



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

ROMÁRIO BARROS DA ROCHA

**TOXICIDADE CELULAR DE AROMATIZANTES ALIMENTARES SINTÉTICOS
IDÊNTICOS AOS NATURAIS, AVALIADOS INDIVIDUALMENTE E EM
COMBINAÇÃO**

PICOS – PI

2017

ROMÁRIO BARROS DA ROCHA

**TOXICIDADE CELULAR DE AROMATIZANTES ALIMENTARES SINTÉTICOS
IDÊNTICOS AOS NATURAIS, AVALIADOS INDIVIDUALMENTE E EM
COMBINAÇÃO**

Monografia submetida à Universidade Federal do Piauí, Campos Senador Helvídio Nunes de Barros, como requisito parcial para a obtenção do grau de licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador(a): Profª Drª Ana Paula Peron

PICOS - PI

2017

FICHA CATALOGRÁFICA

Serviço de Processamento Técnico da Universidade Federal do Piauí

Biblioteca José Albano de Macêdo

R672t Rocha, Romario Barros da.

Toxicidade celular de aromatizantes alimentares sintéticos idênticos aos naturais, avaliados individualmente e em combinação / Romario Barros da Rocha.– 2017.

38 f.

CD-ROM : il.; 4 ¾ pol.

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

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

1. Aromatizantes Alimentares. 2. Citotoxicidade. 3. Divisão Celular - Alimentos. I. Título.

CDD 581.4

Romário Barros da Rocha

**TOXICIDADE CELULAR DE AROMATIZANTES ALIMENTARES SINTÉTICOS
IDÊNTICOS AOS NATURAIS, AVALIADOS INDIVIDUALMENTE E EM
COMBINAÇÃO**

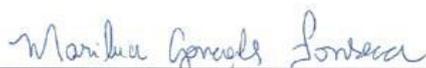
Monografia apresentada ao curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Piauí, Campus Senador Helvídio Nunes de Barros, como requisito parcial para a obtenção do grau de Licenciado em Ciências Biológicas.

Monografia aprovada em 13 / 07 / 2017

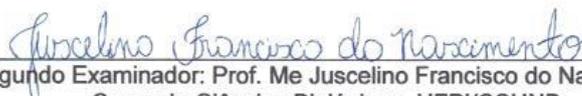
BANCA EXAMINADORA



Orientadora: Profa. Dra. Ana Paula Peron
Curso de Ciências Biológicas – UFPI/CSHNB



Primeira Examinadora: Profa. Dr Mariluce Gonçalves Fonseca
Curso de Ciências Biológicas- UFPI/CSHNB



Segundo Examinador: Prof. Me Juscelino Francisco do Nascimento
Curso de Ciências Biológicas- UFPI/CSHNB

A minha família, em especial a minha mãe, que sempre me educou e ensinou que a educação é o bem mais precioso que uma pessoa possa ter.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me concedido esta dádiva, uma formação acadêmica, e este, sendo onisciente e conhecedor do meu ser, conhece tudo que tive e terei que superar ao longo dessa jornada, e por toda a sabedoria que sempre roguei em minhas orações, para discernir o melhor caminho a ser trilhado. Sou consciente que sem a intervenção deste em minha vida pessoal e profissional, não teria conseguido concluir com êxito mais esta etapa da minha formação profissional.

Ao meu pai Antônio e a minha mãe Elza que não mediram esforços para que pudesse ter todas as condições de permanecer durante esses quatro anos e meio na graduação e por terem todas as virtudes que engrandece um ser humano, por serem sempre meu espelho, por terem me ensinado a semear boas sementes para que pudesse ter uma boa colheita, enfim, obrigado por todo o suporte, amor, ensinamento, encorajamento, carinho e paciência que tiveram para comigo desde o jardim de infância até a graduação.

As minhas duas irmãs Raquel Barros e Rafaela Barros, que além de suportar meu mau humor nos momentos difíceis da vida, sempre me auxiliaram nos diversos afazeres, as quais amo muito e desejo toda a felicidade que um ser possa experimentar. A meus avós paternos Antônio Barros da Rocha Filho e Jovina de Carvalho Rocha, a qual se encontra na eternidade e maternos Albertino Manoel de Sousa e Jovita de Carvalho Sousa, a qual se encontra na eternidade, pelo apoio moral.

A minha orientadora prof^a Dr^a Ana Paula Peron, a qual estimo muito, pela paciência, atenção e colaboração para o desenvolvimento deste trabalho, a todos os professores da UFPI que colaboraram para minha formação, a todos os meus colegas e amigos universitários em especial Railson, Kuenia, Jéssica, Michele, Daniela, Clarice, Henrique, Janiela, Jailson, a meus amigos de laboratório, Fabelina, Eduarda, Karielle, João Paulo, Valtania, Tamires, Ana Paula, Joice e Andreza, que trabalharam comigo e contribuíram de forma significativa para o desenvolvimento desse trabalho.

MUITO OBRIGADO!

O único lugar onde o sucesso vem
antes do trabalho é no dicionário.
(Albert Einstein)

RESUMO

No presente trabalho objetivou-se analisar a toxicidade em nível celular promovida por aromatizantes alimentares sintéticos, do tipo idêntico ao natural de avelã, banana e cereja. Esta avaliação se deu por meio das células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* (cebola), na qual os aromatizantes alimentares foram tratados. Esses aromatizantes, foram avaliados de forma individual e associados entre si, nas doses de 0,1, 0,2 e 0,4 ml e nos tempos de exposição de 24 e 48 horas. Após o tratamento, as raízes foram fixadas, hidrolisadas, coradas e averiguadas em microscópio óptico em objetiva de 40x, onde se analisou para cada tempo de exposição e dose um total de 5000 células. A partir dos resultados verificou-se que os aromatizantes sintéticos artificiais idênticos aos naturais, avaliados em diferentes doses e tempos de exposição, individualmente e em associação foram citotóxicos e não genotóxico. O organismo de prova utilizado, possui excelentes propriedades cinéticas de proliferação, cromossomos grandes em números reduzidos ($2n=16$), que facilitou a detecção de aberrações celulares e difuso mitótico assim como a inibição de forma significativa da divisão celular do organismo teste utilizado. Estes resultados, apesar de preliminares, são muito importantes, visto que indicarão a necessidade de estudos mais minuciosos, a médio e longo prazo, em discrepantes sistemas testes sobre a avaliação dos efeitos tóxicos crônicos desencadeados por tais ingredientes.

PALAVRAS-CHAVE: aromatizantes alimentares, citotoxicidade, genotoxicidade, divisão celular, toxicidade, aberrações celulares.

