutenção da cor natural do alimento constitui-se um fator importante para a aceitação do produto por parte do consumidor. Antes do paladar, os alimentos coloridos chamam a atenção das pessoas. A lógica do consumo desses produtos inicia-se pelos olhos: alimentos vistosos, coloridos, atraentes só podem ser deliciosos (PRADO; GODOY, 2007).

Os espessantes são substâncias utilizadas nos shakes para aumentar a viscosidade ou consistência sem alterar significativamente as suas demais propriedades, e ainda proporcionam resistência a fluir. São componentes hidrossolúveis e hidrofílicos, usados para dispersar, estabilizar e evitar a sedimentação de substâncias em suspensão (ALVES, 2009). Dentre os espessantes encontrados nos shakes temos os exopolissacarídeos como o xantana que são utilizados a muitos anos pela indústria de alimentos devido as suas propriedades espessantes e estabilizantes (ERNANDEZ; CRUZ, 2005).

Os conservantes são substâncias que, acrescentadas a um determinado alimento, evitam ou adiam alterações provocadas nesses alimentos pela atuação de microrganismos, agentes físicos e/ou enzimas. Há um crescente aumento na demanda de alimentos químicos estáveis e seguros, de maior durabilidade. Fato que faz com que os conservantes sejam utilizados cada vez mais pelos setores alimentícios (TONETTO et al, 2008). Dentre os conservantes os mais empregues são: ácido benzoico, dióxido de enxofre, ácido sórbico, ácido propiônico na forma livre, ou de sais de sódio e potássio e nitritos e nitratos de sódio e potássio (ARAÚJO, 2009).

Os umectantes são substâncias que previnem a perda de umidade pelos alimentos, em locais de umidade baixa, ou que facilitam a dissolução de substância seca em meio aquoso (ANVISA, 2009). Alguns exemplos são o citrato de ferro amoniacal, carbonatos de cálcio e de magnésio, dióxido de silício, ferrocianeto de sódio, silicato de sódio e de alumínio e o fosfato (SCHVARTSMAN, 1982), acrescentados a recheios de bolos e bolachas, balas chocolates e outros produtos (AUN et al, 2011).

Os edulcorantes são substâncias diferentes dos açúcares, que conferem sabor edulcorado aos produtos (ANVISA, 2009). São utilizados para substituir os açúcares, devido em pequenas quantidades fornecerem uma doçura onde se utilizado o açúcar era necessária uma quantidade maior para se chegar a mesma condição (VICENTINI, 2001). Além do mais, são destinados a pessoas que querem evitar o consumo de açúcares, devido ao seu baixo valor calórico (ALMEIDA, CARVALHO, SAMPAIO, 2005). O Ciclamato de Sódio, é utilizado

como adoçante artificial não calórico sendo utilizado em diversos alimentos e bebidas e na indústria farmacêutica. É um adoçante artificial 30 vezes, mais adocicado que o açúcar. Devido a sua vasta utilização e pelas controvérsias em relação ao seu processo metabólico e toxicidade, há um grande interesse no desenvolvimento de métodos analíticos para a determinação desses edulcorantes em produtos dietéticos (MEDEIROS et al, 2008).

O estudo das alterações cromossômicas é utilizado como um ensaio de mutagenicidade, sendo um dos poucos métodos para medir os danos diretos em sistemas exibidos a possíveis mutagênicos ou agentes cancerígenos. Para que haja a avaliação das implicações ou agravos que podem causar agentes mutagênicos, é necessário que o sistema teste esteja em divisão mitótica constante, procurando identificar os efeitos tóxicos e alterações que ocorrem ao longo do ciclo celular. O teste de *Allium cepa* tem sido amplamente utilizado para esta finalidade (SILVA et al, 2003). Conforme Longhin (2008) os testes com *Allium cepa* são muito utilizados, pois são considerados rápidos e eficientes. Além do mais ele é considerado um vegetal superior, sendo muito usado por pesquisadores em ensaios toxicológicos por meio de avaliação de parâmetros macroscópicos como alterações de formato, comprimento de raiz e cor e ainda microscópicos como aberrações cromossômicas.

