

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

AMANDA DE ALMEIDA DOS SANTOS

**CITOTOXICIDADE E GENOTOXICIDADE DO CORANTE ALIMENTAR AZUL
JEANS A TECIDO DE INTENSA PROLIFERAÇÃO CELULAR**

CAMPO MOURÃO

2022

AMANDA DE ALMEIDA DOS SANTOS

**CITOTOXICIDADE E GENOTOXICIDADE DO CORANTE ALIMENTAR AZUL
JEANS A TECIDO DE INTENSA PROLIFERAÇÃO CELULAR**

**Cytotoxicity and genotoxicity of blue jeans food dye to intense cell
proliferation tissue**

Trabalho de conclusão de curso de graduação
apresentada como requisito para obtenção do título de
Bacharel em Engenharia de Alimentos da Universidade
Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).
Orientador(a): Ana Paula Peron
Coorientador(a): Stephanie Benetti

CAMPO MOURÃO

2022



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

AMANDA DE ALMEIDA DOS SANTOS

**CITOTOXICIDADE E GENOTOXICIDADE DO CORANTE ALIMENTAR AZUL
JEANS A TECIDO DE INTENSA PROLIFERAÇÃO CELULAR**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação
apresentado como requisito para obtenção do título de
Bacharel em Engenharia de Alimentos da Universidade
Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 23 de novembro de 2022

Angela Maria Gozzo
Doutora em Engenharia de Alimentos
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Ana Paula Peron
Doutora em Genética e Melhoramento
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Debora Cristina De Souza
Doutorado em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

CAMPO MOURÃO

2022

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me dado forças para alcançar essa vitória.

Aos meus pais, Fernando dos Santos e Angela Terezinha de Almeida, por todo apoio, incentivo, paciência, conselho, amor e pela oportunidade. Aos meus padrinhos Adair José Teodoro, Sueli Aparecida de Almeida, pelo apoio que me deram quando eu precisei. A minha irmã Giovanna Fernanda de Almeida dos Santos e minha sobrinha Maria Helena dos Santos por todo amor e paciência.

Aos meus amigos que dividiram comigo essa trajetória, Bruninha, Danilo, Gabriel, Pamela, Mylena e principalmente a minha dupla de iniciação científica e de todos os trabalhos Karolyne, que passou comigo horas e horas entre biblioteca e laboratório.

Aos meus professores por todos os ensinamentos e incentivo, em especial a minha orientadora de estágio Stephanie Benetti, e a minha orientadora de iniciação científica Ana Paula Peron.

Enfim, a todos os que por algum motivo contribuíram para a realização desta pesquisa.

RESUMO

A formulação corante Azul *Jeans* é composta pelos corantes Azul Patente e Verde Rápido. Esse *mix* de aditivos é utilizado em diversos alimentos, como na coloração de bolos e doces para festas. Alguns estudos na literatura científica avaliaram a toxicidade desses dois corantes trifenilmentanos individualmente. Dessa forma, objetivou-se avaliar a citotoxicidade e a genotoxicidade do Azul *Jeans* nas formas em pó, nas concentrações 5 g/L e 0,25 g/L, e líquida, nas concentrações 1 ml/L e 0,5 ml/L, em células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* L. As concentrações foram estabelecidas conforme recomendação de uso em alimentos informada nos rótulos de cada produto. A marca comercial do Azul *Jeans* analisado foi escolhida devido ao seu excesso de consumo na alimentação do dia a dia. Para cada concentração utilizou três bulbos de cebola, que foram previamente enraizados em água destilada. Antes de colocar as cebolas enraizadas em contato com as suas respectivas soluções, coletou-se raízes para o controle do próprio bulbo. Em seguida, as raízes restantes foram colocadas em contato com as suas específicas concentrações por 24 e 48 horas, onde se coletou raízes a cada 24 horas. Após estes dois tempos de exposição, regiões meristemáticas de raízes de cada bulbo foram destacadas para o preparo de lâminas. As lâminas foram analisadas em microscópio óptico em objetiva de 40x, e para cada concentração avaliou-se 9.000 células. Os dados obtidos foram analisados pelo teste Scott-Knott ($p < 0,05$). As concentrações avaliadas do *mix* de corante em questão, na forma líquida e em pó, causaram citotoxicidade aos meristemas de raízes, inibindo de forma significativa o índice de divisão celular nos dois tempos de exposição considerados. Porém, não induziram a formação de alterações celulares em número significativo, mostrando-se não genotóxicas. Os resultados obtidos, ainda que preliminares, demonstram que os corantes Azul Patente e Verde Rápido em associação têm potencial em causar toxicidade em nível celular em tecidos de intensa proliferação celular.

Palavras-chave: Mix de Corantes, Divisão celular, Alterações Celulares, Segurança Alimentar.

ABSTRACT

A Blue Jeans dye is composed of Patent Blue and Fast Green dye. This mix of additives is used in various foods, such as in the delivery of cakes and sweets for parties. studies in the literature have evaluated the toxicity of these two triphenylmethane dyes some information on toxicity, however, these microingredients are not associated with each other. Thus, the objective is to evaluate the cytotoxicity and genotoxicity of Azul Jeans in powder forms, at 5 g/L and 0.25 g/L, and liquid, at 1 ml/L and 0.5 ml/L, in all origins of L. strain products in which they were manufactured in accordance with use cells of all products supplied in the products. The Azul Jeans brand was chosen because it is the most commercialized in the south and southeast regions of Brazil. For each consumption, use three onion bulbs, which were previously rooted in distilled water. Before placing the rooted onions in contact with their unique solutions, roots were collected to control the bulb itself. Then, the roots were identified for 2 hours in a row in contact with their 4 roots for 2 specific hours, where 2 roots every 2 hours were identified. After these two exposure times, the meristematic regions of each bulb were highlighted for the preparation of slides. Slides were clarified as 40x objectives and 9.00 cells were evaluated for each view. The data obtained were analyzed by the Scott-Knott test ($p < 0.05$). The two issues in terms of the toxicity relationship of the content mix, in liquid form, caused exposure of origins, inhibiting the significant form of cell division in the. However, they did not induce the formation of cellular changes in a significant number, if not genotoxic. The results obtained, although preliminary, that associate the cellular level and the green blue dyes are fast in potential to cause intense tissues of toxic substances have cellular patents at the cellular level.

Keywords: Dye Mix, Cell Division, Cell Changes, Food Safety.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -Estrutura Química do Azul Patente V.....	26
Figura 2 – Estrutura Química do Verde Rápido.....	26
Figura 3 – Fases da Mitose	28
Figura 4 – Bulbos de <i>Allium Cepa</i>	30
Figura 5 – Raízes submersas em solução Carnoy	30
Figura 6 – Meristemas separados das raízes	31
Figura 7 – Células Meristémicas do <i>A. cepa</i> em aumento 40	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – INS E IDA de corantes artificiais.....	21
Tabela 2 Índices mitóticos (%) e índices de alteração celular	35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA Agência Nacional de Vigilância Sanitária

IDA Ingestão Diária Aceitável

FAO *Food and Agriculture Organization*

OMS Organização Mundial da Saúde

CCFAC Codex Committee on Food Additives and Contaminants

JECFA Joint Expert Committee on Food Additives,

FDA Federal Drug Administration

TDAH Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH)

DDA Dose diária admissível temporária (DDA)

SCF Scientific Committee on Food

IAC índice de alterações celulares

ANOVA Análise de variância

IM Índice Mitótico

INS *International Numbering System*

TR tratamento

DP Desvio Padrão

MMS Metil Metanosulfonato.

C Carbono

H Hidrogênio

N Nitrogênio

O Oxigênio

S Enxofre

LISTA DE SÍMBOLOS

kg Quilograma

® Marca registrada

x Multiplicação

+ Adição

mL Milímetro

L Litro

mg Miligrama

HCl Ácido clorídrico

h Hora

% Porcentagem

Mol Mole

Cm Centímetro

- Subtração

< Menor

> Maior

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	15
2.1	Objetivo Geral	15
2.2	Objetivo Especifico	15
3	REVISÃO DE LITERATURA	16
3.1	O uso de aditivos alimentares	18
3.2	Classificação de Corantes	18
3.3	Corantes Artificiais: Legislação e Rotulagem	20
3.4	Efeitos Toxicologicos de Corantes Artificiais.....	24
3.5	O uso dos corantes Azul Patente V e Verde Rápido	26
3.6	Teste <i>A. cepa</i>	27
3.6.1	Ciclo Celular.....	27
4	METODOLOGIA	31
4.1	Materiais	31
4.2	Métodos	31
4.2.1	Teste <i>Allium cepa</i> L	31
5.	Resultados	35
6.	Considerações Finais	41
	REFERÊNCIAS	44

1 INTRODUÇÃO

Aditivos alimentares são usados com o objetivo de aumentar a vida de prateleira, melhorar ou alterar o sabor, regular a acidez, e melhorar a aparência de alimentos industrializados (RAJAN; SIMON; BOSSO, 2013; TOMASKA; BROOKE-TAYLOR, 2014; KHODARAHMI; ASHRAFI-KOOSHK; KHALEDIAN, 2015). Dentro das classes

de aditivos, temos os corantes artificiais, microingredientes essenciais para a aparência de alimentos industrializados, tornando o produto mais atrativo e influenciando diretamente no poder de escolha do consumidor (ROVINA *et al.*, 2016)

É possível dividir os corantes alimentícios em naturais e artificiais. Os corantes naturais possuem menor vida de prateleira e são instáveis durante o armazenamento. Tal condição intensifica o uso de corantes artificiais por apresentarem uma maior estabilidade e menor custo para sua obtenção. No entanto, existem desvantagens da utilização dos corantes artificiais que são os vários relatos de problemas de saúde relacionados ao consumo desses aditivos (RODRIGUES, 2015). Antes, os corantes eram derivados de produtos naturais, como flores, frutos, folhas e também de algumas substâncias extraídas de animais (SOUZA, 2012). Com o avanço das tecnologias, estabeleceu-se métodos de coloração mais baratos e eficazes, concedendo a “restauração” de cor de alguns produtos alimentares após processamento e a variação de cores que antes eram limitadas (ARIT, 2011).

