



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS DE REALEZA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

MARIA KISATHOWSKI FISS

**AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DE ÁGUAS ACONDICIONADAS EM GARRAFAS
PET, UTILIZANDO O SISTEMA TESTE DE *Allium cepa* L.**

REALEZA

2019

MARIA KISATHOWSKI FISS

**AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DE ÁGUAS ACONDICIONADAS EM GARRAFAS
PET, UTILIZANDO O SISTEMA TESTE DE *Allium cepa* l.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Ciências Biológicas - Licenciatura da Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza - PR, como requisito para a obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Izabel parecida Soares

REALEZA

2019

Geração de Ficha de Identificação da Obra

* preenchimento obrigatório

Maria Kisathowski Fiss

Atenção: Nomes próprios deverão iniciar com letra Maiúscula(ex: Brasil)
Nas siglas todas as letras em maiúsculo(ex: UFFS, PR, SC , RS)

AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DE ÁGUAS ACONDICIONADAS

Subtítulo

TCC



Licenciatura em Ciências Biológicas



Orientadora



Dra. Izabel parecida Soares

Doutora

Co-orientador



Nome do Co-orientador(a)

Titulação do Co-orientador

Campus Realeza

MARIA KISATHOWSKI FISS

**AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DE ÁGUAS ACONDICIONADAS EM GARRAFAS
PET, UTILIZANDO O SISTEMA TESTE DE *Allium cepa* l.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Ciências Biológicas - Licenciatura da Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza - PR, como requisito para a obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Izabel Aparecida Soares

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em:

____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Alexandre Carvalho de Moura UFFS

Profa. Dra. Vanessa Silva Retuci - UFFS

Profa. Dra. Izabel Aparecida Soares (orientadora) - UFFS

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	06
2. MATERIAL E MÉTODOS	08
3. RESULTADO	09
4. DISCUSSÃO	11
5. CONCLUSÕES	1Erro! Indicador não definido.
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	14

RESUMO - A preocupação com a qualidade da água está entre os motivos relacionados ao crescente consumo de água engarrafada. Porém para a água mineral engarrafada em embalagens plásticas, é importante considerar se o material da embalagem pode afetar a qualidade da água, que permanece por meses envasada, antes do consumo. Um dos compostos presente em embalagens plásticas (PET) é o antimônio (Sb) um elemento considerado não essencial para os seres humanos. É considerado tóxico para a saúde dos seres vivos, podendo apresentar carcinogenicidade e mutagenicidade. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar possíveis efeitos toxicológicos de água engarrafada mantida em geladeira e água engarrafada submetida a exposição solar por meio do bioensaio com *Allium cepa*. As análises foram feitas com duas marcas comercializadas no município de Realeza, região sudoeste do Paraná. Os bulbos de *Allium cepa* foram colocados para germinar, durante 72 horas, na proporção de três para cada amostra dos pontos de coleta, três em água destilada para parâmetro de controle e três em solução aquosa de sulfato de cobre 0,0006% controle positivo. Posteriormente, as raízes foram submetidas ao protocolo de Feulgen com modificações, para a confecção das lâminas. Foram observadas alterações nos valores de índice mitótico e alterações cromossômicas. Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística pelo teste do qui quadrado com confiabilidade de 5% e comprovado os efeitos mutagênicos. Os resultados indicam que as marcas analisadas quando submetidas a temperaturas acima de 36°C liberam substâncias químicas que causam intoxicação e mutações com potencial para causar danos no genoma. Dos resultados obtidos, podemos concluir que o plástico quando exposto a temperaturas acima de 36°C, libera substâncias capaz de induzir danos no DNA. O estudo reforça a necessidade de desenvolver estratégias para conscientizar a população sobre o armazenamento inadequado da água envasada, e alertar quanto aos danos que podem ocorrer no organismo.

Palavras-chave: Bioensaio; Mutagenicidade; PET; antimônio; temperatura.

1. INTRODUÇÃO

A água potável se caracteriza por ser inodora, sem gosto e transparente sendo de suma importância para a manutenção da vida humana, atuando nas funções corporais, transporte de nutrientes para as células e hidratação do corpo (MARCINKOWSKA; LORENC; BARALKIEWICZ, (2017).

