

AValiação DO POTENCIAL CITOTÓXICO DO GLUTAMATO MONOSSÓDICO E BENZOATO DE SÓDIO

Luiz Gustavo Antunes Pessoa (PIBIC, Fundação Araucária)
Unespar/Campus Paranavaí, luiz_antunes15@hotmail.com
Paulo Alfredo Feitoza Bohm (Orientador)
Unespar/Paranavaí, pauloalfredobiologo@gmail.com
Franciele Mara Lucca Zanardo Bohm (Coorientadora)
Unespar/Paranavaí, fzanardobohm@gmail.com

RESUMO: Os hábitos alimentares da população brasileira mudaram consideravelmente ao longo das últimas décadas. A utilização de alimentos enlatados, congelados ou em conserva aumentou consideravelmente. Estes alimentos contêm aditivos que podem ser de origem natural ou sintética, classificados como conservadores, corantes, emulsificantes e realçadores de sabor, como o glutamato monossódico. Encontram-se estudos sobre os aditivos para mostrar seus efeitos na saúde humana, mas pouco se encontra na literatura frente à grande quantidade destas substâncias que são utilizadas na indústria alimentícia. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial citotóxico do aditivo benzoato de sódio e do flavorizante glutamato monossódico, utilizando-se para isto o teste do *Allium cepa*, as diluições destes compostos utilizadas neste trabalho foram próximas às descritas no consumo médio diário das pessoas. Bulbos de cebola (*Allium cepa*) foram lavados, esgarçados e colocados em água para crescimento de raízes. Os bulbos controles permaneceram em água destilada por mais 72 horas, enquanto os bulbos tratados foram separados em dois grupos, o tratamento que permaneceu 72h em contato com soluções de glutamato monossódico ou benzoato de sódio e o grupo de recuperação que ficou 48h no tratamento e mais 24h em água destilada para recuperação. Depois as raízes foram medidas para a avaliação da toxicidade, em seguida foram esmagadas e submetidas à coloração com orceína acetoclorídrica. As lâminas foram analisadas ao microscópio de luz. Raízes de cebola crescidas nas condições já descritas foram colocadas em solução de Azul de Evans 0,25%, lavadas e submetidas à análise de viabilidade celular em espectrofotômetro a 600 nm. Os resultados mostraram que o glutamato monossódico e benzoato de sódio na concentração de 10g/L foram tóxicos e reduziu o comprimento das raízes de cebola em 60% e 21,7% respectivamente. A determinação de viabilidade celular mostrou que os tratamentos não provocaram morte celular. A análise das lâminas não mostrou mutagenicidade, foi possível identificar em ambos que houve diferenciação precoce de células da zona meristemática, o que indica que as raízes foram submetidas a uma condição de estresse. Portanto este trabalho mostrou que estes aditivos alimentares foram tóxicos para as raízes de cebola, mas não provocaram morte celular.

Palavras-chave: *Allium cepa*, aditivos alimentares, saúde.

Encontro Anual de Iniciação Científica
Universidade Estadual do Paraná
Campo Mourão, 27 a 29 de outubro de 2015.

INTRODUÇÃO

A utilização de aditivos alimentares vem desde as civilizações mais antigas, quando o sal (cloreto de sódio) era utilizado para conservar carnes por mais tempo. Os romanos colocavam enxofre no vinho para também conservá-lo por mais tempo. As ervas eram utilizadas como temperos para realçar o sabor dos alimentos, como ainda são. Atualmente a utilização de aditivos é muito comum, é difícil encontrar um alimento que não contenha algum tipo de aditivo.

Efeitos relacionados ao consumo de aditivos alimentares não são comumente descritos. O corante artificial tartrazina encontrado nos sucos artificiais, gelatinas e balas coloridas, sulfitos usados como conservantes em alimentos (frutas desidratadas, vinhos, sucos industrializados) e glutamato monossódico presente nos alimentos salgados como temperos (caldos de carne ou galinha) são relatados como causadores de reações (Pereira et al., 2008).

Os estudos sobre os efeitos à saúde causados pelos corantes artificiais são insuficientes e bastante contraditórios, diversos autores relatam as reações adversas que podem provocar como reações alérgicas, enquanto outros autores demonstram a ação antitumoral de alguns deles (Prado; Godoy, 2007).

O glutamato monossódico é um sal derivado do aminoácido ácido glutâmico, ele é o principal constituinte das proteínas alimentares e ocupa um papel primordial no metabolismo dos aminoácidos em geral. Sendo assim, os aditivos não são a única fonte de glutamato (Beyreuther et al., 2007).