ABSTRACT

This paper aimed at analyzing the toxicity at the cellular level promoted by synthetic food flavorings, of the type identical to the natural from hazelnut, banana and cherry. This evaluation was carried out by the meristematic cells of roots of *Allium cepa* (onion), in which the food flavorings were treated. These flavors were evaluated individually and associated with each other at doses of 0,1, 0,2 and 0,4 ml and at exposure times of 24 and 48 hours. After treatment, the roots were fixed, hydrolyzed, stained and examined under a 40x objective optical microscope, where a total of 5000 cells were analyzed for each exposure time and dose. From the results it was found that artificial synthetic flavorings identical to natural ones, evaluated at different doses and times of exposure, individually and in association were cytotoxic and non-genotoxic. The test organism used has excellent kinetic proliferation properties, large chromosomes in small numbers ($2n = 16$), which facilitated the detection of cellular and diffuse mitotic aberrations as well as significant inhibition of the cell division of the test organism used. These results, although preliminary, are very important, since they will indicate the need for more meticulous studies, in the medium and long term, in discrepant test systems on the evaluation of the chronic toxic effects triggered by such ingredients.

KEYWORDS: Food Flavorings, Cytotoxicity, Genotoxicity, Cell Division, Toxicity, Cellular Aberrations.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Aromatizantes utilizados.....	21
Figura 2 - Bulbos de <i>Allium cepa</i> em frascos com água destilada.....	23

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Doses individuais em <i>Allium cepa</i>	22
Quadro 2 – Doses associadas de forma igual em <i>Allium cepa</i>	22

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 01 – Índices mitóticos obtidos a partir de tecido meristemático de raízes de *Allium cepa* tratados com os aromatizantes alimentares sintéticos artificiais de Banana, Avelã e Cereja, nas doses de 0,1; 0,2 e 0,4 ml de forma individual25

Gráfico 02 – Índices mitóticos obtidos a partir de tecido meristemático de raízes de *Allium cepa* tratados com os aromatizantes alimentares sintéticos artificiais de Banana, Avelã e Cereja, nas doses de 0,1; 0,2 e 0,4 ml de forma associada25

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REFERÊNCIAL TEÓRICO	13
2.1 DEFINIÇÃO E FINALIDADES DOS ADITIVOS ALIMENTARES	13
2.2 CLASSIFICAÇÕES DOS ADITIVOS ALIMENTARES QUANTO A SUA ORIGEM E SEGURANÇA DE CONSUMO.....	14
2.3 JUSTIFICATIVA, VETO E ÓRGÃOS QUE REGULAM O EMPREGO DE ADITIVOS.....	15
2.4 TRANSTORNOS PROVOCADOS POR ADITIVOS ALIMENTARES E CLASSIFICAÇÃO DOS AROMATIZANTES QUANTO A SUA ORIGEM.....	16
2.5 SISTEMA TESTE.....	18
3 MATERIAIS E MÉTODOS	21
3.1 OBTENÇÃO DOS AROMATIZANTES ALIMENTARES	21
3.2 AROMATIZANTES.....	21
3.3 DEFINIÇÕES DAS DOSES	22
3.4 OBTENÇÕES DE CÉLULAS MERISTEMÁTICAS DE RAÍZES DE <i>A. CEPA</i> PARA A ANÁLISE CITOGENÉTICA	23
3.5 PREPARO E LEITURA DAS LÂMINAS, E ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	24
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
CONCLUSÃO	30
REFERÊNCIAS	31

1 INTRODUÇÃO

Os aditivos de aroma e sabor, devido as suas propriedades odoríferas e sápidas, proporcionam e/ou intensificam o aroma e o sabor dos alimentos sem o propósito de nutrir (ALBUQUERQUE et al., 2012). São classificados como naturais, sintéticos idênticos aos naturais e sintéticos artificiais de reação ou transformação (TURCI et al., 2014). Possuem formulação química complexa, constituída por onze classes de compostos – os diluentes, antioxidantes, antiespumantes, conservantes, emulsificantes, estabilizantes, reguladores de acidez, realçadores de sabor, antiemectantes, antiaglutinantes, corantes e solventes de extração e processamento – e aceita em âmbito mundial pelas agências regulamentadoras *Codex Alimentarius commission*, *Food and Drug Administration (FDA)*, *Flavour and Extrac Manufactuers Association (FEMA)*, e nacionalmente pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2007; OLIVEIRA et al., 2013). No entanto, estes órgãos reguladores, em seus documentos técnicos, não explicitam quais compostos em específico e suas concentrações, o índice de Ingestão Diária Aceitável (IDA) e as doses limites toleráveis dos aromatizantes para cada tipo de alimento (GOMES et al., 2013; MARQUES et al., 2015).

Dessa forma, HONORATO et al., (2014) relatam que a utilização destes aditivos suscita dúvidas quanto a sua toxicidade em nível sistêmico e celular, e declaram ser urgente a realização de pesquisas que avaliem seus potenciais toxicológicos. Em consonância as observações feitas por estes pesquisadores, as agências regulamentadoras *Codex Alimentarius Commission*, *Federal Emergency Management Agency (FEMA)* (KONISHI et al.,2014) e ANVISA (BRASIL, 2007, SALES et al., 2017) relatam em seus arquivos a necessidade constante de estudos toxicológicos de efeito agudo envolvendo os aditivos alimentares em geral. Os resultados destas pesquisas são muito importantes, visto que indicarão ou não a necessidade de estudos sobre a avaliação dos efeitos tóxicos crônicos desencadeados por tais ingredientes. Citam ainda, que estas avaliações são a base de elaboração ou modificação de estratégias das agências reguladoras e, conseqüentemente, de atuação dos profissionais responsáveis pela vigilância alimentar e nutricional da população.

Os bioensaios vegetais são considerados bastantes sensíveis e simples no monitoramento dos efeitos citotóxicos de compostos químicos (USEPA) (HERRERO et al., 2012; LACERDA et al., 2014) e a *Allium cepa*, (cebola), por meio da região meristemática de suas raízes é tida no meio científico como um eficiente organismo teste para a avaliação de toxicidade aguda em nível celular (CARITÁ; MARIN-MORALES, 2008; CARDOSO et al., 2014). Este organismo de prova possui excelentes propriedades cinéticas de proliferação, cromossomos grandes e em número reduzido ($2n=16$) o que facilita a detecção de aberrações celulares e de fuso mitótico (HERRERO et al., 2012; NEVES et al., 2014). Também permite a verificação de alterações no índice de divisão celular (índice mitótico) quando exposto a compostos químicos com potencial ação citotóxica (LEME et al., 2008; TABREZ et al., 2011).

Com base no contexto abordado, objetivou-se neste trabalho avaliar, em meristemas de raízes de *A. cepa*, individualmente e associados entre si, a citotoxicidade e a genotoxicidade de três aromatizantes alimentares sintéticos, classificados na indústria de alimentos como idênticos aos naturais, de banana e cereja presentes em balas, chicletes, gomas, sorvetes, gelatina e refrigerantes, e de avelã, encontrado em massas para bolos e em biscoitos industrializados.

2 REFERÊNCIAL TEÓRICO

2.1 DEFINIÇÃO E FINALIDADES DOS ADITIVOS ALIMENTARES

No passado os alimentos eram produzidos e consumidos na mesma região ou em regiões circunvizinhas àquelas de produção. Com o aumento da população mundial, houve a necessidade de transportar alimentos para regiões distantes daquelas de produção, sendo indispensável a adição de aditivos e conservantes objetivando manter a integridade dos alimentos (AISSA, 2010).