Devido a confiabilidade, baixo custo e concordância com outros testes de genotoxicidade, o *Allium cepa* é considerado um excelente bio indicador para o primeiro screening da genotoxicidade de compostos químicos, assessorando os estudos de prevenção de danos à saúde da humanidade (BAGATINE et al.,2007). Segundo Cabrera (1999) o método de avaliação de alterações cromossômicas em raízes de *Allium cepa* (cebola) é validado pelo Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP) e pelo Programa Internacional de Segurança Química (IPCS, OMS) como uma eficiente avaliação para monitoramento e análise in situ da genotoxicidade de substâncias. Conforme Vicentini (2001) o sistema teste com *Allium cepa* é considerado um excelente teste para verificação de citotoxicidade devido ao fato das raízes ficarem em contato direto com a substância testada, admitindo a avaliação de diferentes concentrações.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Obtenção dos produtos *diet shake*

Diet shakes de três diferentes marcas comerciais, referidas neste estudo como A, B e C, foram adquiridos em farmácia localizada no município de Picos, Estado do Piauí, Brasil, em novembro do ano de 2016. As amostras obtidas estavam dentro do prazo de validade.

3.2 Determinação das concentrações de *diet shake* para avaliação de toxicidade em nível celular

Os *diet shakes* avaliados nesta pesquisa são comercializados em pó. Para determinação das concentrações a serem analisadas quanto a toxicidade em nível celular, utilizou-se como parâmetro a forma de preparo e ingestão indicada nos rótulos de cada produto. Assim, para as marcas A e B sugeria-se diluir 30g do produto em 300 mL de água. Com base nesta informação definiu-se para estes *shakes* as concentrações 0,05; 0,10 e 0,20 g/mL. Para C recomendava-se diluir 40g de *shake* em 250 mL de água, estabelecendo-se, dessa forma, para análise as concentrações 0,08; 0,16 e 0,32 g/mL. Para o preparo de todas as concentrações utilizou-se água destilada.

3.3 Teste de toxicidade em células meristemáticas de raízes de *Allium cepa*

Inicialmente, 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 amostra de *diet shake* estabeleceu-se um grupo experimental com cinco bulbos de cebola. Antes de colocar as raízes em contato com a suas respectivas amostras (tratamentos), algumas raízes foram coletadas e fixadas para servirem de controle do próprio bulbo. Em seguida, as raízes restantes foram postas em seus respectivos tratamentos por 24 horas, procedimento denominado de tempo de exposição 24 horas.



Figura 1- Bulbo de *Allium cepa* com raízes no tamanho de realizar a coleta.

Fonte: Autoria Própria, 2017.

Após 24 horas, foram retiradas algumas raízes e fixadas. Feito este procedimento, as raízes restantes de cada bulbo foram devolvidas a seus respectivos tratamentos 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. Os tempos de exposição 24 e 48 horas foram escolhidos com o intuito de avaliar a ação dos shakes em pó diluído em mais de um ciclo celular. A fixação das raízes se deu em Carnoy 3:1 (etanol: ácido acético) por 24 horas. Em cada coleta, retirou-se, em média, três raízes por bulbo.

As lâminas, em média 03 por bulbo, foram feitas seguindo o protocolo proposto por Guerra e Souza (2002), e analisadas em microscópio óptico em objetiva de 40x. Para cada bulbo de cebola analisou-se 1.000 células, totalizando 5.000 células para cada controle, tempo de exposição 24 horas e tempo de exposição 48 horas de cada grupo tratamento em análise. Assim, para cada marca de *diet shake* analisou-se um total de 15.000 células. Foram observadas células em interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase. A partir desta análise determinou-se o índice mitótico (IM) por meio da seguinte equação: (número total de células em mitose ÷ número total de células analisadas) x 100. O valor de IM foi parâmetro para a determinação do potencial citotóxico das amostras *diet* em estudo. Os testes de toxicidade foram realizados em duplicata para a confirmação dos resultados obtidos.

Avaliou-se também o potencial genotóxico das concentrações de *diet shake* através da frequência de células micronucleadas, de metáfases colchícinicas, pontes anáfasicas e telofásicas, células com aderências, brotos nucleares e anáfases multipolares. A análise estatística dos dados foi realizada pelo teste do Qui-quadrado (χ^2), com nível de probabilidade <0.05, por meio do software estatístico BioEstat 3.0 (Ayres, 2007).

4 RESULTADO E DISCUSSÃO

Com base nos resultados apresentados na Tabela 01, verifica-se que todos os produtos *diets*, nas três concentrações e nos dois tempos de análises considerados, causaram inibição significativa da divisão celular nos meristemas de raízes. Tal condição pode ser evidenciada comparando-se os índices mitóticos obtidos para os tempos de análise 24 horas e/ou 48 horas de A, B, C ao índice de divisão celular observado para os seus respectivos controles. No entanto, quando confrontados os índices de divisão celular entre os tempos de exposição 24 e 48 horas de um mesmo tratamento verificou-se que os mesmos não foram estatisticamente significativos entre si para nenhum dos *shakes diet* avaliados.