O uso de aditivos alimentares é regulamentado internacionalmente pela *Food and Agriculture Organization* (FAO) e pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (BRASIL, 1999, XU *et al.*, 2015). No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) classifica os corantes em orgânico natural, orgânico sintético, artificial, orgânico sintético idêntico ao natural, inorgânico, caramelo e caramelo pelo processo amônia (BRASIL, 1997). Este órgão também é responsável pela fiscalização, regulamentação e efeito toxicológico do consumo de alimentos corados artificialmente.

No Brasil é permitido o uso de onze corantes artificiais. Estes corantes obtidos por síntese orgânica são classificados em quatro grupos: azo, trifenilmetano, indigóide e xantenos (BATADA; JACOBSON, 2016). No intuito de potencializar a ação desses corantes, existem muitas formulações comerciais que têm em sua constituição um *mix* de corantes, o que garante uma coloração mais duradoura e destacada aos alimentos

industrializados e semi industrializados. Dentre essas, destacasse a formulação comercial Azul *Jeans* constituída pelos corantes trifenilmentanos Azul Patente e Verde Rápido. Muitas indústrias de aditivos produzem esse tipo de *mix* comercial no Brasil, que pode ser obtido pela população diretamente das empresas fabricantes ou em comércios de produtos diversos. Após uma busca na literatura científica, não foram encontrados estudos de toxicidade em tecido de intensa proliferação celular sobre o Azul *Jeans*.

Dentre os testes internacionalmente aceitos na avaliação de compostos/substâncias está o bioensaio *A. cepa* (cebola). Os meristemas de suas raízes possuem intensa divisão celular e são utilizados rotineiramente para determinar os efeitos tóxicos de compostos presentes em aditivos alimentares, corpos hídricos e terrestres (HERRERO *et al.*, 2012). Os biomarcadores considerados nesse bioensaio são o índice de divisão celular (índice mitótico), para análise dos diversos níveis de citotoxicidade, e a frequência de alterações cromossômicas e de fuso mitótico para a avaliação de genotoxicidade (MATOS *et al.*, 2017). Os resultados obtidos pelo teste

A. cepa tem excelente correlação com outros bioensaios, como em aqueles realizados em animais e em cultura de células (SOUZA *et al.*, 2017). Este sistema já foi usado em testes para avaliação de citogenotoxicidade dos corantes amarantho, vermelho de eritrosina, vermelho 40, ponceau 4R, amarelo crepúsculo, amarelo tartrazina, azul de indigotina e azul brilhante (GOMES *et al.*, 2013, PERON *et al.*, 2013).

Com base no que foi descrito, torna-se relevante avaliar a toxicidade do Azul em células meristemáticas de raízes de *A. cepa*.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial toxicológico do corante *Azul Jeans*, nas formas em pó e líquida, comercializado no Brasil.

2.2 OBJETIVO ESPECIFICOS

- Analisar o potencial antiproliferativo de uma formulação corante *Azul Jeans*, nas formas em pó e líquida, em células meristemáticas de raízes de *A. cepa*;
- Avaliar o potencial genotóxico de uma formulação corante *Azul Jeans*, nas formas em pó e líquida, em células meristemáticas de raízes de *A. cepa*;

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 O USO DE ADITIVOS ALIMENTARES

Com a globalização e desenvolvimento de novas tecnologias, mudanças significativas aconteceram nos hábitos alimentares da população, resultando na adição de aditivos químicos nos alimentos (GOMES *et al.*, 2013; MOURA *et al.*, 2016). Os aditivos químicos são utilizados com o objetivo de trazer a melhoria para os alimentos, modificando algumas características do alimento (CARVALHO, 2005).

Antes do início da aplicação dos aditivos químicos em alimentos, os mesmos não tinham uma vida de prateleira tão longa, e sua implementação trouxe possibilidade de aumentar a vida de prateleira, as características do alimento e também suas propriedades sensoriais (ALBUQUERQUE *et al.*, 2012). Em meio a essas substâncias estão os corantes. Estes aditivos possuem grande diversidade de estruturas e aplicações, sendo imprescindíveis para diversos setores industriais (FÁVERO RIBEIRO E AQUINO, 2011).

A mudança no hábito alimentar da população nas últimas décadas, tem chamado muito a atenção da área científica e órgãos reguladores, pois a mudança de optar comer alimentos *in natura* por alimentos processados vem contribuindo com o empobrecimento da dieta. E assim, trazendo consequências, como o aparecimento de algumas doenças (SANDHI; SICHIERI; MONTEIRO; SCHIMIDT, 2005).

Não só a dieta sofreu alterações, a indústria de alimentos também, como citado acima a tecnologia aplicada pela indústria de alimentos com o objetivo de aumentar o tempo de vida de prateleira desses produtos e isso tem trazido dúvidas quanto à segurança da implementação de aditivos alimentares, principalmente quando se refere a corantes artificiais (MOUTINHO, BERTSGES e ASSIS, 2007). O uso de aditivos alimentares, é necessário, em relação a visão tecnológica na produção de alimentos. Porém, é preciso ter atenção na existência de riscos toxicológicos que podem estar sendo gerados pela grande e frequência ingestão dessas substâncias (POLÔNIO, 2010). Existem vários estudos mostrando

diversas reações aos aditivos alimentares, desde reações simples a reações graves, reações tóxicas no metabolismo desencadeantes de alergias, de alterações no comportamento, e até cancerígena (POULSEN, 1991; ENVAGELISTA, 2000; WILLETT, 2003).

A maior categoria de consumismo desses produtos é a comunidade infantil, e por conta desse consumismo, que a comunidade infantil tem uma maior suscetibilidade em relação às reações adversas causadas por aditivos alimentares, como exemplo o corante alimentar. É importante considerar, que o uso desses aditivos e seus efeitos é devido a frequência e a quantidade ingerida (PERES, POLÔNIO; 2009).

De acordo com FAO (*Food and Agriculture Organization*), estabelece que não sejam usados aditivos alimentares indicados a crianças menores de um ano, como regula o *Codex Alimentarius*. O *Codex Alimentarius* é definido como um conjunto de normas alimentares adotadas internacionalmente, tais normas alimentares tem como objetivo proteger a saúde dos consumidores e garantir uma boa prática de fabricação. Mesmo assim, no mercado há diversos produtos cheios de aditivos que são consumidos desde lactantes menores de um ano, criança até os adultos, fazendo ser mais vulneráveis ao desencadeamento de processos toxicológico (FAO/WHO, 1995; POLÔNIO, 2010).

A ANVISA é o órgão encarregado pela regulamentação do uso de corantes no Brasil. Ela estabelece quais aditivos são permitidos para as diferentes categorias de alimentos, funções e limites máximos com referência nos princípios de análise de risco, visando alcançar o efeito tecnológico desejado sem causar danos à saúde humana (ANVISA, 1999).

Para aditivos alimentares, cada classe e grupo de alimentos tem a sua legislação estabelecida, como por exemplo a legislação 272/2019 que trata de aditivos autorizados para carnes, produtos cárneos, suas funções, limites máximos e condições de uso (BRASIL, 2019). É importante ressaltar que as legislações de aditivos alimentares estão em constante mudança desde alteração na dosagem, acréscimo, e também alimentos em que seu uso é

permitido (BRASIL, 2017).

Dentro da cadeia de aditivo alimentar, temos os corantes, considerado o mais empregado da indústria alimentícia. O principal, objetivo do corante é a modificação da cor natural do alimento, para que assim seja melhor aceito pelo consumidor. Antes do paladar, as cores dos alimentos atraem o consumidor pela visão. A maior justificativa que a indústrias usam sobre o uso do corante é a grande importância da aparência do produto para sua aceitabilidade (ASHFAD; MASUD, 2002; AMCHOVA; KOTOLOVA; RUDA, 2015)

3.2 CLASSIFICAÇÃO DE CORANTES

Segundo a Portaria 540/97 da Secretaria de Vigilância Sanitária/Ministério da saúde, corante alimentar é todo e qualquer substância que possa atribuir, acentuar ou restaurar a cor de um alimento no decorrer do processo de industrialização. Os corantes estão dentro de uma classe de aditivos alimentares, onde não tem valor nutricional, eles são adicionados com o objetivo de dar cor, tornando o produto com uma aparência melhor e assim aumentando sua aceitabilidade pelo consumidor (POLÔNIO E PERES, 2009).

A partir da resolução- CNNPA Nº 44, de 1977, publicada pela ANVISA, o corante tem como definição como substância ou também mistura de substâncias que sua principal característica de intensificar a cor de um alimento ou bebida. É possível afirmar que a primeira qualidade classificada como sensorial em qual os alimentos são julgados é a partir da coloração, os órgãos dos sentidos do ser humano captam cerca de 87% de suas percepções através da visão (BELTRÃO; STRINGHETA; SANDI, 2002).

Pode se afirmar que a cor é o que desperta o interesse do consumidor, mesmo que os parâmetros certos seria que o consumo de determinado alimento seja decidido a partir dos seus valores nutricionais, porém, a cor, aroma e a textura que atraem a escolha do consumidor (BOBBIO; BOBBIO, 1995). É possível dividir os corantes em:

-Corantes Artificiais: estáveis, são compostos sintetizados, que contém uma maior praticidade de ser utilizado e maior qualidade.

- Corantes Naturais: é a partir da extração de alguns vegetais como antocianinas, urucum e curcumina como também de animais como hemoglobina e cochoilha. Porém tem a desvantagem de ser mais caro e tem uma menor coloração.