No mercado mundial, a preocupação com a qualidade da água, decorrente da progressiva poluição hídrica, é um dos motivos para o aumento do consumo de água proveniente de fontes minerais (LECLERC; MOREAU, 2002). A associação da ingestão da água mineral ao estilo de vida saudável levou ao aumento do seu consumo. (MAVRIDOU, 1992).

As águas minerais são caracterizadas como obtidas diretamente de fontes naturais ou artificialmente captadas de origem subterrânea (ANVISA, 2005). O elemento predominante na sua composição varia com as rochas e terrenos pelos quais percorre enquanto infiltra-se no solo, podendo apresentar alterações devido às condições hidrogeológicas, hidroclimáticas e o bioma (RESENDE; PRADO, 2008).

O Brasil está entre os países que possuem um dos maiores volumes deste recurso hídrico, que é destinado a diversos fins como irrigação, uso doméstico, abastecimento público, turismo, indústria e comércio. No que diz respeito ao último, vem se intensificando a comercialização de água subterrânea por meio da venda de água mineral engarrafada, sendo um produto conhecido pela população como fonte de hidratação saudável por ser proveniente de fontes seguras e confiáveis de água potável (MARCINKOWSKA; LORENC; BARALKIEWICZ, 2017).

A água mineral engarrafada é um produto largamente consumido no Brasil por ser considerada fonte confiável de água potável. Contudo as embalagens utilizadas pelas indústrias, entre outras aplicações, para envase de alimentos e bebidas, como a água mineral pode ser fonte de contaminação (CARNEADO, 2015; JESUS, 2016). A água mineral pode ser engarrafada em embalagens plásticas e pode permanecer por meses envasada, antes do consumo. Sendo importante considerar se o material da embalagem pode afetar a qualidade da água consumida (MARCINKOWSKA; LORENC; BARALKIEWICZ, 2017).

Os elementos como o antimônio (Sb) e o cromo (Cr) podem ser encontrados no ambiente de forma natural ou decorrente de atividades antrópicas, tais como processos industriais, metalúrgicos, bem como em embalagens plásticas, as quais podem entrar em contato com a água, tornando-se fonte de contaminação (DAMODARAN; PARKIN;

FENNEMA, 2010). A biodisponibilidade, toxicidade ou essencialidade de Sb e Cr para os seres humanos está associada às diferentes espécies e concentração desses elementos presentes no meio (HU; CAI; JIANG, 2016; SAPUTRO, 2014).

Nas embalagens PET é encontrado um composto, o Sb que é um elemento considerado não essencial para os seres humanos por ser considerado tóxico para a saúde dos seres vivos, relacionado com processos de carcinogenicidade e mutagenicidade. Potencial toxicidade apresentado pelo Sb tem levado a este elemento ser considerado um poluente prioritário pela União Europeia (PAYÁN, 2017). Este elemento pode ser considerado ainda um interferente endócrino (IE) (CHOE, 2003). Os IE vêm sendo alvo de estudos, pois podem promover efeitos biológicos nos organismos, alterações na função reprodutiva, infertilidade, aumento da incidência de diferentes formas de câncer, além de alterações metabólicas, obesidade, diabetes e outros desvios de metabolismo, bioacumulação e toxicidade crônica (GAMA, 2012; GHISELLI; JARDIM, 2007).

Assim, possíveis efeitos genotóxicos, mutagênicos e citotóxicos, o teste *Allium cepa* é um bioensaio importante de avaliação da qualidade da água. É um teste rápido com muitas vantagens: baixo custo, fácil manipulação, cromossomos em boas condições para estudo de danos ou distúrbios na divisão celular, além de ser sensível e de apresentar boa correlação com outros sistemas de teste. Resultados positivos no teste de *Allium cepa* devem ser considerados como um alerta e também um indicativo de que o fator químico testado pode ser um risco para a saúde do homem (FISKESJÖ, 1985).

Genotoxicidade refere-se à capacidade de alguns agentes químicos de danificar a informação genética no interior de uma célula, causando mutações ou induzindo modificações na sequência nucleotídica ou da estrutura do DNA de um organismo vivo (TEIXEIRA, 2003).

Nas populações, podem aumentar a incidência de câncer, doenças hereditárias, bem como aumentar a virulência de patógenos. Os compostos mutagênicos encontram-se distribuídos na água, solo e no ar, são transferidos e acumulados através das cadeias tróficas, podendo causar danos genéticos ou efeitos genotóxicos nos indivíduos ou populações (FACHINETTO, 2007).