Tabela 1 - Número de células em cada fase do ciclo celular observado em tecido meristemático de raízes de *Allium cepa* exposto por 24 e 48 horas a *shakes diet* de diferentes marcas, identificadas neste estudo como A, B e C. Os produtos *diets* (tratamentos) A e B foram avaliados nas concentrações 0,05; 0,10 e 0,20 g/mL, e C nas concentrações 0,08; 0,16 e 0,32 g/mL.

<i>shake diet A</i>									
TR	Conc.	TE	TCH	P	M	A	T	TCD	IM (%)
A	0,05 g/mL	CO	2293	702	712	694	599	2707	54,1 ^a
		24h	4063	923	14	00	00	937	18,7 ^b
		48h	4091	901	08	00	00	909	18,2 ^b
	0,10 g/mL	CO	2830	623	598	532	417	2170	43,4 ^a
		24h	4090	910	31	00	00	941	18,8 ^b
		48h	4100	900	25	00	00	925	18,5 ^b
	0,20 g/mL	CO	3350	794	723	604	599	2720	54,4 ^a
		24h	4162	799	39	00	00	838	16,8 ^b
		48h	4153	824	23	00	00	847	16,9 ^b
<i>shake diet B</i>									
TR	Conc.	TE	TCH	P	M	A	T	TCD	IM (%)
B	0,05 g/mL	CO	2626	694	594	573	513	2374	45,5 ^a
		24h	4087	899	14	00	00	913	18,2 ^b
		48h	4092	891	17	00	00	908	18,1 ^b
	0,10 g/mL	CO	2213	723	792	691	581	2787	55,7 ^a
		24h	4078	913	09	00	00	922	18,4 ^b
		48h	4073	927	00	00	00	927	18,5 ^b
	0,20 g/mL	CO	2129	714	784	682	691	2871	57,4 ^a
		24h	4070	901	29	00	00	930	18,6 ^b
		48h	4069	918	13	00	00	931	18,6 ^b
<i>shake diet C</i>									

TR	Conc.	TE	TCII	P	M	A	T	TCD	IM (%)
C	0,08 g/mL	CO	1180	984	982	941	913	3820	76,4 ^a
		24h	3098	1887	15	00	00	1902	38,0 ^b
		48h	3108	1882	10	00	00	1892	37,8 ^b
	0,16 g/mL	CO	1293	941	999	944	823	3707	74,1 ^a
		24h	3771	1210	19	00	00	1229	24,6 ^b
		48h	3661	1300	39	00	00	1339	26,8 ^b
	0,32 g/mL	CO	1573	974	923	811	719	3427	68,5 ^a
		24h	3899	1101	00	00	00	1101	22,0 ^b
		48h	3976	1024	00	00	00	1024	20,5 ^b

TCII – Total de células em interfase e indiferenciadas; TE – Tempo de Exposição; CO – Controle; IM – Índice Mitótico; TCD – Total de células em divisão. Valores de IM seguidos da mesma letra dentro de um mesmo tratamento não diferem significativamente entre si pelo teste χ^2 , ao nível de 5% de probabilidade.

O potencial citotóxico de produtos industrializados, como os *diet shakes* aqui avaliados, pode ser determinado pelo aumento ou diminuição do índice mitótico das células dos tecidos expostos a eles (FERNANDES et al., 2007; CARVALHO et al.; 2017). De acordo com Caritá e Marin-Morales (2008), índices de divisão celular inferiores ao controle negativo, quando considerados significativos, indicam a presença de agentes cuja ação tóxica compromete o crescimento e o desenvolvimento dos organismos sujeitos a estas substâncias.

Além disso, Gomes et al. (2013), Sales et al. (2016) e Moura et al. (2016) citam que a inibição da proliferação celular desencadeada por compostos citotóxicos em tecidos de intensa proliferação celular e de desempenho normal e/ou sem alterações celulares - como os meristemas de raízes utilizados nesta pesquisa para avaliação da toxicidade dos *diet shakes* - é extremamente prejudicial ao organismo, uma vez que, tem a propriedade de inibir ou limitar a reposição de células, alterar a síntese proteica e, por conseguinte, resultar no mal funcionamento do órgão onde está localizada (GOMES et al., 2013; MARQUES et al., 2015; SALES et al., 2016; MOURA et al., 2016).