- Corantes Idênticos aos naturais: classificados como sintéticos, porém quimicamente idênticos aos naturais.

De acordo com a Resolução CNNPA (Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos) nº 44 de 1977, os corantes podem ser definidos:

- Corante Orgânico Sintético: formado a partir de uma síntese orgânica, através de processos tecnológicos.

- Corante Orgânico Natural: como citado acima é obtido a partir de alguns vegetais e animal, com o princípio isolado e juntamente com processos tecnológicos.

- Corante Artificial: corante orgânico não encontrado em produtos naturais.

-Corante Inorgânico: formado através e sujeito a processos de tecnologia de purificação e elaboração adequados ao alimento.

- Corante Orgânico Sintético Idêntico ao Natural: formado sinteticamente, tendo sua estrutura parecida com a do princípio ativo isolado de corante orgânico natural.

- Caramelo (processo amônia): é um corante orgânico sintético igual ao natural que é transformado por meio do processo amônia, desde que o teor de 4-metil, imidazol não exceda no mesmo a 200mg/kg.

- Caramelo: corante formado por meio natural, produzido por meio do aquecimento de açúcares a temperatura superior ao ponto de fusão.

3.3 CORANTES ARTIFICIAIS: LEGISLAÇÃO E ROTULAGEM.

Em 1856, Sir William Henry Perkin, desenvolveu o corante artificial a partir da derivação da hulha. E desde essa época

diversos países desenvolveram muitos tipos de corantes sem qualquer tipo de monitoramento ou controle de quantidade de uso para alimentos (VALIM, 1989). Mesmo que os corantes artificiais apresentam vantagens sobre os corantes naturais, pois apresentam maior fixação do que os naturais por exemplo, e assim resultando cores mais vibrantes, contendo uma maior variedade de cores e um menor custo (CALIL E AGUIAR, 1999).

A permissão de uso e a determinação de níveis máximos de aditivos alimentares toleráveis no Brasil são de responsabilidade da ANVISA e do Ministério da Saúde, que realizam essas atividades por meio do Comitê Permanente de Aditivos Alimentares (FÁVERO RIBEIRO E AQUINO, 2011).

Existe a fiscalização dos órgãos públicos nas quantidades de corantes artificiais permitidos, porém diversas indústrias ainda não se adaptam às mudanças na legislação que são necessárias. Dessa forma, ainda é encontrado diversos produtos alimentícios, em prateleiras de supermercados, apresentando problemas em sua formulação, rotulagem do que está proposto na legislação. Existem, poucos os laboratórios credenciados e são poucas as análises realizadas a respeito da qualidade dos corantes alimentícios presentes no mercado. Em estudos feitos no ano de 2007, foi verificado que em doces como, balas, gomas de mascar se encontrava teores de corantes artificiais acima do permitido pela legislação brasileira (PRADO E GODOY, 2007).

No Brasil, são onze corantes artificiais permitidos, sendo eles Eritrosina (E- 127), Tartrazina (E-102), Azul Brilhante (E-133), Verde Rápido (E143)¹⁰ Amarelo Crepúsculo (E-110), Azorrubina (E-122), Amaranto (E123), Ponceau 4R (E-124), Vermelho 40 (E-129), Azul Patente V (E-131), Indigotina (E-132) (ANVISA, 2007). Tais corantes, são obtidos através da síntese orgânica e classificados em quatro grupos que são: trifenilmentano, indigóide, azo e xantenos (BATADA; JACOBSON, 2016).

A rotulagem de alimentos para consumo, propõe que a legislação dita que os aditivos utilizados em qualquer formulação dos produtos devem ser mostrados em seu rótulo (BRASIL, 2009b). Entretanto na rotulagem não se encontra nenhuma especificação

das substâncias permitidas, ingestão diária aceitável (IDA) e os limites máximos permitidos (SIMÃO, 2010).

Em relação à rotulagem dos corantes artificiais nos alimentos, a Resolução RDC da ANVISA/MS nº 259/2002, determina que os corantes artificiais alimentares devem ser colocados na rotulagem com o seu nome completo (Sistema Internacional de Numeração, *Codex Alimentarius* FAO/OMS), que estão presentes na tabela 1. Também é necessário a partir do Decreto 55.851/65 e DecretoLei nº986/69, conter nos rótulos a declaração “Colorido Artificialmente”. Entretanto, o corante artificial tartrazina deve ter seu nome por extenso, através da Resolução da Anvisa nº340/2002. Porém, o corante tartrazina, deve obrigatoriamente ter o nome do corante declarado por extenso, segundo a Resolução nº340/2002 da Anvisa/MS (ANVISA, 2014).

Tabela 1: INS e IDA de corantes artificiais.

Corante	INS	IDA (mg/kg)
Tartrazina	102	7,5
Amarelo crepúsculo	110	4
Bordeaux S ou Amaranto	123	0,5
Ponceau 4R	124	4
Eritrosina	127	0,1
Vermelho 40	129	7
Indigotina	132	5
Azul brilhante	133	12,5
Azorrubina	122	4

Azul Patente V	131	Não alocada
Verde sólido	143	25
Amarelo de Quinoleína	104	5
Negro BrilhanteBN	151	1
Marrom HT	155	1,5

FONTE: Adaptado de MARTINS, M. S. (2015)

A quantidade dos corantes utilizados nos alimentos, não deve ultrapassar a quantidade máxima que é estabelecida em relação ao corante permitido em maior quantidade, e também a quantidade de cada corante não poderá passar do seu limite máximo individual. O corante alimentar que não está na legislação, não tem permissão para ser utilizado em alimentos (Brasil, 1997). O controle do uso de corantes alimentares, é baseado pela (ADI) Ingestão Diária Aceitável, a partir de pesquisas intencionais do *Codex Committe on Food Additives on Food Additives and Contaminants* (CCFAC) (BESSONOV *et al.*, 2011; GANESAN *et al.*, 2011

É recomendado pela, FAO (*Food and Agriculture Organization*) e OMS (Organização Mundial da Saúde) para aditivos alimentares, o JECFA (*Joint Expert Committee on Food Additives*), em que os países faça a avaliação periodicamente sobre o consumo total de aditivos permitidos, através de estudos da dieta de sua população, para assim assegurar que a ingestão total não ultrapasse os valores determinados na IDA (REYES; PRADO, 2001)

Alguns corantes que no Brasil é permitido, nos países da União Europeia e Estados Unidos não são. Nos Estado unidos, o responsável pela avaliação de dados se o corante é permitido ou não é a FDA (*Federal Drug Administration*, órgão governamental dos EUA que faz o controle dos alimentos, entre outros), se caso

não for permitido, o alimento é impedido de ser comercializado. De acordo com a legislação americana, são permitidos 9 corantes artificiais e se comparado aos do Brasil, os corantes azorrubina, amaranto, ponceau 4R e azul patente V não são permitidos nos Estados Unidos (FDA, 2019).

Apesar do controle exigido por estas agências reguladoras, o uso de corantes em alimentos ainda gera muitas dúvidas quanto à sua toxicidade. Pois existem dificuldade em verificar se a quantidade de aditivos usados pelo alimento indústria estão de acordo com a legislação em vigor (ANVISA por exemplo) levando em consideração que no Brasil não é obrigatório declarar a quantidade de corantes presentes nos produtos no rótulo, somente uma lista dos aditivos utilizados deve ser declarada (BRASIL, 2005).

Os alimentos em que são coloridos artificialmente, através de corantes, acabam sendo consumidos em excesso pela população, e com o passar dos anos, ocorreu a observação que esse excesso está relacionado com o elevado de peso resultando em obesidade, doenças crônicas não transmissíveis e também elevado teor de gordura corporal (MONTEIRO *et al.*, 2017; JUUL *et al.*, 2018; RAUBER *et al.*, 2020).

3.4 EFEITOS TOXICOLÓGICOS DE CORANTES ARTIFICIAIS

Os corantes se usados de forma correta, obedecendo os percentuais máximos permitidos pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) ou *Codex Alimentarius* se tornam inofensivos à saúde (REYES, 2001). Crianças e adolescentes têm hábitos de consumo excessivo de refrigerantes, *snacks*, gomas, gelatinas, doces, chocolate entre outros e conseqüentemente ingerindo maiores quantidades de corantes alimentares comparados a de um adulto. Em Portugal, foi realizado estudos confirmando tal afirmação. Fatores como imaturidade fisiológica da criança, rápido desenvolvimento físico, as maiores necessidades energéticas próprias da fase de crescimento, e a sua incapacidade cognitiva para controlar a ingestão destes alimentos, contribuem a vulnerabilidade do uso de corantes artificiais (ROCHA; 2015).

Os corantes artificiais, tem como tendencia apresentar alguns sintomas como: efeitos mutagênicos, alergias e até mudanças no funcionamento do trato digestivo (GOMES *et al.*, 2013; MARQUES *et al.*, 2015). É possível afirmar que os corantes podem causar desde simples urticárias. O Amarantho, por exemplo, por medida de segurança acabou sendo proibido nos EUA.

Alguns estudos realizados em 2009, mostraram que o grau de hiperatividade das crianças ao serem expostos a corantes alimentares artificiais, tem relação com os efeitos adversos no comportamento em sua fase infantil e como consequência o aumento da hiperatividade (PELSSER *et al.*, 2009). Crianças com Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH), tem possibilidade de reagir a uma variedade de substâncias desde corantes naturais até artificiais em alimentos. Os corantes, que pode trazer efeitos leves e graves em relação ao comportamento e a capacidade de concentração (GONGALVES; 2018).

Foi observado que a partir de uma dieta sem alimentos com os corantes artificiais, os sintomas de hiperatividade desapareceram. Crianças que apresentam o TDAH tiveram uma resposta mais significativa, da dieta sem o corante artificial, se comparando com as crianças que não apresentam o transtorno do déficit de atenção e hiperatividade (BORIS; MANDEL, 1994).