A preservação dos alimentos sempre foi uma necessidade. Os aditivos alimentares, em função de suas propriedades, foram utilizados pelas antigas civilizações na conservação de peixes e carnes com sal e também para melhorar o sabor dos alimentos com ervas e temperos. Na atualidade, devido a raridade em encontrar alimentos desprovidos de aditivos e por serem substâncias químicas que são adicionadas intencionalmente aos alimentos, e que podem desencadear reações adversas como qualquer outra droga, é de extrema importância o conhecimento de suas propriedades, garantindo, assim, o uso adequado e seguro (AUN et al., 2011).

Durante muito tempo os aditivos foram utilizados para conferir o sabor, a cor e prolongar o prazo de validade dos produtos alimentícios, entretanto 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, em razão de seus possíveis efeitos danosos à saúde (FDA, 2011).

No Brasil, a ampliação do mercado consumidor nos últimos anos deveu-se a abertura da economia e a estabilização monetária. Ao mesmo tempo em que o poder aquisitivo aumentou, o preço real dos alimentos industrializados declinou, favorecendo principalmente a maior participação dos estratos sociais de menor renda. De maneira geral, à medida que aumenta a renda *per capita* de um país, aumenta o grau de sofisticação no consumo de alimentos, optando-se pelos mais elaborados, como os alimentos industrializados. Os alimentos industrializados vem ao longo do tempo ganhando espaço na mesa do consumidor. Além da estabilidade

econômica, outros fatores como o trabalho da mulher fora do lar, maior praticidade, rapidez, durabilidade e boa aceitação do produto vêm contribuindo cada vez mais para a introdução e manutenção de alimentos industrializados nos hábitos alimentares de consumidores de diferentes faixas etária (AQUINO; PHILIPPI, 2002).

De acordo com a Portaria nº 540 – SVS/MS, de 27 de outubro de 1997 aditivo alimentar “é qualquer ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos, sem o propósito de nutrir, mas com o objetivo de alterar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais durante a fabricação, processamento, preparação, tratamento, embalagem, acondicionamento, armazenagem, transporte ou manipulação de um alimento. Ao agregar-se poderá resultar em que o próprio aditivo ou seus derivados se convertem em um componente de tal alimento. Esta definição não inclui os contaminantes ou substâncias nutritivas que sejam incorporadas ao alimento para manter ou melhorar suas propriedades nutricionais (BRASIL, 1997).

2.2 CLASSIFICAÇÕES DOS ADITIVOS ALIMENTARES QUANTO A SUA ORIGEM E SEGURANÇA DE CONSUMO

Tecnologicamente, os aditivos alimentares exercem um papel de grande relevância para o desenvolvimento de alimentos. Entretanto, o consumo deles vem provocando preocupação nas pessoas e conseqüentemente fazendo com que fiquem mais cuidadosas com a segurança alimentar. Dos diversos componentes relativos à segurança alimentar, os aditivos situam-se entre os mais polêmicos (VARELA; FISZMAN, 2013). Estes aditivos, ainda que possuam um baixo custo de produção e confirmam uma durabilidade maior aos alimentos, provocam controvérsias em relação a sua ação no organismo, e são assinalados como causadores de reações adversas (SAYED et al., 2012).

A fim de se identificarem os eventuais efeitos nocivos de um aditivo alimentar ou dos seus derivados, o aditivo deve ser submetido a ensaios e a uma avaliação de toxicidade adequada. Todos os aditivos alimentares devem ser mantidos sob observação constante e serem reavaliados sempre que for necessário, considerando as variações das condições de utilização e de quaisquer novos dados científicos (BAPTISTA, 2013).

No princípio os aditivos alimentares eram de origem natural, e com o transcorrer do tempo os aditivos sintéticos foram paulatinamente sendo introduzidos até se tornarem predominantes. Atualmente, centenas de aditivos artificiais ou naturais, são utilizados na indústria alimentícia. O uso de substâncias provenientes de plantas e animais tem aumentado devido o recente interesse em produtos naturais (AISSA,2010). A genotóxicidade é uma área da genética que estuda os processos inerentes as alterações que ocorrem na base genética da vida, e estas podem tanto ser em sua estrutura físico-química, o DNA, processo classificado como mutagênese, quanto na alteração determinismo genético celular ou orgânico, identificados, respectivamente, como carcinogênese e teratogênese (HONORATO et al., 2013).

2.3 JUSTIFICATIVA, VETO E ÓRGÃOS QUE REGULAM O EMPREGO DE ADITIVOS

No Brasil, é de incumbência do Ministério da Saúde MS, em particular à Comissão Permanente de Aditivos para Alimentos, estabelecer a legislação nacional para esse assunto. Tomando como base o resultado de pesquisas internacionais e as recomendações do Codex Committee on Food Additives and Contaminants (CCFAC) do JECFA, a Comissão define e fiscaliza o emprego de aditivos pela indústria nacional. O emprego de aditivos é justificado por razões tecnológicas, sanitárias, nutricionais ou sensoriais sempre que forem utilizados aditivos autorizados em concentrações tais que sua ingestão diária não supere os valores de Ingestão Diária Aceitável (IDA) recomendados, da mesma forma devem atender as exigências de pureza estabelecidas pela *Food and Agriculture Organization (FAO)* e *World Health Organization (WHO)* ou pelo *Food Chemicals Codex*. O uso de aditivos é proibido quando: houver evidências ou suspeita de que eles não sejam seguros para consumo humano; interferir sensível e desfavoravelmente no valor nutritivo do alimento; servir para encobrir falhas no processamento e/ou nas técnicas de manipulação; encobrir alteração ou adulteração da matéria-prima ou do produto já elaborado ou quando induzir o consumidor a erro, engano ou confusão (FAVERO et al., 2011).

2.4 TRANSTORNOS PROVOCADOS POR ADITIVOS ALIMENTARES E CLASSIFICAÇÃO DOS AROMATIZANTES QUANTO A SUA ORIGEM

O desenvolvimento de câncer específico, tais como o de estômago, esôfago, cólon, reto, mama e ovário está intrinsecamente relacionado com a exposição a determinadas substâncias (nitratos e outros aditivos alimentares) encontradas na dieta humana. Com isso, verifica-se que as substâncias químicas sintéticas merecem uma atenção especial, pois estas podem desencadear o câncer, estando presente nos alimentos como aditivos ou contaminantes do ambiente, como os agrotóxicos. Alguns corantes sintéticos, como a eritrosina e a tartrazina, apresentam potencial carcinogênico. Essas substâncias contribuem para a incidência de câncer modificando o “*turn-over*” das células durante o seu crescimento normal ou no processo de hiperplasia regenerativa. Devido a seus possíveis efeitos mutagênicos e carcinogênicos, os corantes mais investigados atualmente são os do grupo Azo (amarelo tartrazina, amarelo crepúsculo e vermelho 40) (POLÔNIO et al., 2009).