Ainda na Tabela 01, é possível observar que em todos os tratamentos realizados, a maioria das células em divisão encontram-se em prófase. Não foram observadas nos meristemas tratados com os produtos *diet* células em anáfase e telófase. De acordo com Marques et al. (2014), agentes químicos presente na formulação de alimentos ou produtos industrializados podem inibir a formação do fuso mitótico em tecidos de intensa proliferação celular. Tal condição pode acarretar duas situações, onde a primeira seria a formação de células poliploides ao final da divisão celular, dando origem a um tecido com células aberrantes. A outra, e a mais indicada para explicar o resultado observado no presente estudo, seria de que as células poliploides produzidas tenham sido eliminadas dos meristemas de

raízes expostos aos produtos *diet* avaliados, uma vez que, o princípio do ciclo celular é a formação de células idênticas, e a presença de células com grande variação no número cromossômico tornaria o funcionamento celular, e do próprio tecido, inviável. Ainda, os produtos *diet* avaliados não induziram alterações fuso mitótico nos tecidos de raízes em frequência estatisticamente significativa. Porém, mais estudos em diferentes organismos de prova em diferentes tempos de análise são necessários para averiguação dos resultados aqui obtidos.

Como mencionado outrora, os *diet shakes* possuem em sua formulação aditivos alimentares de diferentes classes. Apesar de escassos, há estudos na literatura científica que mostram que alguns destes microingredientes têm o potencial em causar toxicidade em nível celular. Dentre os aditivos de ação edulcorantes citados nos rótulos dos produtos *diet* avaliados na presente pesquisa estão a sucralose, o ciclamato de sódio e o aspartame. Em um estudo feito por Van Eyk et al. (2015), através de linhagens celulares normais, as Caco-2 (células de colón), HT-29 (células de cólon) e HEK-293 (células de rim), pode-se verificar que estes aditivos alimentares foram citogenotóxicos a estes bioensaios em diferentes tempos de análises.

Sasaky et al., (2002), utilizando o bioensaio cometa, verificaram que o ciclamato de sódio foi citogenotóxico e clastogênico ao cólon de roedores tratados cronicamente, via gavagem, por este microingrediente. Quanto ao antielmíntico utilizado na formulação dos *shakes diet*, o único citado nas embalagens dos produtos em questão foi o dióxido de sílica. Rajiv et al. (2016) verificaram que tal aditivo reduziu drasticamente a divisão celular e induziu frequência significativa de alterações celulares em linfócitos humano em cultura de células de linhagem normal.

Em relação aos aromatizantes, os ingredientes de aroma e sabor mencionados nos rótulos dos produtos *diet* avaliados aqui foram o de chocolate e baunilha. Sales et al., (2017), Sales et al., (2016) e Silva et al., (2016) avaliaram estes aromatizantes em células meristemáticas de raízes de *A. cepa* e verificaram que estes aditivos, em todas as doses e tempos de análises considerados, reduziram drasticamente a divisão celular dos tecidos analisados, mostrando-se potencialmente citotóxicos. Gultekin et al.,(2013) verificaram que estes aromatizantes tiveram a propriedade de induzir danos significativos ao fuso mitótico, e, conseqüentemente, a divisão celular de eritrócitos prematuros de camundongos, induzindo de forma expressiva a formação de células micronucleadas na medula óssea desses animais.

Ainda, de acordo com a Anvisa (2009), nos aromatizantes alimentares em geral encontra-se o composto químico diacetil (2,3-butadiona), que tem por função principal fixar

o aroma e sabor nos alimentos industrializados. Whittaker et al., (2008) avaliaram o potencial mutagênico deste composto químico em ensaio de mutação gênica utilizando células de linfoma de rato, linhagem L5178Y, e verificaram que o diacetil causou danos significativos a loci do cromossomo 11 destas células. Também ocasionou a perda funcional do locus da enzima timidina-quinase nestes animais. Ainda, More et al., (2012) verificaram que altas concentrações de diacetil são mutagênicas e têm o potencial de substituir bases de timinas por guaninas. Esta mudança tem a propriedade de romper as pontes de hidrogênio e de dissulfeto da estrutura terciária de proteínas, como as envolvidas na divisão celular.