O uso de corantes artificiais em alimentos durante a gestação até anos após o nascimento, onde é um período muito crítico do desenvolvimento, tem sido levantado como responsável pela indução e gravidade de alguns distúrbios comportamentais de desenvolvimento e dificuldades de aprendizagem na infância. Uma teoria é que a hiperatividade possa ser uma reação adversa de uma criança que tem como costume desde a gestação o uso de corantes artificiais que estão presentes em alimentos e bebidas industrializadas (CEYHAN *et al.*, 2013).

Mesmo que o uso de corantes artificiais em alimentos tenha efeitos adversos, não consta na embalagem do produto quais são os efeitos adversos que possa causar. Como por exemplo, a eritrosina, corante sintético vermelho, que como consequência seu uso em excesso pode trazer o hipertireoidismo. Outro exemplo, é

o vermelho ponceau que seu uso em abundância pode causar anemia, enquanto o amarelo tartrazina pode ser relacionado com insônia em crianças (SILVIA, 2008).

Mesmo que o alto consumo de corantes traz muitos efeitos adversos, seu uso acaba sendo indispensável nas indústrias alimentícias. E com o intuito de potencializar a ação desses corantes artificiais, o uso de mix de corantes em formulações comerciais, é necessário para garantir uma coloração mais duradora e destacada aos alimentos. Dentro dessas formulações usadas, corantes formados através da síntese orgânica do trifenilmentano azul patente V e verde rápido. Esses corantes são debatidos por longa data por pesquisadores quanto a sua segurança à população. Atualmente, diversos alimentos doces são coloridos pela formulação trifenilmentano, dos tipos líquido e em pó, que como já citado proporciona uma coloração mais intensa.

3.5 O USO DOS CORANTES AZUL PATENTE V E VERDE RÁPIDO

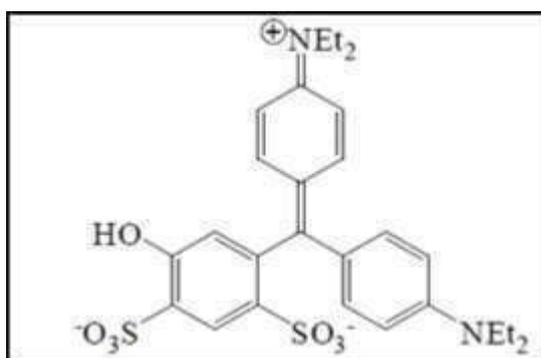
O grupo trifenilmentano, apresenta uma estrutura química composta por três radicais arila, grupos fenólicos que são ligados a um átomo de carbono central. Também, grupos sulfônicos que trazem uma alta solubilidade em água (PRADO; GODOY, 2003).

O Azul Patente V (figura 1) é derivado do azul de isosulfan, quimicamente corresponde ao sal sódico dietilamino-4fenil hidroxí-5-dissulfo-2,4-fenil (Melo *et al.*, 2006). Seu uso é permitido como aditivo alimentar na Europa, onde em 1970 foi avaliado pelo JECFA (Join Exoert Committee b Food Additives) que determinou a dose diária admissível temporária (DDA) de 0-1 mg / kg de peso corporal / dia, porém em 1975 foi retirado. Em 1983 pelo SCF (Scientific Committee on Food) estabelecida a DDA de 0-15 mg / kg de peso corporal / dia (JORNAL DA EFSA, 2013). O Azul Patente V possui uma ótima estabilidade a luz, ácidos e calor, entretanto, ele descolore na presença de Ácido Ascórbico e SO₂ (PRADO E GODOY, 2003). É bastante usado em isotônicos, gelatinas, balas e chicletes (BARROS E BARROS, 2010).

Em relação a toxicidade, existem relação de absorção através da mucosa oral até atingir a corrente sanguínea, efeitos de diminuição nos valores de hemoglobina e contagem de glóbulos vermelhos após a exposição crônica ao corante (LUCOV *et al.*, 2013; EFSA, 2013). Outro fator de toxicidade, é a causa de alergias e até câncer (CALVO, 2006). Sua IDA, não está alocada, ou seja, os dados que são toxicológicos disponíveis não são suficientes para ter uma segurança de uso em escala (BRASIL, 2009).

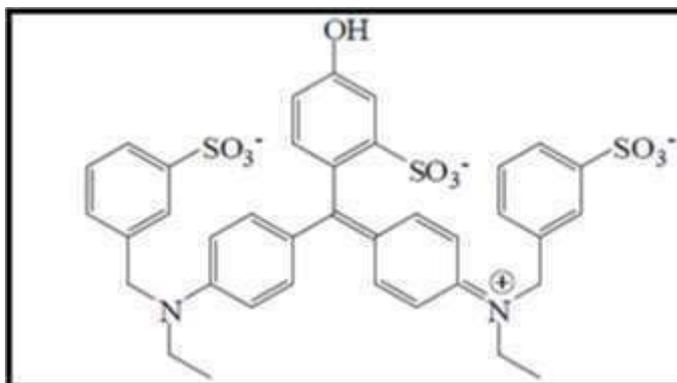
O verde rápido, (figura 2) mostra uma estabilidade a luz, calor e ácidos razoável, entretanto uma baixa estabilidade oxidativa (PRADO E GODOY, 2003). Ele é aplicado em chicletes, chás verdes e balas (BARROS, 2010). Ele é considerado tóxico, pouco absorvido pelos intestinos e sua aplicação é proibida em alguns países pelo fato de trazer efeitos cancerígenos (SHARMA; ALOTHMAN; KUMAR; PONNUSAMY; NAUSHAD, 2017). Sua fórmula química é $C_{37}H_{34}N_2O_{10}S_3$ e é composto por: difenilmetano, hidroxibenzenossulfonato, amina terciária e ion imínio. Em sua forma pura e em condições ambientais ele é um pó cristalino marrom escuro, mas tem uma coloração verde em água e solução metanol de 50% (BARUFALDI, 2021).

Através de um estudo em ratos, a toxicidade foi capaz de identificar a induzir a inibição da atividade sináptica de interneurônios no hipocampo (VAN HOOFT, 2012). E como resultados apresentou efeitos carcinogênicos em experiências realizadas em 1990 por Lederer. A IDA do corante artificial verde rápido é definida de 0-25 mg/kg de peso corpóreo (BRASIL, 2016).



Fonte: Isenmann, 2014.

Figura 1: Estrutura Química Do Azul Patente V



Fonte: Isenmann, 2014. Figura 2: Estrutura Química Do Verde Rápido

3.6 TESTE *A. cepa*.

Os bioensaios feitos com plantas são de fácil monitoramento dos efeitos citotóxicos, mutagênicos e genotóxicos em diversos produtos (Herrero *et al.*, 2012). Dentre os testes internacionalmente aceitos na avaliação da qualidade ambiental está o bioensaio *A. cepa* (cebola), eficiente em gentavaliações de citogenotoxicidade de compostos e substâncias em geral (TABREZ *et al.*, 2011; LACERDA; MALAQUIAS; PERON, 2014). Uma das suas principais características é a rápida proliferação celular em meristemas de raízes, além de número cromossômico reduzido (CARITÁ, 2010; PERON ET. AL., 2009, HERRERO ET AL., 2012). Os parâmetros considerados nesse teste são índice de proliferação celular ou índice mitótico, e índice de alterações de fuso mitótico e quebras cromossômica (HERRERO ET AL., 2012).

Os resultados obtidos por meio desse teste apresentam boa correlação aos resultados observados em testes genéticos realizados em outros bioensaios, como aqueles com animai e em cultura de células (SOUZA *et al.*, 2017). Por meio do sistema teste *A. cepa* avaliou-se a citotoxicidade e genotoxicidade de aditivos alimentares, entre os quais os corantes (GOMES *et al.*, 2013 PERON *et al.*, 2013). A *A. cepa* têm um processo de divisão celular de suas raízes muito semelhante ao processo de divisão celular humano (CORREIA *et al.*, 2014; POLETTO *et al.*, 2011; GALEMBECK *et al.*, 2010).

3.6.1 CICLO CELULAR

Para a análise da toxicidade, a partir da avaliação das alterações no índice de divisão celular, é necessário entender conceitos do ciclo celular. Uma célula passa por etapas separadas em estágios nomeados interfase e fase mitótica. A interfase, éo período em que a célula está se duplicando. Esta fase inicia na etapa nomeada G1, onde ocorre a duplicação de organelas e a produção de componentes moleculares. A etapa S caracteriza a duplicação do DNA. Por fim, a etapa G2, onde ocorre a fabricação de novas proteínas e começa a reorganização do conteúdo. Logo após, é iniciada a fase mitótica constituída pelas fases de prófase, metáfase, anáfase e telófase (RAVEN, *et al.*, 2020; URRY *et al.*, 2021).

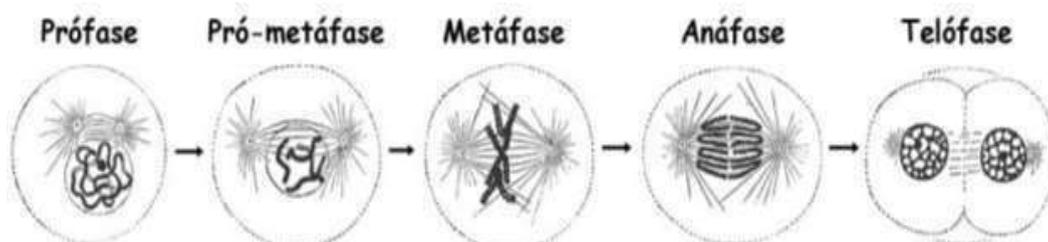
Segundo Bouzon, Gargioni, Ouriques, 2010, inicialmente, a prófase tem seus filamentos de cromatina gradualmente condensados ficando mais curtos, até atingir a forma de cromossomos. Após a prófase, as células passam para uma fase denominada pró-metáfase que caracteriza uma transição entre a prófase e a metáfase. Tal transição em que os microtúbulos do fuso se conectam aos cinetócoros dos cromossomos condensados.