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

Quanto a sua classificação, aromatizantes podem ser classificados em naturais ou sintéticos, e são substâncias ou misturas de substâncias com propriedades odoríferas e/ou sápidas, capazes de conferir ou intensificar o aroma e/ou sabor dos alimentos. Segundo a legislação vigente, aromatizantes naturais são aqueles obtidos a partir de matérias-primas aromatizante naturais através de processos físicos, microbiológicos ou enzimáticos. As matérias primas aromatizantes naturais, são os produtos provenientes de animal ou vegetal aceitáveis para o consumo humano, compostos por substâncias odoríferas e/ou sápidas. Já os aromatizantes sintéticos são identificados como compostos obtidos por processos

químicos compreendendo: os aromatizantes idênticos aos naturais e os aromatizantes artificiais (Brasil, 2007).

O sabor e o aroma dos mais diversos produtos são advindos de aromatizantes que possuem propriedades sensoriais. O aroma influencia diretamente em grande parte o sabor de um alimento e em meio a uma grande variedade de opções e novos alimentos surgindo no mercado, são as características diferenciais que vão determinar a aceitação do produto pelo consumidor. O sabor e o aroma de alimentos industrializados são fornecidos por aromatizantes, que os aproximam ao máximo dos produtos naturais aumentando assim a aceitação do consumidor (HONORATO et al., 2013).

A substituição de alimentos *in natura* pela população brasileira por alimentos processado vem contribuindo de forma contundente para o empobrecimento da dieta, e isso tem atraído a atenção dos órgãos reguladores e da comunidade científica como um todo. No âmbito mundial, a avaliação de aditivos alimentares é baseada no controle das IDAs (Ingestão Diária Aceitável), desenvolvida pelo Comitê de Expertos em Aditivos Alimentares da Organização Mundial da Saúde (OMS)/Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) [The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives – JECFA]. Estudos incessantes concernentes a aditivos alimentares são imprescindíveis na atualidade, em virtude das reações adversas que podem causar, quer seja aguda ou crônica, tais como reações tóxicas no metabolismo desencadeantes de alergias, de alterações no comportamento, em geral, e carcinogenicidade, esta última observada a longo prazo. (POLÔNIO et al., 2009).

Para que haja a determinação dos eventuais efeitos maléficos de um aditivo alimentar ou dos seus derivados, este deve ser submetido a ensaios e a uma avaliação de toxicidade adequados. E ao ser avaliados deve-se considerar, por exemplo, qualquer efeito cumulativo, sinérgico ou de potencialização resultante de seu uso, bem como a intolerância humana às substâncias estranhas ao organismos. Desta forma, todos os aditivos alimentares devem ser mantidos sob observação constante e serem reavaliados sempre que for necessário, considerando as variações das condições de uso e de quaisquer novos dados científicos. (BAPTISTA; VENÂNCIO, 2003).

Segundo Gouveia (2006) O mercado de aditivos alimentares é rentável e o mercado brasileiro de ingredientes e aditivos fatura anualmente entre R\$ 1,5 bilhão e R\$ 2 bilhões, sendo que os aromas representam 50% desse faturamento e o restante agrega todos os outros ingredientes e aditivos. Os aditivos alimentares se tornaram virtualmente obrigatórios na alimentação moderna, devido a sua capacidade de manter a qualidade e a validade dos alimentos vendidos em supermercados. Entretanto, há estudos que associam a utilização inadequada desses componentes a efeitos adversos à saúde, como o aparecimento de câncer, alergias e outras enfermidades.

Em virtude da necessidade de alimentos que possam conferir maior praticidade no consumo e ficar mais tempo nas prateleiras, e assim, aguardar a extração da matéria prima para a produção de mais alimentos, processo esse que requer tempo, os hábitos alimentares vem sofrendo modificações ao longo do tempo onde alimentos *in natura* estão sendo paulatinamente substituídos por alimentos industrializados. Esse fato tem gerado questionamentos e preocupações quanto a segurança do emprego de aditivos alimentares. Não foi encontrado na literatura relatos de toxicidades nos aromatizantes naturais, porém doses demasiadas de aromatizantes sintéticos foram relacionados a reações de irritabilidade e narcóticas podendo trazer problemas de retardo de crescimento infantil e câncer quando há uma exposição excessiva e prolongada dessas substâncias (FERREIRA, 2015).

2.5 SISTEMA TESTE

Segundo Leme; Marin Morales, (2009) o teste de *Allium cepa* desenvolvido por LEVAN (1938) é uma ferramenta útil para a pesquisa básica do potencial genotóxico e citotóxico de produtos químicos. Além disso, é um teste viável por possuir diversas características tais como: sensibilidade, baixo custo, rapidez, facilidade de manipulação e da utilização de amostras sem tratamento prévio, determinando-se a diminuição do índice mitótico e da formação de aberrações cromossômicas (HERRERO et al., 2012).

No meio científico região meristemática de raízes de *Allium cepa* (cebola) é tida como um eficiente bioensaio para a avaliação da toxicidade aguda em nível celular de compostos químicos em virtude de apresentarem número cromossômico

reduzido ($2n=16$), o que facilita a detecção de alterações cromossômicas e de fuso mitótico (LACERDA et al., 2014; NEVES et al., 2016).

Esse sistema teste é admitido internacionalmente por agências de pesquisa como um instrumento de avaliação de acurada sensibilidade para análise inicial da citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade de substância de interesse, uma vez que, os resultados obtidos por meio dele, em grande parte das vezes, demonstram similaridade satisfatória a aqueles obtidos em sistemas testes animais e culturas de células (TÜRKOĞLU, 2007; HERRERO et al., 2011; TABREZ et al., 2011; GOMES et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2013; LACERDA et al., 2014; NEVES et al., 2013; MOURA et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2016; SANTANA et al., 2016). Como exemplo pode-se citar os trabalhos realizados por OLIVEIRA et al. (2013) e GOMES et al., (2013) que avaliaram em células meristemáticas de raízes de *A. cepa* o potencial tóxico de aromatizantes e corantes alimentares sintéticos, respectivamente, e obtiveram resultados tal qual aos obtidos em sistemas testes animais e com culturas de células.

A utilização do bioindicador *Allium cepa* (cebola) para avaliação de citotoxicidade foi ratificado por muitos pesquisadores que realizaram de forma conjunta testes em animais in vivo, obtendo resultados similares (VICENTINI, 2001; TEIXEIRA et al., 2003), proporcionando informações valiosas para a saúde humana. E os padrões microscópicos estão relacionados à caracterização do índice mitótico, na análise na taxa de divisão celular, aberrações cromossômicas, como cromossomos em anel, pontes cromossômicas, cromossomos pegajosos, que ocorrem principalmente nas fases de metáfase e anáfase e a formação de micronúcleos, como indicadores de anormalidade no DNA (MONARCA et al., 2000).