Dessa forma, os resultados das pesquisas de toxicidade em nível celular sobre os aditivos edulcorantes, antiemético e aromatizantes mencionados corroboram aos resultados obtidos aqui com os *diet shakes*. Não foram encontrados na literatura científica estudos de avaliação de toxicidade, em nível sistêmico e celular, de aditivos alimentares de ação espessante, emulsificante e estabilizante de maneira em geral. O corante mencionado no rótulo dos três produtos *diet* avaliados foi o caramelo. Os trabalhos de avaliação de toxicidade sobre este aditivo em específico demonstraram que o mesmo não foi citotóxico, genotóxico e mutagênico aos bioensaios aos quais ele foi analisado (SENGAR e SHARMA, 2014; KRISHNA et al., 2014).

Portanto, os resultados observados mostraram que os *diet shakes* analisados tiveram significativo potencial em ocasionar toxicidade as células meristemáticas de raízes de *A. cepa*. Tal resultado indica que esses alimentos devam ser avaliados em bioensaios fisiologicamente mais complexo, como em sistemas testes em animais, para verificação e aprofundamento dos dados aqui obtidos, e assim poder garantir a segurança daqueles que os consomem.

5 CONCLUSÃO

Os diet shakes avaliados foram citotóxicos, porém não genotóxicos, as células meristemáticas de raízes de *Allium cepa*.

Com base nos resultados, sugere-se que os três produtos avaliados causaram distúrbios na formação do fuso mitótico das células dos tecidos expostos a eles, não permitindo que as células avançassem a fase de anáfase.

REFERÊNCIAS

- ALVES, M. **A aplicabilidade do polímero carboximetilcelulose (CMC)**. [Pós-graduação]. São Paulo (SP): Faculdade de Tecnologia do estado de São Paulo, 2009.
- ALMEIDA, J. Z.; CARVALHO, K. M.; SAMPAIO, H. A. C. Adoçantes artificiais: inter-relações positivas e negativas com as doenças crônicas não transmissíveis. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, São Paulo, v. 20, n. 2, p. 77 – 82, abr./maio/jun. 2005.
- AQUINO, R.C; PHILIPPE, S.T. Consumo infantil de alimentos industrializados e renda familiar na cidade de São Paulo. **Revista de Saúde Pública**, v.36, p.655-660,2002.
- ARAÚJO, D.B.; BARRAL, T.; ARAÚJO, R.P.C. **Análise das características de produtos contendo aspartame comercializados em Salvador, Bahia, Brasil**. Pesquisa Brasileira Odontológica, v.8, n.2, p.223-228, maio/ago.2009.
- ARAÚJO, L.M.P; FORTES, R.C; FAZZIO, D.M.G. Análise do uso de dietas da moda por indivíduos com excesso de peso. **Rev. Inst. Ciênc. Saúde**. 2013;31(4):388-91.
- APPLEGATE, E. A; GRIVETTI, L. E. Search for the Competitive edge: a History of Dietary Fads and Supplements. **Journal of Nutrition**,127:869-873,1997.
- AUN, M. V. et al. Aditivos em alimentos. **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**, São Paulo, v. 34, n. 5, p. 177-186, 2011.
- AYRES, M.; AYRES, J.R.M; AYRES, D.L; SANTOS, A.S. **BioEstat 5.0 - Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Biológicas e Médicas**. Sociedade Civil. Mamirauá, Belém. CNPq: Brasília, 2007.
- 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. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. 17(3):444-447,2007.
- BASTOS, J. et al. Milagrosas ou Perigosas? Os Riscos Causados pela Desinformação sobre Dietas. **Revista Nutrição**. v. 25. n.6. Intercom, 2015.
- BEZERRA, M. D. S.; MALAQUIAS, G. D. S.; CASTRO e SOUSA, J. M. D.; PERON, A. P. Cytotoxic and genotoxic potential of powdered juices. **Food Science and Technology, Campinas**, v. 36, n. 1, p. 49-55, 2016. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-457X.006>.
- BIANCHI, J.; MANTOVANI, M.S. Y 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 Science, Pequim**, v. 36, p. 102-111, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jes.2015.03.034>.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Resolução da diretoria colegiada RDC nº. 05, de 15 de janeiro de 2007**. Brasília,2007. Disponível em:< http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2007/rdc/02_170107rdc.pdf>. Acessado em:03/01/2017

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. **Guia de procedimentos para pedidos de inclusão e extensão de uso de aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia de fabricação na legislação brasileira**. 2009. Disponível em:< <http://www.anvisa.gov.br>>. Acessado em:06/01/2017.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária- ANVISA.**Portaria n.32, de 13 de Jan. de 1998**. Regulamento Técnico para Suplementos Vitamínicos e ou de Minerais. Diário Oficial da União, Brasília, 15/01/1998.Disponível :< <http://www.anvisa.gov.br>>. Acessado em: 04/01/2017. Disponível em:< <http://www.anvisa.gov.br>>. Acessado em:06/01/2017.