Em seguida, os cromossomos são levados para frente e para trás, até atingir o alinhamento na placa metafásica, entrando em metáfase. Nessa etapa, os cromossomos tendem a atingir a maior condensação, e assim mostrando as duas cromátides em que são visíveis ao microscópio de luz.

O período em que as células permanecem em metáfase é curto, antes de seguir para anáfase. Nessa etapa, o equilíbrio metafásico é rompido e a divisão dos centrômeros e como resposta a migração das cromátides para polos contrários, denominados cromossomos-filhos.

E por fim, ocorre a telófase, em que os núcleos-filhos

recuperam a forma e os cromossomos se descondensam. Essa descondensação da cromatina é seguida pela transcrição. Assim, o nucléolo reaparece e acaba restabelecendo o envoltório nuclear.



Fonte: Unidade 8 Ciclo Celular

Modificado de <http://en.wikipedia.org/wiki/Mitosis>. Figura 3: Fases Da Mitose

A partir desse bioensaio é avaliado substâncias em nível celular usando como parâmetro a citotoxicidade (IM), e a função da inibição ou a intensa proliferação celular, através das alterações cromossômicas a partir de quebras cromossômicas e alterações de fuso mitótico (MARIN-MORALES; MAZZEO; FERNANDES, 2011, BARBÉRIO; VOLTOLINI, MELLO, 2011)

4 METODOLOGIA

4.1 MATERIAIS

Os corantes Azul *Jeans* em pó e líquido, da marca MIX, foram adquiridos no comércio de Campo Mourão, Paraná, Brasil. As análises de toxicidade foram feitas no laboratório C101, bloco C, na Universidade Tecnológica Federal do Paraná campus Campo Mourão.

As concentrações analisadas foram determinadas com base na orientação de uso dos frascos do corante em pó e líquido. A partir do rótulo de sugestão de uso para população foi usado a concentração 0,005 kg de corante para 1kg de massa ou 1 L de água. Já para o corante em líquido usou-se 2 ml para 1 litro de água. Assim, para o corante em pó e líquido foram analisadas a concentração de uso sugerida para população e uma concentração 50% menor.

A análise de toxicidade em *A. cepa* foi realizada segundo o protocolo estabelecido por Fiskejö (1985).

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Teste *Allium Cepa* L.

Os bulbos de cebolas foram lavados com água corrente e em seguida retirados os catafilos secos. Os bulbos limpos foram postos em água destilada para crescimento de raízes de até 2,0 cm (figura 4). Após, algumas raízes foram coletadas e colocadas em fixador Carnoy para serem usadas como controle do próprio bulbo (0h). Após 24 horas no fixador, as raízes foram lavadas em água destilada e submersas em uma solução de ácido clorídrico.

Em seguida, as raízes restantes de cada bulbo foram colocadas em contato com as concentrações do corante em pó e líquido por período de 24 h. Após esse tempo algumas raízes foram coletadas e colocadas no fixador Carnoy por 24 horas (figura 5) e depois lavadas e mergulhadas em ácido clorídrico. Realizou-se o mesmo procedimento para as raízes que

permaneceram por 48 horas nas concentrações do corante. O mesmo procedimento foi feito para as raízes do período de 48 h da solução. Depois da última coleta as concentrações e os bulbos foram descartados.



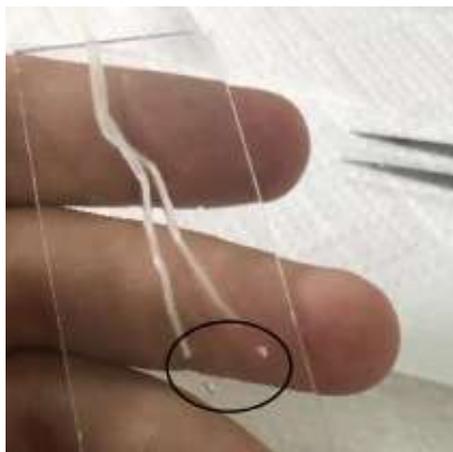
Fonte: Parvan, Lais Gonçalves (2020).

Figura 4: Bulbos de *A. cepa*, crescimento das raízes.



Fonte: Santo, Diego Espirito (2022) Figura 5: Raízes submersas em solução carnoy.

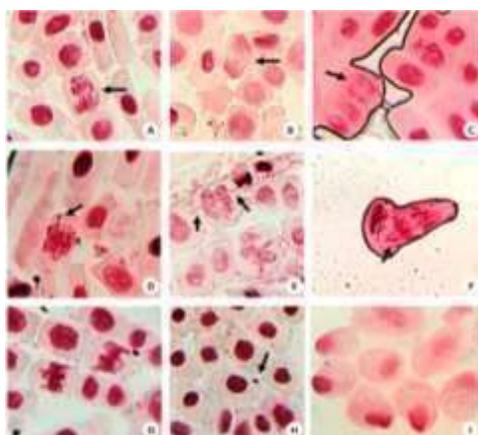
As lâminas foram feitas conforme protocolo proposto por Guerra e Souza (2022), onde as raízes do tubo depois de serem lavadas com água destilada, foram colocadas nas lâminas e a região meristemática foi retirada e macerada e em seguida corada comorceína acética (figura 6). Após a coloração o material foi coberto com lamínula.



Fonte: Santo, Diego Espirito (2022) Figura 6: Meristemas de raiz.

Para a leitura das lâminas utilizou-se um microscópio óptico com objetiva de aumento de 40x. Para cada bulbo, foram avaliadas 1000 células, totalizando 3.000 células para cada grupo controle (0 horas), cada grupo tempo de exposição 24 horas e cada grupo tempo de exposição 48 horas, dando um total de 9.000 células analisadas para cada concentração. As células em interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase foram contadas, e o índice mitótico foi calculado conforme a Equação 1.

$$\frac{\text{Número total de células em divisão}}{\text{Número total de células analisadas}} \times 100 \quad (1)$$



Fonte: Parvan, Lais Gonçalves (2020).

Figura 7: Células meristemáticas de *A. cepa* em aumento 40x

O potencial genotóxico ou índice de alterações celulares (IAC) foi avaliado usando a frequência de micronúcleos, metáfases C, pontes em anáfase e telófase, células com aderências, botões

nucleares e anáfases multipolares, entre outras. Para cada concentração analisou-se 900 células. O IAC foi calculado conforme a Equação 2.

$$AC: \frac{\text{Número de alterações celulares}}{3000} \times 100 \quad (2)$$

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Scott•Knott ($p < 0,05$), com auxílio do software livre BioEstat®.

5 RESULTADOS

O resultado das análises de citotoxicidade está apresentado na Tabela 2. Observa-se que nas condições de análises estabelecidas para esse estudo, o *mix* de corantes Azul Jeans, constituído pelos corantes Azul Patente e Verde Rápido, nas formas em pó e líquido, nos tempos de exposição 24 e 48 h, reduziram drasticamente o índice de divisão celular dos meristemas radiculares quando comparado aos seus respectivos controles, mostrando-se citotóxicos. Nesta tabela também estão os resultados de alterações celulares. O Azul Jeans, em pó e líquido, nas duas concentrações analisadas e tempos de análises considerados não induziram alterações celulares em número significativo não sendo genotóxico.

Tabela 2. Índices mitóticos (%) e Índices de alterações celulares observados em meristemas de raízes de *A. cepa* expostos ao corante Azul Jeans, nas formas em pó e líquido e em diferentes concentrações, por 24 e 48 horas.

Mix Corantes	MI (%) / SD			
	TR	Co (0 h)	24 h	48 h
Pó	5g/L	29,7±0,17 ^a	2,9±0,31 ^{b,*}	5,4±0,17 ^{b,*}
	0,25g/L	29,0±0,58 ^a	7,3±0,45 ^{b,*}	4,9±0,70 ^{b,*}
Líquido	1mL/L	15,6±0,27 ^a	3,9±0,78 ^{b,*}	3,5±0,89 ^{b,*}
	0,5 mL/L	22,0±0,71 ^a	5,8±0,45 ^{b,*}	7,3±0,95 ^{b,*}
Controle Positivo	IAC(%) / DP			
MMS	8.9±0.55			

(4x10 ⁻⁴ mol/L ⁻¹)				
Mix de Corantes	ACI(%) / SD			
	TR	Co (0 h)	24 h	48 h
Pó	5g/L	0,01±0,29 ^a	0,08±0,13 ^a	0,07±0,80 ^a
	0,25g/L	0,01±0,23 ^a	0,05±0,71 ^a	0,09±0,77 ^a
Líquido	1mL/L	0,01±0,46 ^a	0,01±0,41 ^a	0,03±0,80 ^a
	0,5 mL/L	0,01±0,19 ^a	0,03±0,64 ^a	0,03±0,64 ^a

Fonte: autoria própria (2022).

Co: controle; IM: Índice Mitótico; IAC: Índice de Alteração Celular; TR: tratamento; h: hora, DP: Desvio Padrão, MMS: Metil Metanosulfonato. Análise de variância (ANOVA), médias observadas comparadas pelo teste Scott-Knott a 0,05, utilizando o software livre BioEstat®. Letras iguais indicam valores médios iguais entre os tempos de exposição considerados (Co- 0h, 24h e 48h) dentro de uma mesma concentração. Desvios padrão relatados para cada tempo de análise avaliado para cada concentração.

De acordo com Herrero *et al.* (2012) a significativa inibição da divisão celular, observada nos tecidos meristema de raízes de *A. cepa* expostos às concentrações de Azul Jeans, deve-se à morte celular por distúrbios, como pela ação tóxica de produtos químicos, substâncias ou compostos, na cinética de divisão celular ou nos cromossomos essenciais às células.