Estudos desenvolvidos em países industrializados estimam que a ingestão do glutamato monossódico esteja entre 0,3 a 1 g por pessoa por dia, podendo ser bem maior que isso dependendo da quantidade deste sal que compõe o alimento *in natura* e a preferência de paladar individual. Doses máximas de ingestão de ácido glutâmico na proporção de 16 g/kg de peso por dia são relatadas como seguras (Beyreuther et al., 2007).

Faltam estudos que estabeleçam os efeitos da ingestão de glutamato monossódico, já que ele está presente em muitos alimentos e também é utilizado como sal por muitas pessoas.

O benzoato de sódio é utilizado como conservante alimentício nos seguintes produtos: maionese, conservas salgadas – ao vinagre ou ao óleo, bolos pré-preparados, margarina, sorvetes, compotas, produtos a base de peixe, produtos lácteos não quentes, goma de mascar, mostarda e condimentos similares e alimentos dietéticos diversos. Além destes, alimentos

Encontro Anual de Iniciação Científica
Universidade Estadual do Paraná
Campo Mourão, 27 a 29 de outubro de 2015.

ácidos e bebidas tais como sucos de frutas e concentrados líquidos de chá, (com ácido cítrico), bebidas gaseificadas (com presença de ácido carbônico), incluindo as águas minerais (embora alcalinas), refrigerantes (com ácido fosfórico) e pickles (vinagre) são preservadas com benzoato de potássio (Aun et al., 2011). Na União européia não é recomendado o consumo por crianças.

Mais estudos são necessários para avaliar se este conservante pode ter algum efeito sobre a saúde e se ele pode comprometer de alguma forma o metabolismo celular.

O método de avaliação de alterações cromossômicas em raízes de *Allium* é validado pelo Programa Internacional de Segurança Química (IPCS, OMS) e o Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP) como um eficiente teste para análise e monitoramento *in situ* da genotoxicidade de substâncias ambientais (Cabrera; Rodriguez, 1999).

Fiskesjo (1993, 1994), ressaltou a importância e a utilidade de sistemas testes vegetais na avaliação de riscos de genotoxicidade e enfatizou que apesar das diferenças entre os metabolismos de plantas e animais, há também similaridades, e que a ativação de prómutagênico em plantas possui alta relevância, pois seres humanos consomem plantas tratadas com agentes químicos.

Grisolia e Takahashi (1990) usaram o sistema teste vegetal de *Allium cepa* para o estudo dos efeitos de metildopa (droga antihipertensiva), sobre o ciclo celular de cebola, indicando uma diminuição do índice mitótico de *Allium cepa* em todas as concentrações testadas e também a possível toxicidade da droga.

Desta forma o teste do *Allium cepa* constitui uma metodologia de baixo custo e que confere resultados confiáveis para avaliação de efeitos citotóxicos e mutagênicos. O emprego deste teste para avaliar os efeitos de substâncias alimentares pode contribuir como um recurso quanto à necessidade de outras análises sobre os efeitos citológicos destas substâncias.

OBJETIVO

Avaliar o potencial citotóxico e mutagênico do glutamato monossódico e benzoato de sódio através da análise da:

[Digite texto]

Encontro Anual de Iniciação Científica
Universidade Estadual do Paraná
Campo Mourão, 27 a 29 de outubro de 2015.

Medida do comprimento das raízes de cebola.

Avaliação do número de mitoses obtida pelo índice mitótico.

Observação e contagem de anáfases irregulares e presença de micronúcleos.

Determinação da viabilidade celular.

MATERIAIS E MÉTODOS

Teste do *Allium cepa*

Bulbos de cebola (*Allium cepa*) de tamanho médio foram obtidos comercialmente e submetidos ao teste. Os bulbos foram lavados em água corrente e escarificados. Os bulbos controles permaneceram em água destilada em temperatura ambiente, enquanto os bulbos tratados ficaram inicialmente cinco dias em água e depois foi separado em dois grupos, cada grupo contou com cinco bulbos, o primeiro permaneceu 48h em contato com soluções de glutamato monossódico ou benzoato de sódio separadamente e mais 24h em água destilada para recuperação. O segundo grupo permaneceu em solução sem a recuperação. Para o estudo do glutamato monossódico como para o benzoato de potássio foram feitas diluições próximas às encontradas nos rótulos dos produtos para serem testadas.

Após o período em água ou solução as raízes foram lavadas, cortadas e medidas para a avaliação da toxicidade, em seguida as raízes foram esmagadas e submetidas à coloração comorceína acetoclorídrica. As lâminas foram analisadas ao microscópio de luz.