_____. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária -ANVISA. **Portaria n 540/97, de 27 de outubro de 1997**.B CEPA, Curitiba, v.20, n.2, jul/dez.2002a (DOU de 28/10/97). Disponível em:< <http://www.anvisa.gov.br>>. Acessado em: 04/01/2017.

_____. ANVISA. **Portaria n 540/97, de 27 de outubro de 1997**.B CEPA, Curitiba, v.20, n.2, jul/dez.2002a (DOU de 28/10/97). Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acessado em 03/01/2017.

_____. Conselho Federal de Nutricionista. **Resolução CFN nº 390/2006**. Regulamenta a prescrição dietética de suplementos nutricionais pelo nutricionista e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, 27/10/2006, Seção 1, p. 104-105. Disponível em:< http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2007/rdc/02_170107rdc.pdf>. Acessado em:03/01/2017.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. **Portaria nº 540, de 27 de outubro de 1997**.Aprova o Regulamento Técnico: Aditivos Alimentares- definições, classificações e emprego. Disponível em:< <http://www.anvisa.gov.br>>. Acessado em:05/01/2017.

_____. Ministério da Saúde. **Guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006b.Disponível:< <http://www.anvisa.gov.br>>. Acessado em: 07/01/2017.

CABRERA, G.L; RODRIGUEZ, D.M.G 1999. **Genotoxicity of soil from farmland irrigated with wastewater using three plant bioassays**.*Mutat Res.* 426:211-214.

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. <http://dx.doi.org/>.

CANTORI, A. M.; SORDI, M. F; NAVARRO, A. C. Conhecimento sobre ingestão de suplementos por frequentadores de academias de duas cidades diferentes no sul do Brasil. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva, São Paulo**, Vol. 3, n. 15, p. 172-181 2009.Disponívelem:<<http://www.rbne.com.br/index.php/rbne/article/view/114/112>>.Acesso

em 03.dez.2016.

CARITÁ, R.; MARIN-MORALES, M.A. Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes. **Chemosphere**, v.72, n.5, p.722-725, 2008.

CARVALHO, F. R.; et al. Are salty liquid food flavorings in vitro antitumor substances? **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 88, n. 3, p. 1419-1430, 2016.

CAVICHIOLO, B; ABOURIHAN, C. L. S, PASSONI, C.M.S. **Monitoramento da administração de um suplemento como coadjuvante na perda de peso**. Cad. da Esc. de Saúde. 2012;1(7): 90-110.

– DSBME. Modificações dietéticas, reposição hídrica, suplementos alimentares e drogas: comprovação de ação ergogênica e potenciais riscos para saúde. **Rev. Brás MedEsporte**, v. 9, n. 2, p. 43-56, 2003.

ERNANDEZ, F. M.P. G.; CRUZ, C.H.G. **Levana Bacteriana: aspectos tecnológicos, características e produção**. Seminário: Ciências Agrárias.v.26, n.1, p.69-80, jan. /mar.2005.

FERNANDES, T. C. C, MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, M. A. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *A. cepa* exposed to trifluralin herbicide. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego. v. 88, n. 3, p. 252-259, 2007.

FERNANDES, C; GOMES, J. M; NAVARRO, F. Utilização de suplementos por praticantes de atividade física na cidade de São Paulo e região. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva, São Paulo** v. 3, n. 13, p. 05-12, Janeiro/Fevereiro, 2009.

FERMINO, R. C; PEZZINI, M. R; REIS, R. S. Motivos para Prática de Atividade Física e Imagem Corporal em Freqüentadores de Academia. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**.vol.16, Num.1. p.20-22.2010.

FERREIRA, U.M.G.et al. Esteroides Anabólicos Androgênicos. **Revista Brasileira em Promoção da saúde**. Vol.20.num.004.p.267-275, 2007.

FONINI, R.B. **Descrição e Implicância do Uso de Esteroides Anabólicos Androgênicos sobre o Organismo Humano**.2008. Disponível em <http://www.alesde.ufpr.br/encontro/trabalhos/44.pdf>.