Há relatos na literatura que demonstram que os corantes Azul Patente e Verde Rápido tem capacidade de alterar o ciclo de divisão células de diferentes bioensaios. Tais eventos, segundo Nunes *et al.*, (2016), causam redução significativa no *turn over* celular e alteram a síntese proteica do tecido ou órgão onde ocorrem, prejudicando significativamente o crescimento e desenvolvimento em plantas e animais.

Uma substância genotóxica pode interagir com o DNA depois da ativação metabólica ou diretamente, trazendo consequências na estrutura molécula de DNA. Quando ocorrer algum tipo de dano ao DNA, as células acabam interrompendo seu ciclo celular e assim, o ciclo celular desenvolve, entretanto, quando ocorre alguma falha, a célula pode ocorrer mutação, podendo leva à carcinogênese. Foi detectada a genotoxicidade de 39 substâncias químicas usadas como aditivos alimentares. E dentre todos os aditivos, os corantes artificiais foram os que mais apresentaram resultados de genotoxicidade, como o amarantho, tartrazina, eritrosina, dentre outros. Tais corante, acabaram induzindo danos ao DNA nos órgãos gastrointestinais em doses baixas como 10 ou 100 mg/kg (SASAKI *et al.*, 2002).

Não há muitos estudos na literatura sobre a toxicidade do corante Verde Rápido, porém, há estudos avaliando o potencial deste na supressão do processo inflamatório, e também a capacidade de suprimir processos que levam à inflamação, por exemplo a diminuição do fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa) e também níveis séricos de Interleucina-6 (IL-6). Em alguns estudos, ocorreu a observação dessa capacidade do corante em suprimir a neuroinflamação em ratos, indicando o potencial no controle de sintomas depressivos (YANG *et al.*, 2019; XU *et al.*, 2018)

O corante artificial vermelho eritrosina, por exemplo, pode causar hipertireoidismo caso seja consumido em excesso, o corante vermelho ponceau pode trazer consequências como anemia e glomerulonefrite (doença renal), e o amarelo tartrazina pode se associar como a causa de insônia em crianças por seu uso em excesso (SILVIA, 2008). Outros tipos de corantes, como o Azul Brilhante apresenta efeitos genotóxicos e também citotóxicos de grande importância em linfócitos humanos. E uma diminuição dose dependente nos valores da frequência de índices mitóticos e de micronúcleos (KUS e EROGLU, 2015). O ensaio de redução do sal de tetrazólio teve sua leitura apresentando doses acima de 25mM do corante Azul Brilhante foi inviável pelo fato do forte poder agregativo do aditivo artificial às células. Porém, algumas concentrações menores à IDA (6mg/kg/dia) provocaram

significativa perda da viabilidade para 3 linhagens celulares. Tais resultados, são importantes como aviso para pessoas com muita sensibilidade, crianças, e alergias, pois processos alérgicos também estão relacionados aos processos inflamatórios, de proliferação celular e, conseqüentemente, tumorais (LACERDA, 2017).

A toxicologia de corante artificial, usado pela indústria alimentícia, vermelho 40, é encontrada facilmente nas literaturas, diversos testes *in vitro* foram feitos com o objetivo de avaliar sua genotoxicidade e como resultados, não foi possível observar nenhuma mutação significativa (BASTAKI *et al.*, 2017). Não existe relatos de crianças apresentando algum tipo de reação alérgica. Porém, existem estudos com neutrófilos humanos, em que apresentaram resultados onde os corantes aumentam a produção de mediadores inflamatórios a partir dessas células, que possa ser respostas alérgicas e doenças como artrose reumatoide e asma (LEO *et al.*, 2017).

Outro efeito sobre o vermelho 40 pode ser sobre o cérebro de crianças cruzar a barreira hematoencefálica, auxiliando no transtorno de déficit de atenção com hiperatividade entre outras doenças. Também, foi demonstrado um efeito inibitório da enzima humana anidrase carbônica II, e sua inibição trás como consequência a diminuição do pH e dilatação vascular, o que pode trazer em doenças como a osteoporose e a acidose renal tubular (ESMAEILI *et al.*, 2016; KHODARAHMI; ASHRAFI-KOOSHK; KHALEDIAN, 2015). De acordo com o JECFA (2006) sua IDA é de 0-7 mg/kg peso corpóreo (BRASIL, 2016), (ARNOLD, LOFTHOUSE e HURT, 2012).

Existem poucos estudos toxicológicos, que demonstram efeitos adversos tanto *in vivo* quanto *in vitro* de determinados corantes artificiais, principalmente os corantes Verde Rápido e Azul Patente V é preciso a realização de mais pesquisas e estudos sobre o consumo, sobre os valores de IDA (ingestão diária aceitável) e sobre sua toxicidade e genotoxicidade

5.1 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Não se encontra relatos na literatura, sobre os riscos toxicológicos, citotóxicos, carcinogênicos e genotóxicos encontrados em alimentos com os corantes artificiais utilizados nesse estudo. Tais atividades estão proporcionalmente relacionadas com efeitos de instabilidade genética e podem afetar a segurança alimentar, pois a maioria da produção dos alimentos que são produzidos nas indústrias contém aditivos alimentares como corantes artificiais. Mesmo que as concentrações do mix de corante avaliados foram citotóxicas, porém, não genotóxicos, é importante o cuidado ao ingerir alimentos com a presença de corantes artificiais.

O uso de aditivos em alimentos e bebidas é de extrema importância visando o ponto sensorial e tecnológico, principalmente o uso de corantes artificiais. Mesmo que os corantes artificiais tragam vantagens sensoriais, aumento na vida de prateleira, para a indústria alimentícia, é necessário estar atento aos seus efeitos adversos, no consumo em excesso.

Mesmo que seja permitido a utilização de corantes artificiais e tenha um limite de ingestão estabelecido através da, IDA (Ingestão diária aceitável) para o uso de cada corante artificial em alimentos, não se deve anular seus efeitos adversos, onde o excesso de uso, pode acarretar algum problema de saúde. A faixa etária da população, que mais sofrem reações no organismo, são as crianças, pois seu consumo é mais constante do uso de alimentos de corantes

REFERÊNCIAS

Agência Nacional de Vigilância Sanitária – **ANVISA**. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 24 de ago 2022

ALTMAN T. A., FDA and USDA Nutrition Labeling Guide: Decision diagrams, checklist, and regulations. Chapter 5: **Nutrients Content Claims**, section: Claiming Good Source, High, More or Lean. Ed. Technomic Publishing Co. Lancaster, 1998. Acesso: 29 de Setemb 2022

AMCHOVA P, KOTOLOVA H, RUDA-KUCEROVA J. Health safety issues of synthetic food colorants. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, 2015. doi:10.1016/j.yrtph.2015.09.026. Acesso: 29 de Setemb 2022

ARNOLD, L.; LOFTHOUSE, N.; HURT, E. Artificial food colors and attention-deficit/ hyperactivity symptoms: conclusions to dye for. **Neurotherapeutics**, v. 9, n. 3, p. 599-609, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3441937/>> Acesso: 29 de Setemb 2022

ASAKI, Y.F.; *et al.* The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**. v.519, p.103-119, 2002. Disponível em <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12160896/>> Acesso em 01 de agos 2022

ASHFAQ N, MASUD T. Surveillance on Artificial Colours in Different Ready to Eat Foods. **Pakistan Journal of Nutrition**, 2002 Disponível em: <<https://scialert.net/abstract/?doi=pjn.2002.223.225>> Acesso em 01 de agos 2022

BAPTISTA, P.; VENÂNCIO, A. Os perigos para a segurança alimentar o processamento de alimentos. **Forvisão – Consultoria em Formação Integrada**. 1ed.2003. Disponível em: <<http://repositorium.sdum.uminho.pt/handle/1822/33398>> Acesso em: 29 de setemb 2022

BASTAKI, M. *et al.* Lack of genotoxicity in vivo for food color additive Allura Red AC. **Food and Chemical Toxicology**, v. 105, p. 308-314, 2017 Disponível em: <<https://www.semanticscholar.org/paper/Lack-of-genotoxicity-in-C2%A0vivo-for-food-color-Allura-Bastaki-Farrell/119239c89c4170d237ff0f0e314078bd7923a366>> Acesso: 05 de outub 2022

BERDICK, M. Safety of food colors In: HANTHCOCK, J.N. (Ed.) Nutritional toxicology. New York: **Academic Press**, 1982 Acesso em: 13 de agos 2022

Cadmium. International Programme on Chemical Safety. **Environmental Health Criteria**, 1992. Disponível em:

<<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/38998/9241571349-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y>> Acesso em: 10 de outub de 2022.

CÂNDIDO, A. C. D. S.; SCHMIDT, V.; LAURA, V. A.; FACCENDA, O.; HESS, S. C.; SIMIONATTO, E.; PERES, M. T. L. P. Potencial alelopático da parte aérea de *Senna occidentalis* (L.) **Acta Botânica brasílica**. 2010. Disponível em: <https://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ArqMudi/article/view/62737> Acesso em: 02 de Setemb 2022

CARITÁ, R. Efeito genotóxico e mutagênico de amostras de águas coletadas em rios que recebem efluentes urbanos e industriais de um pólo ceramista por meio do sistema-teste *Allium cepa*. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Biológicas) - UNESP, Rio Claro, 2010. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/ambiagua/a/KSP8wrqQjpTy9j7BS4PHmSc/?lang=en>> Acesso em: 13 de agos de 2022

CEYHAN, B.M.; *et al.* Effects of maternally exposed coloring food additives on receptor expressions related to learning and memory in rats. **Food and Chemical Toxicology**, 2013. Disponível em: <<https://www.talkingaboutthescience.com/ceyhan2013/>> Acesso em: 02 de setemb de 2022

CHAUHAN LKS, SAXENA PN, GUPTA SK, Cytogenetic effects of cypermethrin and fenvalerate on the root meristem cell of *Allium cepa*. 1999 Disponível em <<https://europepmc.org/article/med/16168554>> Acesso em: 05 de agos 2022

EFSA. European Food Safety Authority. Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS); Scientific Opinion on the re-evaluation of Litholrubine BK (E 180) as a food additive.