O teste *Allium cepa* tem sido amplamente utilizada por conta da facilidade que este sistema teste possui para preparação e análise, pois contém células meristemáticas em constante divisão, tem cromossomos grandes e em pequena quantidade (16 cromossomos), além de ser facilmente corados e observados, permitindo a análise das alterações cromossômicas e os efeitos ou danos que podem causar agentes mutagênicos, é necessário que o sistema teste esteja em divisão mitótica constante, buscando identificar os efeitos tóxicos e alterações que ocorrem ao longo do um ciclo celular. (SILVA et al., 2003; KURÁS et al., 2006).

A *Allium cepa* é um organismo de fácil manipulação e, os dados obtidos por meio deste sistema teste são excelentes parâmetros de análise citotóxica, mutagênica e antimutagênica (SILVA, 2015). Esse bioensaio é considerado uma das abordagens mais eficientes e é rotineiramente empregado para determinar os efeitos tóxicos de compostos químicos no ambiente (LEME; MARIN-MORALES, 2009). Oliveira et al.(2013) e Gomes et al. (2013), estudando corantes alimentares demonstraram que os resultados de teste de toxicidade utilizando a espécie *A. cepa* ressaltam a importância deste sistema teste, pois o mesmo apresenta resultados semelhantes aos encontrados em outros ensaios, com isso mostra que são excelentes parâmetros de análise citotóxica, comprovando a importância desse sistema teste para análise citotóxica de aromatizantes artificiais.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Pesquisa I do Campus Senador Helvídeo Nunes de Barros da Universidade Federal do Piauí no período de janeiro de 2017 a julho de 2017.

3.1 OBTENÇÃO DOS AROMATIZANTES ALIMENTARES

Os aditivos de aroma e sabor, sintéticos idênticos aos naturais, foram obtidos de uma indústria de fabricação de aditivos alimentares localizada na região nordeste do Brasil, especializada na comercialização nacional e internacional de aditivos alimentares sintéticos.

3.2 AROMATIZANTES

Foram estudados 03 aromatizantes. Estes aditivos foram avaliados em três doses cada um, de forma individual e associados entre si em doses iguais (onde para dose de um aromatizante foi associada mesma dose de um dos outros dois aromatizantes).



Figura 1 – Aromatizantes utilizados

Fonte: Autoria própria, 2017

3.3 DEFINIÇÕES DAS DOSES

As doses estabelecidas neste trabalho foram 0,1, 0,2 e 0,4 ml para os testes em *Allium cepa*. Nos rótulos dos aromatizantes sugeria-se a utilização de 10 ml por quilo de produto final. Os bulbos de cebola selecionado para este experimento pesavam em média, 200 g. Assim, de forma proporcional ao recomendado nos frascos dos aditivos, foi definida inicialmente para este estudo a dose de 0,2 ml, obtida através da fórmula dos meios pelos extremos que é a dose normal. Em seguida, estabeleceu-se a dose menor e a dose maior, obtida, dividindo e multiplicando a dose normal por dois, sendo respectivamente, 0,1 e 0,4 ml. Estas dose foram analisadas individualmente e em associação, conforme descritos nos quadros 1 e 2.

Quadro 1 – Doses individuais em *Allium cepa*.

GRUPO DE TRATAMENTO: INDIVIDUAIS
BANANA 0,1 ml
BANANA 0,2 ml
BANANA 0,4 ml
CEREJA 0,1 ml
CEREJA 0,2 ml
CEREJA 0,4 ml
AVELÃ 0,1 ml
AVELÃ 0,2 ml
AVELÃ 0,4 ml

Quadro 2 – Doses associadas de forma igual em *Allium cepa*.

GRUPO DE TRATAMENTO: ASSOCIADAS EM DOSES IGUAIS
AVELÃ 0,1 ML / CEREJA 0,1 ml
AVELÃ 0,2 ML / CEREJA 0,2 ml
AVELÃ 0,4 ML / CEREJA 0,4 ml
AVELÃ 0,1 ML / BANANA 0,1 ml
AVELÃ 0,2 ML / BANANA 0,2 ml
AVELÃ 0,4 ML / BANANA 0,4 ml
BANANA 0,1 ML / CEREJA 0,1 ml
BANANA 0,2 ML / CEREJA 0,2 ml

BANANA 0,4 ML / CEREJA 0,4 ml

3.4 OBTENÇÕES DE CÉLULAS MERISTEMÁTICAS DE RAÍZES DE *A. CEPA* PARA A ANÁLISE CITOGENÉTICA

Os bulbos de cebola foram colocados em frascos aerados com água destilada, à temperatura ambiente ($\pm 27^{\circ}\text{C}$), até a obtenção de raízes de 2,0 cm de comprimento. Para análise de cada grupo tratamento foi estabelecido um grupo experimental com cinco bulbos de cebola. Antes de colocar as raízes em contato com os seus respectivos tratamentos, algumas raízes foram coletadas e fixadas para servirem de controle do próprio bulbo. Em seguida, as raízes restantes foram colocadas em suas respectivas soluções por 24 horas, procedimento este denominado de tempo de exposição 24 horas (TE 24 h).

Após 24 horas foram retiradas algumas raízes e fixadas. Feito este procedimento, as raízes restantes de cada cebola foram devolvidas as suas respectivas soluções onde permanecerão por mais 24 horas, o que se denomina de tempo de exposição 48 horas (TE 48 h). Após este período, raízes novamente foram coletadas e fixadas. Os TE 24 e 48 h foram escolhidos com o intuito de se avaliar a ação destes grupos tratamentos em mais de um ciclo celular. A fixação das raízes se dará em Carnoy 3:1 (etanol: ácido acético) por 24 horas. Em cada coleta, foram retiradas, em média, três raízes por bulbo.



Figura 2 - Bulbos de *Allium cepa* em frascos com água destilada

Fonte: Autoria Própria, 2017.

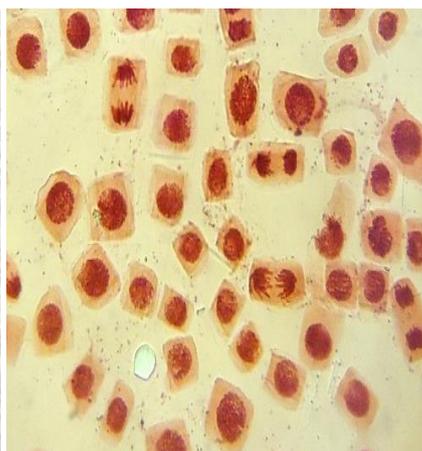
3.5 PREPARO E LEITURA DAS LÂMINAS, E ANÁLISE ESTATÍSTICA

As lâminas, em média 03 por bulbo, foram feitas seguindo o protocolo proposto por Guerra & Souza (2002), e analisadas em microscópio óptico em objetiva de 40x. Para cada bulbo de cebola foram analisadas 1.000 células, totalizando 5.000 células para o controle, TE 24h e TE 48h de cada grupo tratamento estudado.