Viabilidade Celular

Raízes de cebola crescidas nas condições já descritas foram colocadas em solução de Azul de Evans 0,25% durante 15 minutos. Em seguida as raízes foram lavadas em água corrente e colocadas em placas de Petri contendo água destilada durante 30 minutos. Foi cortado 1 cm da extremidade e transferido para ependorff contendo 1ml de dimetilformamida durante 50 minutos. A leitura foi feita em espectrofotômetro a 600 nm

Análise Estatística

A análise dos dados foi efetuada pelo programa Primer®, e aplicando-se os procedimentos estatísticos convencionais. O critério de significância adotado foi de

[Digite texto]

Encontro Anual de Iniciação Científica
Universidade Estadual do Paraná
Campo Mourão, 27 a 29 de outubro de 2015.

$P \leq 0,05$ e todos os valores foram expressos como a média de quatro experimentos independentes \pm desvio padrão da média.

RESULTADOS

Comprimento das raízes de cebola submetidas ao tratamento com Glutamato monossódico 10g/L, 15g/L e Benzoato de Sódio 10g/L. Os resultados foram expressos pela média seguida do desvio padrão. As médias com letras diferentes foram estatisticamente diferentes entre si para cada tratamento com seu respectivo controle.

Comprimento das raízes de cebola		
Controle (n=20)	3,74 \pm 0,58 ^a	
Glut. 10g/L (n=16)	1,49 \pm 0,20 ^b	- 60,1%
Glut. 10g/L + Rec (n=12)	1,00 \pm 0,18 ^c	-73,2%
Controle (n=13)	3,83 \pm 0,40 ^a	
Glut. 15g/L (n=13)	3,90 \pm 0,43 ^a	
Glut. 15g/L + Rec (n=13)	3,25 \pm 0,23 ^a	
Controle (n=15)	5,06 \pm 0,48 ^a	
Benzoato 10g/L (n=15)	3,96 \pm 0,26 ^b	- 21,7%
Benzoato 10g/L + Rec (n=15)	3,93 \pm 0,21 ^b	- 21%

Resultados de Viabilidade Celular. As barras indicam o índice de morte celular obtido em análise espectrofotométrica.

Resultados de Viabilidade Celular. As barras indicam o índice de morte celular obtido em análise espectrofotométrica.

CONCLUSÃO

O teste do *Allium cepa* mostrou que o benzoato de sódio e o glutamato monossódico foram tóxicos para as raízes, pois reduziram o comprimento das mesmas e causaram danos celulares. Apenas com a utilização do glutamato monossódico em maior concentração observou-se morte celular significativa. Os compostos utilizados provocaram estresse nas raízes, evidenciado pela diferenciação celular precoce principalmente no tratamento com benzoato de sódio.

REFERÊNCIAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Portaria 540. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/>> Acesso em: 20/02/2014.

AUN, M.V.; MAFRA, C.; PHILIPPI, J.C.; KALIL, J.; AGONDI, R.C.; MOTTA, A.A. Aditivos em alimentos. **Rev. bras. alerg. imunopatol.** Associação Brasileira de Alergia e Imunologia (SBAI), 2011.

BEYREUTHER, K.; BIESALLSKI, H.; FERNSTROM, J.D.; GRIMM, P.; HAMMES, W.P.; HEINEMANN, U. Consensus meeting: monosodium glutamate - an update. **Eur J Clin Nutr.** 7; 61:304-13, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 540 de 27 de outubro de 1997. **Regulamento Técnico: Aditivos Alimentares: definições, classificações e emprego.** Disponível em: <www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 14/11/2013.

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

FISKESJO, G. The *Allium* test. In: wastewater monitoring. **Environ Toxicol Water Qual** 8: 291-298, 1993.

FISKESJO, G. 1994. The *Allium* Test II: Assesmente of chemical's genotoxic potential by recording aberrations in chromosomes and cell divisions in root tips of *Allium cepa* L. **Environ Toxicol Water Qual** 9: 234-241, 1994.

Encontro Anual de Iniciação Científica
Universidade Estadual do Paraná
Campo Mourão, 27 a 29 de outubro de 2015.

GRISOLIA, C.K.; TAKAHASHI, C.S. Evaluation of mutagenic effect of the antihypertensive drug methyldopa (Aldomet) on mammalian systems in vivo and in vitro and on *Allium cepa*. **Mutat Res** 259: 127-132, 1990.

PEREIRA, A. C. S.; MOURA, S. M.; CONSTANT, P. B. L. Alergia alimentar: sistema imunológico e principais alimentos envolvidos. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 29, n. 2, p. 189-200, jul./dez. 2008.

PERON, A. P; Marcos, M.C; Cardoso, S.C.; Vicentini, V.E.P. Avaliação do potencial citotóxico dos chás de *Camellia sinensis* L. e *Cassia angustifolia* vahl em sistema teste vegetal . [Arg. ciências saúde UNIPAR](#);12(1):51-54, jan.-abr. 2008.

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, 25(8):1653-1666, 2009.

PRADO, M. A.; GODOY, H. T. Corantes artificiais em alimentos. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v.14, n.2, p. 237-250, 2003.