European Food Safety Authority Journal, 2010.

Disponível em <<https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1586>> Acesso em: 13 de agos 2022

ESMAEILI, S. *et al.* Degradation products of the artificial azo dye, Allura red, inhibit esterase activity of carbonic anhydrase II: A basic in vitro study on the food safety of the colorant in terms of enzyme inhibition. **Food Chemistry**, v. 213, p. 494-504, 2016. Disponível em: <<https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201600267304>> Acesso em: 20 de agos 2022

ETEMADI, A. *et al.* Mortality from different causes associated with meat, heme iron, nitrates, and nitrites in the NIH-AARP Diet and Health Study: population based cohort study. **British Medical Journal**, v. 357, n. j1957, p. 1-30, 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28487287/>> Acesso em: 13 de agos 2022

EVANGELISTA J. **Definição e normas regulamentares.**
In: Evangelista J, organizador. Tecnologia de alimentos. 2a Ed.
São Paulo: Editora Atheneu; 2000 Acesso em: 10 de outub 2022

FDA. Food and Drug Administration , **Government
Publicing Office**, 2019. Disponível em:
<https://bookstore.gpo.gov/agency/food-and-drug-administration-fda>
Acesso em: 02 de setemb 2022

FERREIRA, P. M. P. *et al.*, ASPECTOS Translacionais da
Toxicodinâmica de Aditivos Alimentares. **Atena Editora**,
2020. Disponível em: <<https://www.atenaeditora.com.br/catalogo/ebok/aspectos-translacionais-da-toxicodinamica-de-aditivos-alimentares>> Acesso em: 13 de outub 2022.

FRIBERG, L. *et al.* Handbook on the toxicology of metals.
Amsterdam: Elsevier, 1979. Disponível em:
<https://www.elsevier.com/books/handbook-on-the-toxicology-of-metals/nordberg/978-0-444-59453-2> Acesso em: 13 de outub 2022

GONÇALVES. A. C. R. *et. al*; – Avaliação do perfil alimentar
de crianças com transtorno de déficit de atenção e hiperatividade,
2018. Disponível em: <<https://repositorio.uniceub.br/jspui/handle/235/12694>> Acesso em: 23 de outub 2022

GRISOLIA CK, TAKAHASHI CS., Evaluation of mutagenic
effect of the antihypertensive drug methyldopa (Aldomet) on
mammalian systems in vivo and in vitro and on *Allium cepa* Mutat,
1990 Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1994243/>>
Acesso em: 12 de agos 2022

GROVER IS, KAUR S. Genotoxicity of wastewater samples
from sewage and industrial effluent detected micronucleus assays.
1999. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10350595/>
Acesso em: 02 de setemb 2022

HERRERO, O.; PÉREZ MARTIN, J. M.; FREIRE, P. F.;
LÓPEZ, L.; PEROPADRE, A.; HAZEN, M. J. Toxicological
evaluation of three contaminants of emerging concern by use of
the *Allium cepa* test. **Mutation Research/Genetic Toxicology and
Environmental Mutagenesis**, 2012 Disponível
em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22249112/>> Acesso em: 04
de outub 2022

ISENMANN, A. F. Corantes. Timoteo,
MG. 2ª ed. 2014 Disponível em:
<<https://www.google.com/search?q=ISENMANN%2C+A.+F.+Corantes.+Timoteo%2C+MG.+2a+ed.+2014&oq=ISENMANN%2C+A.+F.+Corantes.+Timoteo%2C+MG.+2a+ed.+2014&aqs=chrome..69i57j469j0j4&sourceid=chrome&ie=UTF-8>> Acesso em: 26 de setemb 2022

Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) –
Compendium of food additive specifications. Disponível em: <
<https://www.fao.org/food-safety/scientific-advice/jecfa/en/#:~:text=JECFA%20is%20an%20international%20scientific,of%20veterinary%20drugs%20in%20food.>> Acesso em: 06 de

setemb 2022

JUUL, F.; MARTINEZ-STEELE, E.; PAREKH, N.; MONTEIRO, C.A.; CHANG, V. W. Ultra-processed food consumption and excess weight among US adults. **British Journal of Nutrition**, v. 120, n. 1, 2018 Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29729673/> Acesso em: 14 de agos 2022

KHODARAHMI, R.; ASHRAFI-KOOSHK, M. R.; KHALEDIAN, K. **Allura Red, the artificial azo dye, inhibits esterase activity of carbonicanhydrase II: a preliminary study on the food safety in term of enzyme inhibition.** Journal of Reports in Pharmaceutical Sciences, v. 4, n. 1, p. 43-52, 2015. Disponível em <https://www.jrpsjournal.com/article.asp?issn=2322-1232;year=2015;volume=4;issue=1;spage=43;epage=52;aulast=Khodarahmi;type=0> Acesso em: 06 de setemb 2022

KUS, E.; EROGLU, H. E. Genotoxic and cytotoxic effects of sunset yellow and brilliant blue, colorant food additives, on human blood lymphocytes. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25553699/> Acesso em: 01 de setemb 2022

LACERDA, F. C. B., **Citotoxicidade de aditivos alimentares sintéticos utilizados na dieta humana.** Programa de pós graduação (Pós-graduação em Ciência de Alimentos d) - UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA, [S. I.], 2017. Disponível em: https://pgalimentos.ufba.br/sites/pgalimentos.ufba.br/files/flavia_cristina_barbosa_lacerda.pdf Acesso em: 01 de setemb 2022

LEDERER, J. Alimentação e cancer. ed: **Manole Dois**, São Paulo. 1990. Disponível em: <https://www.estantevirtual.com.br/livros/jean-lederer/alimentacao-e-cancer/2856702486> Acesso em: 2 de agos 2022

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. Allium cepa test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research**, 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383574209000404> Acesso em: 06 de setemb 2022

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. **Avaliação da Qualidade de Águas Impactadas por Petróleo por Meio de Sistema-Teste Biológico (Allium cepa) - Um Estudo de Caso**, 2007. Acesso em: 02 de setemb 2022

LI, Y.; YANG, C. X.; QIAN, H. L.; ZHAO, X.; YAN, X. P. Carboxyl- functionalized covalent organic frameworks for the adsorption and removal of triphenylmethane dyes. **Applied nanomaterials**, v. 2, n. 1, p. 7290-7298, 2019. Acesso em: 26 de jul 2022

LUCOV, M. *et al.* Absorption of triphenylmethane dyes brilliant blue and patent blue through intact skin, shaven skin and lingual mucosa from daily life products. **Food and Chemical Toxicology**, 2013. Acesso em: 17 de outub 2022

M. M. SENA, Aplicação de métodos quimiométricos na especiação de cromo (VI) em solução aquosa, 1996. Acesso em:

06 de setemb 2022

MART. EX BENTH. J. F. MACBR: FABACEAE, **Análise da Mutagenicidade do Extrato Hidrossolúvel de Derris rariflora** (), **Timbó Amazônico, Através do Teste de Micronúcleo** em

Allium cepa, 2011 Disponível em:

<<https://repositorio.faema.edu.br/bitstream/123456789/577/1/POL-ETTO%2c%20P.%20O.%20-%20AN%C3%81LISE%20DA%20MUTAGENICIDADE%20DO%20EXTRATO%20PUO%20DO%20TIMB%C3%93%20AMAZ%C3%94NICO%20%28Derris%20rariflora%20MART.%20EX%20BENTH.%20J.%20F.%20MACBR.%20FABACEAE%29%2c%20ATRAV%C3%89S%20DO%20TESTE%20DE%20MICRON%C3%9ACLEO%20EM%20Allium%20cepa..pdf>> Acesso em: 07 de setemb de 2022

MARTINS, M. S. Uso de corantes artificiais em alimentos: Legislação brasileira. Aditivos & Ingredientes, P.32-37, 2015. Disponível em:

<<https://docplayer.com.br/10234990-Uso-de-corantes-artificiais-em-alimentos-legislacao-brasileira.html>> Acesso em: 08 de setemb de 2022

MIDIO, A.F.; MARTINS, D.I. **Toxicologia de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 2000. Acesso em: 06 de setemb 2022

MONTEIRO, C. A.; MOUBARAC, J. C.; LEVY, R. B.; CANELLA, D. S.; LOUZADA, M.L. C.; CANNON, G. Household availability of ultra-processed foods and obesity innineteen European countries. **Public Health Nutrition**, v. 21, 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28714422/>> Acesso 02 de nov. 2022.

MOUTINHO ILS, BERTGES LC, ASSIS RVC. Prolonged use of food dye tartrazine (FD&C yellow n^o5) and its effects on the gastric mucosa of Wistar rats. **Braz J Biol** 2007. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/bjb/a/mDzjbcVPjhj7tGtQgrVvZVt/?lang=en&format=pdf>> Acesso em: 01 de nov. 2022

PARVAN, LAIS GONÇALVES; LEITE, THAÍS GONÇALVES; FREITAS, THAYNARA BARBOSA; PEDROSA, POLYANA APARECIDA ALMEIDA; CALIXTO, JULIANA SENA; AGOSTINHO, LUCIANA DE ANDRADE. Bioensaio com Allium cepa revela genotoxicidade de herbicida com flumioxazina. **Revista pan-amazônica de saúde (impresso)**, v. 11, p. 1-10, 2020 Disponível em:

<http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2176-62232020000100018> Acesso em: 18 de ago 2022.