Foram observadas células em interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase e calculado o número de células em interfase e em divisão de cada controle e tempo de exposição e para assim se determinar o índice de divisão celular ou índice mitótico (IM). Foram também a ação das doses por meio do número de células micronucleadas, de metáfases colchícinicas, pontes anáfasicas e telofásicas, ampliações gênicas, células com aderências, brotos nucleares e anáfases multipolares. A análise dos resultados obtidos foi realizada pelo teste do Qui-quadrado(χ^2) (programa Prisma versão 5.0, GraphPad (Software)).



Fonte: Aatoria própria



Fonte: Aatoria própria.



Células analisadas

Fonte: Aatoria própria

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base nos dados apresentados nos gráficos.

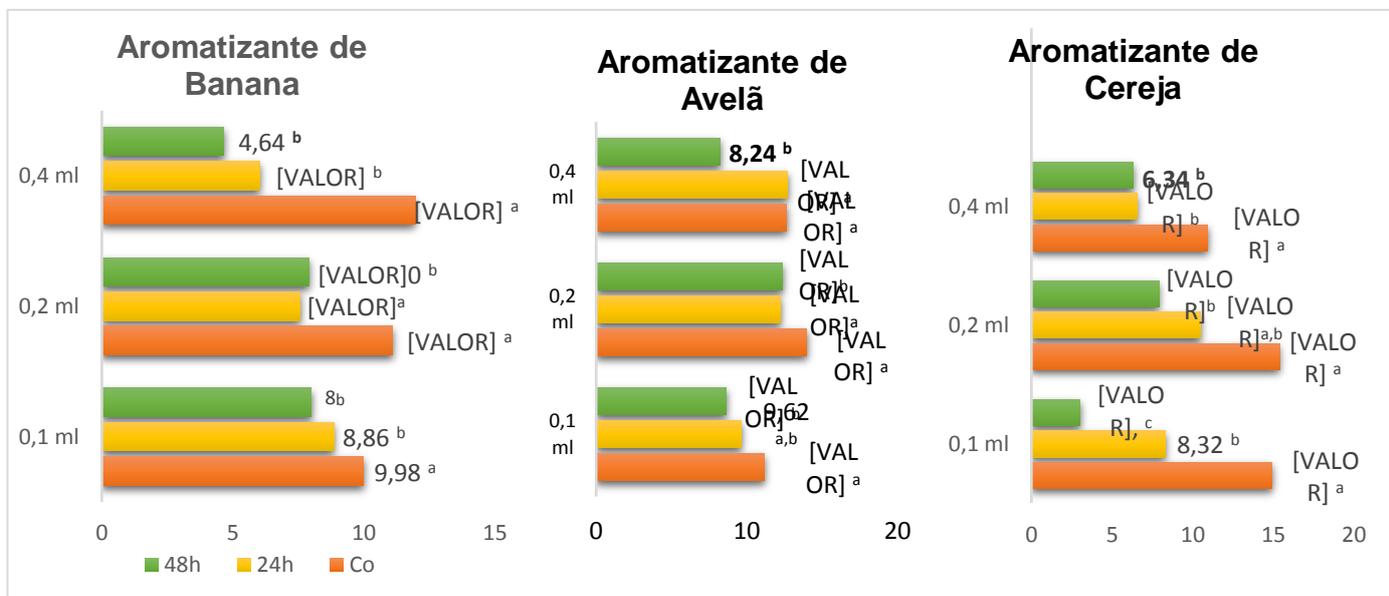


Gráfico 01 – Índices mitóticos obtidos a partir de tecido meristemático de raízes de *Allium cepa* tratados com os aromatizantes alimentares sintéticos artificiais de Banana, Avelã e Cereja, nas doses de 0,1; 0,2 e 0,4 ml de forma individual.

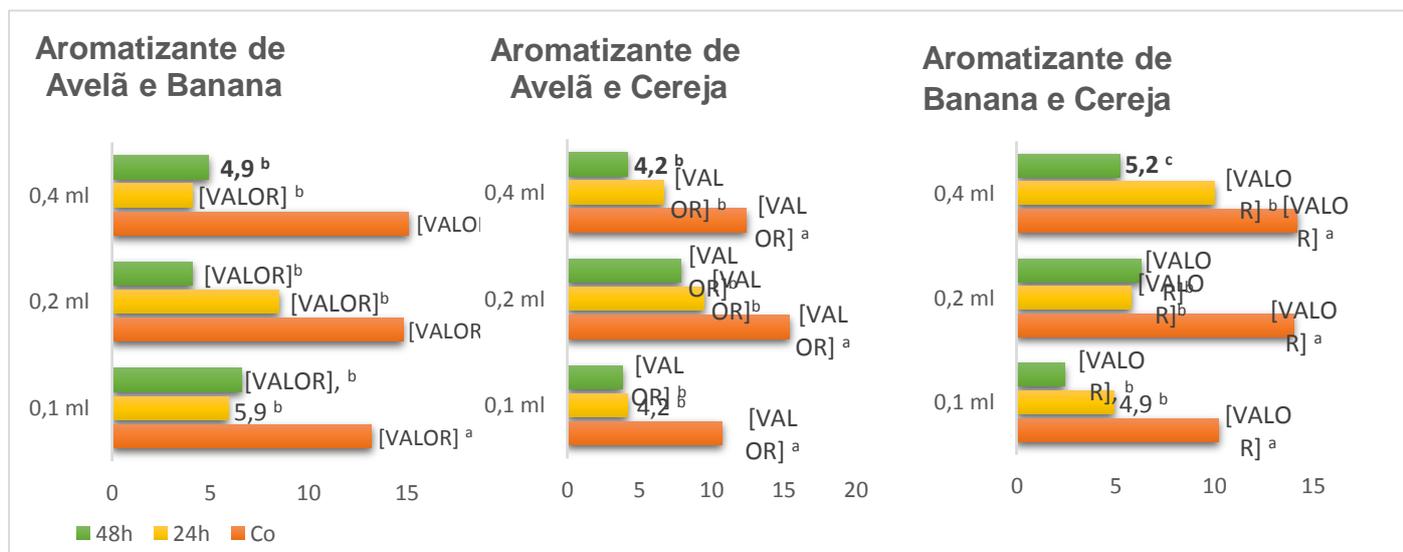


Gráfico 02 – Índices mitóticos obtidos a partir de tecido meristemático de raízes de *Allium cepa* tratados com os aromatizantes alimentares sintéticos artificiais de Banana, Avelã e Cereja, nas doses de 0,1; 0,2 e 0,4 ml de forma associada.

Os resultados apresentados no gráfico 01 mostram que os índices mitóticos obtidos para as células analisadas referentes as três doses do aromatizante de Banana foram significativamente menores que os índices de divisão celular obtidos para os seus respectivos controles. No entanto, os índices de divisão celular observados para o tempo de exposição de 48 horas das doses 0,1 e 0,4 ml deste aditivo foram estatisticamente menores que seus respectivos índices mitóticos no tempo de exposição de 24 horas. Diferentemente, o índice mitótico observado para o tempo de exposição de 48 horas da dose 0,2 ml do aditivo de Banana mostrou-se significativamente maior em relação ao seu específico índice de divisão celular no tempo de exposição de 24 horas. Dessa forma, o aromatizante de banana foi citotóxico.