GOMES, K. M. S; OLIVEIRA, M. V. G. A., CARVALHO, F. R. S., MENEZES, C. C., & PERON, A. P. (2013). **Citotoxicity of food dyes sunset yellow (E-110), bordeaux red (E-123), and tatzazine yellow (E-102) on *Allium cepa* L. root meristematic cells**. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 33(1), 218-223.

GOSTON, J. L. **Prevalência do uso de suplementos nutricionais entre praticantes de atividade física em academias de Belo Horizonte: fatores associados**. 2008. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Farmácia da UFMG, Belo Horizonte, 2008.

GOSTON, J.L.; CORREIA, M. I. T.D. Suplementos Nutricionais: Histórico, Classificação, Legislação e uso em Ambiente Esportivo. **Revista Nutrição em Pauta, São Paulo**, v.17, n.98,set./out.2009.Disponivelem:<http://www.janainagoston.com.br/arquivos/artigos/09_ESPORTE_2a_via.pdf>.Acesso em:15 dez.2016.

GOUVEIA, F. **Indústria de alimentos: no caminho da inovação e de novos produtos.** Inovação UNIMEP, v.2, n. 5, p. 32-37,2006.

GULTEKIN, F; DOGUC, D. K., & KULAC, E. (2013). **Effects of maternally exposed coloring food additives on receptor expressions related to learning and memory in rats.** *Food Chemical and Toxicology*, 56(1), 145-148.

HERNANDES, A. J; NAHAS, R. M. Modificações dietéticas, reposição hídrica, suplementos alimentares e drogas: comprovação de ação ergogênica e potenciais riscos para a saúde. **Rev. Bras. Med. Esporte.** Vol. 15, n. 3. 2009.

HERRERO, O.; MARTÍN, J.P.; FREIRE, P.F.; LÓPEZ, L.C.; PEROPADRE, A. Y; HAZEN, M.J. **Toxicological evaluation of three contaminant of emerging concern by use of *Allium cepa* test.** Mut Res. 743: 24-34, 2011. Doi: 10.1016/j.mrgentox.2011.12.028.

HIRSCHBRUCH, M. D; CARVALHO, J. R. **Nutrição esportiva: uma visão prática.** 2ª ed. Manole. 2008.

IRIART, J. A; CHAVES, J. C.; ORLEANS, R. G. Culto ao corpo e uso de anabolizantes entre praticantes de musculação. **Caderno de Saúde Pública. Rio de Janeiro.** V. 25. n. 4. p. 773-782. 2009.

KRISHNA, K. A; GOEL, S., & KRIHNA G. (2014). **SAR genotoxicity and tumorigenicity predictions for 2-MI and 4-MI using multiple SAR software.** *Toxicology mechanisms and methods*, 24(4), 284-293.

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, Rio de Janeiro, v. 89, n. 3 p.1147-1150, 2014. <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201420130163>.

LONGHIN, S. R. **Estudo da degradação dos antibióticos beta-lactâmicos amoxicilina e ampilicina e avaliação da toxicidade e biodegradabilidade dos seus produtos.** Tese de Doutorado submetida ao Programa de Doutorado em Química, do Instituto de Química da Universidade de Brasília. 2008.

MAGALI, R.F. **A leitura de rótulo de produto alimentício na escola.** 2006.101f.Dissertação (Mestrado em Linguística aplicada). Universidade de Taubaté. Taubaté.2006.

MARINHO, A. **Caderno Jornal da Família.** O Globo, Rio de Janeiro, out. 1994.

MARQUES, GLEUVÂNIA; DANTAS, ELLIFRAN BEZERRA DE SIQUEIRA; Lima, Leonardo Henrique Guedes de Moraes; PERON, Ana Paula. Ação do suco do fruto de

Morinda citrifolia L. em células de sistema-teste vegetal. *Biotemas (UFSC)*, v. 27, p. 143-146, 2014.

MEDEEIRO, R. A. et al. **Determinação voltamétrica de ciclamato de sódio em produtos dietéticos empregando um eletrodo de diamante dopado com boro.** *Quim. Nova*, vol. 31, No. 6, 1405-1409, 2008.

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

MILANI, V. C; TEIXEIRA, E. L; MARQUEZ, T. B. Fatores Associados ao Consumo de Suplementos Nutricionais em Freqüentadores de Academias de Ginástica da Cidade de Nova Odessa. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva, São Paulo**, v. 8, n. 46, p. 264-278. Jul./ago, 2014.