PEREIRA, B. B. *et al.* **Aditivos alimentares Conceitos, aplicações e toxicidade**, Editora Fucamp, 2013. Disponível em: <<https://www.unifucamp.edu.br/wp-content/uploads/2019/06/editora-fucamp-livro-boscolli-3-2019.pdf>> Acesso em: 11 de out de 2022

PERON, A. P.; CANESIN, E. A.; CARDOSO, C. M. V. Potencial mutagênico das águas do Rio Pirapó (Apucarana, Paraná, Brasil) em células meristemáticas de raiz de Allium cepa L. **Revista Brasileira de Biociências**, 2009. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/download/1127/853>> Acesso em: 01 de out de 2022

POLLOCK I. Hyperactivity and food additives. **Bibl Nutr Dieta** 1991. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1930126/>> Acesso em: 01 de nov. 2022

POLÔNIO, M. L. T. Percepção de mães quanto aos riscos à saúde de seus filhos em relação ao consumo de aditivos alimentares: o caso dos pré-escolares do Município de Mesquita. 2010. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/handle/icict/12826/ve_Maria_L%FAcia_ENSP_2010%20.pdf;jsessionid=node0bpf16tj6en6wxvxbopc60jd9259892.node0?sequence=1 / > Acesso em: 10 de nov. de 2022

POLÔNIO, M.L.T; PERES, F. Consumo de aditivos alimentares e efeitos à saúde: desafios para a saúde pública brasileira. **Cad.Saúde Pública**, 2009. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/csp/a/XVPR6xTdLqhnRvhCsfqrjRz/?format=pdf&lang=pt> > Acesso em: 08 de outub 2022.

POULSEN E. Case study: erythrosine. **Food Addit Contam** 1993; Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8395413/>. > Acesso em: 22 de outub 2022.

PRADO, M.A.; GODOY, H.T. **Teores de corantes artificiais em alimentos determinados por cromatografia líquida de alta eficiência**. Química Nova, São Paulo, 2007. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/244749699_Teores_de_corantes_artificiais_em_alimentos_determinados_por_cromatografia_liquida_de_alta_eficiencia Acesso em: 04 de agos de 2022.

RAJAN, J. P.; SIMON, R. A.; BOSSO, J. V. Prevalence of sensitivity to food and drug additives in patients with chronic idiopathic urticaria. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice**, 2013 Disponível: Prevalence of sensitivity to food and drug additives in patients with chronic idiopathic urticaria. | Semantic Scholar Acesso em: 04 de novemb de 2022.

RAUBER, F.; CHANG, K.; VAMOS, E. P.; DA COSTA LOUZADA, M. L.; MONTEIRO, C. A.; MILLETT, C.; LEVY, R. B. Ultra-processed food consumption and risk of obesity: a prospective cohort study of UK Biobank. **European Journal of Nutrition**, v. 60, n. 4, 2020. Disponível em <<https://www.stopchildobesity.eu/wp-content/uploads/2021/11/ALSPAC-UPF-Adposity-Accepted.pdf> > Acesso: 05 de novemb 2022

REYES, F. G. R.; PRADO, M. A. JECFA - Aditivos e Contaminantes Alimentares - **Notícias ILSI Brasil** v. 9, 2001. Disponível em: < <http://ilsibrasil.org/> > Acesso: 05 de novemb 2022

ROCHA. A. P. N, – **A presença de corantes na alimentação de crianças e adolescentes e implicações na saúde pública**, 2015. Disponível em: <https://eg.uc.pt/bitstream/10316/37766/1/A%20presenca%20de%20corantes%20na%20alimentacao%20de%20criancas%20e%20adolescentes%20e%20implicacoes%20na%20saude%20publica.pdf> > Acesso: 28 de outub 2022

ROVINA, K.; PRABAKARAN, P. P.; SIDDIQUEE, S.;

SHAARANI, S. M. Methods for the analysis of Sunset Yellow FCF (E110) in food and beverage products—a review. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 85, p. 47-56, 2016 Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.05.009>> Acesso: 28 de outubro 2022

BRASIL. Ministério da Saúde (Brasil). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. **Lei nº 9.782, de 26 de janeiro de 1999**. Define o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária, cria a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, e dá outras providências. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/LEIS/L9782.htm> Acesso em: 12 de setembro 2022

SOUZA, R. M. de. **Corantes naturais alimentícios e seus benefícios à saúde**. Centro Universitário Estadual da Zona Oeste. Rio de Janeiro, 2012. Disponível em: <<http://www.uezo.rj.gov.br/tccs/ccbs/Rosilane%20Moreth%20de%20Souza.pdf>> Acesso em: 12 de setembro 2022

XU, Z., GU, C., WANG, K., JU, J., WANG, H., RUAN, K. & FENG, Y. Arctigenic acid, the key substance responsible for the hypoglycemic activity of Fructus Arctii. **Phytomedicine**, 2015. Disponível em: <10.1016/j.phymed.2014.11.006> Acesso em: 12 de setembro 2022

LEME, D. M.; OLIVEIRA, G. A. R.; MEIRELES, G.; BRITO, L. B.; RODRIGUES, L. B.; PALMA DE OLIVEIRA, D. Eco- and genotoxicological assessments of two reactive textile dyes. **Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A**, v.78, n.5, p.287-300, 2015 Disponível em <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25734625/>> Acesso em: 12 de setembro 2022

SANDHI MB, PINHEIRO ARO, SICHIERI R, MONTEIRO CA, FILHO MB, SCHIMIDT MI. **Análise da Estratégia Global para Alimentação, Atividade Física e Saúde, da Organização Mundial da Saúde**. Epidemiol Serv Saúde 2005. Disponível em <<http://dx.doi.org/10.5123/S1679-49742005000100005>> Acesso em: 12 de setembro 2022

SANTO, DIEGO ESPIRITO; DUSMAN, ELISÂNGELA; DA SILVAGONZALEZ, REGIANE; ROMERO, ADRIANO LOPES; DOS SANTOS GONÇALVES DO NASCIMENTO, GABRIELLE CRISTINA; DE SOUZA MOURA, MATHEUS AUGUSTO; BRESSIANI, PATRICIA ALINE; FILIPI, ÁDILA CRISTINA KRUKOSKI; GOMES, EDUARDO MICHEL VIEIRA; POKRYWIECKI, JUAN CARLOS; DA SILVA MEDEIROS, FLÁVIA VIEIRA; DE SOUZA, DÉBORA CRISTINA; PERON, ANA PAULA. Prospecting toxicity of octocrylene in *Allium cepa* L. and *Eisenia fetida* Sav. **Environmental Science and Pollution Research**, p. 13, 2022. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36053420/>> Acesso: 02 de novembro 2022

BRASIL. Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Portaria nº 540, de 27 de outubro de 1997. Aprova o Regulamento Técnico: Aditivos Alimentares – definições, classificação e emprego. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, 28 out. 1997. Disponível em: https://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/540_97.htm Acesso: 04 de setemb 2022

BARROS, W.R.P. Degradação eletroquímica dos corantes alimentícios amarant o e tartrazina utilizando H₂O₂ eletrogerado in situ em eletrodo de difusão gasosa (EDG) modificado com ftalocianina de cobalto (II) e cobre (II). **Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental. Tese de Doutorado**. Universidade de São Paulo. 2014. Disponível em: <http://repositorio.iqsc.usp.br/handle/RIIQSC/4630> >Acesso em: 04 de setemb 2022

BATADA, A. JACOBSON, M.F. **Prevalence of artificial food colors in grocery store products marketed to children. Clinical pediatrics**, v. 55, n. 12, p. 1113-1119, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27270961/#:~:text=The%20most%20common%20FCs%20were,did%20not%20have%20any%20AFCs>. Acesso em: 04 de setemb 2022

TOMASKA, L. D.; BROOKE-TAYLOR, S. Food Additives. In: MOTARJEMI, Y.; MOY, G.; TODD, E. (ed.). **Encyclopedia of Food Safety**, 1 ed. v. 2. Cambridge: Academic Press, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-378612-8.00234-1> > Acesso em: 04 de setemb 2022

TSUDA, S. *et al.* DNA damage induced by red food dyes orally administered to pregnant and male mice. **Toxicological Sciences**, v. 61, n. 1, p. 92-99, 2001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11294979/> > Acesso em: 12 de setemb 2022

UNDERWOOD, E. J. Trace elements in human and animal nutrition. 4th ed., New York: **Academic Press**, 1977. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/book/9780127090658/trace-elements-in-human-and-animal-nutrition> > Acesso: 16 de ago 2022

VALIM, M. F. C. F. A. Avaliação do efeito de corantes orgânicos sintéticos artificiais na função respiratória mitocondrial. **Dissertação Mestrado em Ciências de Alimentos**, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1989. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-1073859> Acesso: 16 de ago 2022

VAN HOOFT, J. A. Fast green FCF (food green 3) inhibits synaptic activity in rat hippocampal interneurons. **Neuroscience Letters**, v. 318, n. 3, 2002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11803124/> > Acesso: 01 de outub 2022

WELZ, B.; SPERLING, M.; Atomic Absorption Spectrometry, **3rd ed. Wiley-VCH:Weinheim,** 1999. Disponível em:<
[https://www.scirp.org/\(S\(czeh2tfqyw2orz553k1w0r45\)\)/reference/referencpapers.a.spx?referenceid=2469545](https://www.scirp.org/(S(czeh2tfqyw2orz553k1w0r45))/reference/referencpapers.a.spx?referenceid=2469545) >Acesso: 01 de outub2022

WILLETT WC. Dieta, nutrição e câncer. In: Shills ME, Olson JA, Moshi S, Rossi C, organizadores. **Tratado de nutrição modernana saúde e na doença.** v. II. 9a Ed. Barueri: Editora Manole; 2003. Disponível em:
<<https://www.skoob.com.br/livro/pdf/tratado-de-nutricao-moderna-na-saude-e-n/livro:451274/edicao:511232>> Acesso: 04 de outub 2022