Em relação ao aromatizante de Avelã (Gráfico 01), os índices mitóticos observados para as doses de 0,2 e 0,4 ml no tempo de exposição 24 horas, foram estatisticamente iguais ao índice mitótico obtidos para os seus respectivos controles. Já com relação a dose de 0,1 ml, considerando os tempos de exposição 24 e 48 horas confrontados com o controle, houve uma redução do índice mitótico. Diferentemente, quando confrontados os índices de divisão celular do tempo de exposição de 48 horas com o de 24 horas referente as doses 0,2 e 0,4 ml do aromatizante constatou-se que diferiram estatisticamente entre si, opondo-se a dose de 0,1 ml, que em relação aos tempos de exposição de 24 e 48 horas não tiveram uma redução significativa do índice mitótico. Portanto, o aditivo de Avelã foi citotóxico as células do organismo de prova utilizado.

Para o aditivo de Cereja (Gráfico 01), considerando as doses de 0,2 ml e 0,4 ml nos tempos de exposição 24 e 48 horas, houve uma redução idêntica do índice mitótico com relação ao controle. Na dose de 0,1 ml do aromatizante de Cereja, levando em conta o tempo de exposição 48 horas com relação ao de 24 horas, e este com relação ao controle, verificou-se uma redução do índice mitótico. Dessa forma, o aromatizante de Cereja foi citotóxico, pois o índice mitótico foi reduzido nas três doses.

No gráfico 02, os dados observados para os tratamentos decorrentes da associação entre as doses de Avelã e Banana mostraram que nos tratamentos 0,1 ml + 01 ml; 0,2 + 0,2 ml e 0,4 + 0,4 ml, os índices de divisão celular para o controle e para o tempo de exposição de 24 horas diferiram estatisticamente entre si. Em

contrapartida, nos tratamentos 0,1 ml + 0,1 ml; 0,2 + 0,2 ml e 0,4 + 0,4 ml, dos aromatizantes em associação, considerando o tempo de exposição 48 horas confrontado com o tempo de exposição 24 horas, não houve redução do índice mitótico, porém, confrontando aquele com o controle, detectou-se uma redução do índice de divisão celular. Assim, os tratamentos referentes as associações entre os dois aditivos aromatizantes promoveram, de forma significativa, efeito antiproliferativo aos meristemas analisados, mostrando-se, citotóxicos.

Para a associação entre o aromatizante de Avelã e o de Cereja, nas três doses, (0,1ml+0,1ml; 0,2ml+0,2ml; 0,4ml+0,4ml), houve uma redução do índice mitótico, quando comparados os tempos de exposição 24 e 48 horas com o controle. No entanto, quando comparado o tempo de exposição 48 com o de 24 horas nas três doses, verificou-se que o índice de divisão celular não foi reduzido significativamente. Assim, como o índice mitótico encontrado nos tempos de exposição aos tratamentos com relação ao controle, foi alterado significativamente, essa associação foi citotóxica.

O resultado obtido para a associação entre o aromatizante de banana e cereja, mostra que houve uma profunda redução dos índices mitóticos, quando comparados os dois tempos de exposição com o controle. Porém, os índices de divisão celular observados para o tempo de exposição de 48 horas nas doses 0,1+0,1 ml e 0,4 +0,4 ml deste aditivo foram estatisticamente menores que seus respectivos índices mitóticos no tempo de exposição de 24 horas, sendo mais acentuados no tempo de exposição de 48 horas na dose de 0,4+0,4 ml. Dessa forma, essa combinação se mostrou citotóxica

É importante destacar que os aromatizantes de maneira geral são considerados a classe de aditivos alimentares menos estudada do ponto de vista toxicológico, com ênfase aos aromatizantes doces, nos quais os trabalhos de toxicidade são praticamente inexistentes na literatura científica (HONORATO et al., 2013). Apesar de ainda serem considerados insuficientes por muitos pesquisadores, estudos de toxicidade em nível sistêmico com aromatizantes alimentares sintéticos salgados mostraram que, quando utilizados por tempo prolongado, podem desencadear hiperatividade em crianças com e sem déficit de atenção (STEVENS, 2013), diminuição significativa na concentração de hemoglobina no sangue, alterações drástica no funcionamento hepático e redução significativa no peso de

roedores (HANAN; MONAN, 2013), além de alergias, hipersensibilidade cutânea e má digestão em humanos (ANDERSON et al., 2013).

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

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

Diferentemente das informações dadas pela ANVISA (2007), Salinas (2002) declara que a utilização dos aromatizantes alimentares em geral, em baixas doses, não ocasiona risco a saúde humana. Em contrapartida, quando as doses são elevadas, este autor relata que os aromatizantes podem originar ações irritantes, narcóticas e toxicidade celular crônica a longo prazo, sempre que empregados em doses superiores as recomendadas. Entretanto, este autor, da mesma forma que a ANVISA, não especifica quais doses são consideradas altas ou baixas. Também não discrimina quais aromatizantes possuem esta ação e nem os organismos de prova utilizados na obtenção destas informações.

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

Portanto, o teste de *A. cepa* L foi um *screening* inicial de citotoxicidade para os aromatizantes de Banana, Avelã e Cereja e para uma melhor avaliação sobre a toxicidade destes aditivos é necessário a utilização de variados sistemas de

avaliação, sobretudo os que utilizam animais. Os resultados de toxicidade obtidos com outros sistemas de avaliação somados aos obtidos aqui neste trabalho serão de grande auxílio aos órgãos regulamentadores na definição ou redefinição do IDA destes aditivos.

CONCLUSÃO

Os aditivos de banana, avelã e cereja, tratados individualmente e em combinação, nos tempos de exposição de 24 e 48 horas, apesar de não serem genotóxico, pois nenhuma das doses avaliadas individualmente e em associação, causaram número de aberrações celulares significativo as células dos sistema teste utilizado, foram citotóxicos, evidenciando com isso, a necessidade de uma constante avaliação acerca dos aditivos alimentares que compõem os alimentos industrializados.