MORE, S.S.; RAZA, A.; VINCE, R. The butter flavorant, diacetyl, forms a covalent adduct with 2-deoxyguanosine, uncoils DNA, and leads to cell death. *J. Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2012; 60:3311-17. DOI: 10.1021/jf300180e.

MOURA, A.G.; SANTANA, G.M.; FERREIRA, P.M.P.; SOUSA, J.M.C.Y. PERON, A.P. **Cytotoxicity of Cheese and Cheddar Cheese food flavorings on Allium cepa L root meristems.** *Braz J Biol*. 76(2): 439-443, 2016. Doi: 10.1590/6484.20514.

NEVES, E.S.; FERREIRA, P.M.P.; LIMA, L.H.Y; PERON, A.P. **Action of aqueous extracts of Phyllanthus niruri L. (Euphorbiaceae) leaves on meristematic root cells of Allium cepa L.** *An Acad Bras Ciên*. 86(3): 1131-1137, 2014. Doi: 10.12662/2317-3076jhbs.v1i1.14. p27.201378.

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.

RAJIV, S.; et al. Comparative cytotoxicity and genotoxicity of cobalt (II, III) oxide, iron (III) oxide, silicon dioxide, and aluminum oxide nanoparticles on human lymphocytes in vitro. **Human & Experimental Toxicology**, v. 35, n. 2, p. 170-183, 2016.

SABA, F. **Mexa-se: atividade física, saúde e bem-estar.** 3. edição. São Paulo: Phorte, 2011.

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.

SALES, I.M.S.; et al. **Acute Toxicity of Grape, Plum and Orange Synthetic Food Flavours Evaluated in in vivo Test Systems.** *Food Technology and Biotechnology*, v. 55. n. 551, 2017.

SANTANA, G.M.; et al. Antimitotic and antimutagenic action of the *Hymenaea stigonocarpa* bark on dividing cells. **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, n. 2, p. 520 – 525, 2016.

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.

SCHVARTSMAN, S. **Aditivos alimentares**. *Pediatria*, São Paulo, v. 4, n. 3, p. 202 - 210, 1982.

SENGAR, G., & SHARMA, H. K. (2014). **Food caramels: a review**. *Journal of food science and technology*, 51(9), 1686-1696.

SILVA, S. I. O., SANTANA, G. M., SALES, I. M. S., de CASTRO, J. M., & PERON, A. P. (2016). Toxicidade em nível celular de aromatizantes alimentares associados entre si em diferentes doses. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 38(1), 77-84.

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

TABREZ, S.; SAHKIL, S.; UROOJ, M.; DAMANORI, G.A.; ABUZENADAH, A.M. y **Ahmad D. Genotoxicity testing and biomarker studies on surface water: an over view of the techniques and their efficacies**. *J Environ Sci Health* 29(3): 250-275, 2011. Doi: 10.1080/10590501.2011.601849.

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.

VAN EYK, A.D., et al. **The effect of five artificial sweeteners on Caco-2, HT-29 and HEK-293 cells**. *Drug Chem. Toxicol.* 2015;38(3):318-327. Doi:10.1080/01635581.2012.683227.

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.:593-598. 2013.

VICENTINI, V.E. P; CAMPAROTO, M. L; TEIXEIRA, R. O; MANTOVANI, M. S **Averrhoa carambola L., Syzygium cumini (L.) Skeels and Cissus sicyoides L.: medicinal herbal tea effects on vegetal and test systems**. *Acta Scientiarum.* 23: 593-598.2001.

VIGGIANO, C. E. Dietas da moda. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, n. 12, ano III, abr./jun., p. 55-56, 2007.

WU, L., et al. **Identifying critical factors influencing the use of additives by food enterprises in China**. *Food Control*, v.31, n.2, p.425-432, June, 2013.

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 Chemical and Toxicology*, v. 46, n. 8, p. 2928-2933, 2008. DOI:10.1016/J.FCT.2008.06.001.



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

Identificação do Tipo de Documento

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

Eu, Clidiane Jesya dos Santos Vilela,
 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
Toxicidade celular de produtos diet. obtidos por microingredientes, alit-
monários sintéticos, utilizados como auxiliadores na redução de peso
 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 26 de abril de 2017.

Clidiane Jesya dos Santos Vilela
 Assinatura

Clidiane Jesya dos Santos Vilela
 Assinatura