Os resultados encontrados neste trabalho, servem de alerta para os órgãos regulamentadores, quanto aos danos que os aditivos alimentares podem desencadear em células, como a inibição da divisão celular, enfatizando os aromatizantes utilizados neste estudo.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, M.V. SANTOS, S.A. CERQUEIRA, N.T. V. SILVA, J.A. Educação Alimentar: Uma Proposta de Redução do Consumo de Aditivos Alimentares. **Química Nova na Escola**, vol. 34, n 2, p. 51-57, jun 2012.
- AISSA, A. F. **Avaliação da atividade antimutagênica do beta-caroteno microencapsulado em células de ratos tratados com o antitumoral doxorubicina empregado os ensaios de micronúcleo e cometa**. São Paulo: Faculdade de ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo; 2010.
- ALVES, D. D. L.; OLIVEIRA, M. V. A.; LIMA, L. H. G. M.; SOUZA, J. M. D. C.; PERON, A. P. Citotoxicidade dos corantes alimentares Erythrosine (E-127), azul brilhante (E-133) e Red 40 (E-129) em sistema-teste vegetal, 2013.
- ANDERSON, S. E.; FRANKO, J. MEADE, B. J. Evaluation of the hypersensitivity potential of alternative butter flavorings. **Food Chemical Toxicology**, v. 62, p. 373-381, 2013.
- 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, p.655-660, 2002.
- 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.
- BAPTISTA, P.; VENÂNCIO, A. **Os perigos para a segurança alimentar o processamento de alimentos**. Forvisão – Consultoria em Formação Integrada. 1ed. 2003.
- BRASIL. Ministério da Saúde (Brasil). 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>>, acesso em 20 jun 2017.
- Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 2, de 15 de janeiro de 2007, Aprova Regulamento Técnico sobre “Aditivos Aromatizantes”. **Diário Oficial da União, Brasília**, DF, 17 de janeiro de 2007.
- CARDOSO, G. H. S.; DANTAS, E. B. S.; SOUSA, F. R. C.; PERON, A. P. Cytotoxicity of aqueous extracts of *Rosmarinus officinalis* L. (Labiatae) in plant test system. **Brazilian Journal of Biology**, v. 74, n. 4, p. 886-889, 2014.
- CARITÁ R; MARIN-MORALES M. A. Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes. **Chemosphere**, v. 72, 722 - 725, 2008.

FAVERO, D.M. Sulfitos: importância na indústria alimentícia e seus possíveis malefícios à população. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v 18 n 1, p.11-20,2011.

FERREIRA, F. S.; Aditivos alimentares e suas reações adversas no consumo infantil. *Revista da Universidade Vale do Rio Verde, Três Corações*, v. 13, n. 1, p. 397-407, 2015

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. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 33, p. 218-223, 2013.

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

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

HERRERO, O.; PEREZ, J. M. M; FERNÁNDEZ, P. F. Toxicological evaluation of three contaminant of emerging concern by use of *Allium cepa* test. **Mutation Research**, v. 743, n. 1-2, p. 24-34, 2012.

HONORATO, T. C.; SILVA, E. B. D.; PEREIRA, T. P.; NASCIMENTO, K. D. O. D. (2013). Aditivos alimentares: aplicações e toxicologia. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, (Mossoró-RN-Brasil) n. 8, v. 5, p. 01-11, dez., 2013.

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

KURAŚ, M.; NOWAKOWSKA, J.; SLIWIŃSKA, E.; PILARSKI, R.; ILASZ, R.; TYKARSKA, T.; ZOBEL, A.; GULEWICZ K. Changes in chromosome structure, mitotic activity and nuclear DNA content from cells of *Allium* test induced by bark water extract of *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. **Journal Ethnopharmacol**, v. 107, n. 2, p. 211–221, 2006.

LACERDA, L. P.; MALAQUIAS, G.; PERON, A. P. Antiproliferative action of aqueous extracts of *Hymenaea stigonocarpa* Mart. (Fabaceae) on the cell cycle of *Allium cepa* L. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 86, n. 3, p. 1147-1150, 2014.

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.

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. **Acta Scientiarum. Biological Science**, v. 35, n. 1, no prelo.

MONARCA., S.; FERETTI, D.; COLLIVIGNARELLI, C.; GUZZELA, L.; ZERBINI, I.; BERTANZA, G. E.; PEDRAZZANI, R. The influence of differentiated disinfectant on mutagenicity and toxicity of urban wastewater. **Water Research**, Londres, v. 34, n.17, p. 4261-4269, 2000.

NEVES, E. S.; FERREIRA, P. M. P.; LIMA, L. H.; PERON, A. P. (2014). Action of Aqueous Extracts of *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae) leaves on Meristematic Root Cells of *Allium cepa* L. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, (AHEAD), 00-00, 2014.

OLIVEIRA, M. V. A.; ALVES, D. D. L.; LIMA, L. H. G. M.; CASTRO, J. M. C.; PERON, A. P. Cytotoxicity of erythrosine (E-127), brilliant blue (E-133) and red 40 (E-129) food dyes plant test system. **Acta Scientiarum. Biological Science**, v. 35, n. 4, p. 557 – 562, 2013.

TABREZ, S.; SHAKIL, S.; UROOJ, M.; DAMANHORI, G. A.; ABUZENADAH, A. M.; AHMAD, M. Genotoxicity testing and biomarker studies on surface water: an overview of the techniques and their efficacies. **Environmental Carcinogenesis Ecotoxicology Review**, v. 29, n. 3, p. 250-275, 2011.

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

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

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

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.

SILVA, F. D. B. Potencial citotóxico, genotóxico e citoprotetor de extratos aquosos de *Caesalpinia pyramidalis* Tul., *Caesalpinia ferrea* Mart. e *Caesalpinia pulcherrima* Sw. **Revista Brasileira de Biociências**, R. bras. Bioci., Porto Alegre, v. 13, n. 2, p. 101-109, abr./jun. 2015.

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

TEIXEIRA, R. O.; CAMPAROTO, M. L.; MANTOVANI, M. S.; VICENTINI, V. E. P. Assessment of two medicinal plants, *Psidium guajava* L. and *Achillea millefolium* L., in vitro and in vivo assays. **Genetics and Molecular Biology**, v. 26, n. 4, p. 551-555, 2003

TURCI, S. R. B., FIGUEIREDO, V. C., & DA COSTA, V. L. A regulação de aditivos que conferem sabor e aroma aos produtos derivados do tabaco no Brasil. **Cadernos Ibero-Americanos de Direito Sanitário**, v. 3, n. 1, p. 44-67, 2014.

VALAVANIDIS A, VLACHOGIANNI A, FIOTAKIS K, LORIDAS S. Pulmonary oxidative stress, inflammation and cancer: respirable particulate matter, fibrous dusts and ozone as major causes of lung carcinogenesis through reactive oxygen species mechanisms. **Intern. J. Environ. Res. Publ. Health**, v. 10, n. 9, p. 3886-3907, 2013.

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.

VICENTINI, V. E. P. Averrhoacarambola L., Syzygiumcumini L. Skeels and CissussicyoidesL.: medicinal herbal tea effects on vegetal and test systems. **Acta Scientiarum**, v. 23, p. 593-598, 2001.

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

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

ZILIFDAR F, ALPER-HAYTA S, YILMAZ S, KAPLAN-ÖZEN Ç, FOTO E, AYDOĞAN Z. Genotoxic potentials and eukaryotic DNA topoisomerase I inhibitory effects of some benzoxazine derivatives. **Med. Chem. Res.** v. 23, n. 1, p. 480-486, 2014.



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

Identificação do Tipo de Documento

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

Eu, Romário Barros da Rocha,
 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 aromatizantes alimentares sintéticos
idênticos aos naturais, avaliados individualmente e em combinação
 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 07 de dezembro de 20 17.

Romário Barros da Rocha
 Assinatura

Romário Barros da Rocha
 Assinatura