Assim, esse trabalho tem o objetivo de avaliar efeitos mutagênicos de águas engarrafadas em embalagens plásticas (PET), submetidas a diferentes condições de temperatura.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido no período de agosto a setembro de 2018, no município de Realeza, localizado na região Sudoeste do Paraná, Brasil. Inicialmente foi realizada uma consulta nos mercados para saber quais as marcas de água engarrafadas mais consumidas na cidade de Realeza e Salto do Lontra, Paraná. Foram adquiridas quatro garrafas, duas da marca Fontana oro e duas da marca Crystal. Uma garrafa de cada marca foi conservada em geladeira e as outras duas expostas à luz solar em tempo médio de 6 horas diárias de exposição. As amostras eram colocadas às 12;00 horas e retiradas às 18;00 horas da tarde por 7 dias consecutivos com temperatura variável de 11 a 32 graus, os testes foram realizados no Laboratório de Microscopia da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), *campus* Realeza - PR.

Para o Bioensaio utilizou-se os bulbos de *Allium cepa* L. (cebola comum) de tamanho uniforme, adquirida em comércio local. Foram colocados em água corrente durante 1 hora e posteriormente postas para germinar em água filtrada não-clorada e no escuro. Somente as bases dos bulbos permaneceram imersas na água, a mesma sendo renovadas a cada 24 horas. Após as raízes alcançarem um comprimento de 15 a 20 mm, foram expostas às amostras das águas engarrafadas, pois é nesse período que, a proliferação celular atinge uma cinética de equilíbrio dinâmico.

Para os testes, foram utilizados três bulbos de cebola, sendo definidos como amostra: Crystal, em temperatura ambiente; Crystal, exposta à luz solar; Fontana oro, em temperatura ambiente; Fontana oro, exposta à luz solar; controle positivo; controle negativo, solução aquosa de sulfato de cobre 0,0006% controle positivo, e água destilada como controle negativo, estas foram fixadas em uma gota de Carnoy I (álcool etílico-ácido acético, 3:1) a 4°C, permanecendo uma noite em geladeira.

O controle negativo no caso do teste de *A. cepa* é a incubação da raiz da cebola em água destilada, sem tratamento específico, objetivando-se a análise do crescimento natural do vegetal, servindo como parâmetro para estudo de raízes com crescimento.

O controle positivo em teste de *A. cepa* consiste na incubação de raízes de cebola em solução aquosa com substância de comprovada mutagenicidade, o qual prevê o crescimento anormal das células meristemáticas, funcionando como parâmetro de ação genotóxica.

Posteriormente para a preparação das lâminas, foram retiradas todas e colocadas em água destilada por 20 minutos para lavagem e recuperação da hidratação normal, a seguir

foram coradas com orceína aceto-clorídrica, aquecidas por três vezes consecutivas e postas para descansar durante 30 minutos.

As regiões meristemáticas das raízes foram individualmente apoiadas sobre a lâmina, cobertas com uma gota de ácido acético e as bordas das lâminas foram vedadas com esmalte incolor até a observação microscópica. Para as análises dos parâmetros microscópicos analisou-se o índice mitótico (IM); o índice de fases (IF); e as aberrações cromossômicas.

Para a análise estatística dos dados, utilizou-se o teste do qui quadrado para a comparação dos parâmetros microscópicos dos pontos de tratamento e controle.

3. RESULTADOS

Na inspeção visual, as garrafas das marcas analisadas apresentaram-se em perfeitas condições, com lacres íntegros e com prazo de validade adequado. A água também estava dentro do prazo de validade.

Foram analisadas nove mil células para cada ponto de controle (C, 1, 2, 3, 4).

Na tabela 1, o índice mitótico (IM), calculado pelo número de células em divisão / número total de células x 100, possibilita avaliar os efeitos citotóxicos.

Foram observados através dos dados obtidos que os valores para as fases interfase em metáfase dos pontos de tratamentos (exposto à luz solar) foram menores que o ponto controle (mantido em geladeira). As fases prófase, anáfase e telófase dos pontos de tratamentos foram maiores que o ponto de controle. Para isso, define-se controle as águas mantidas em geladeira e tratamento as águas que foram deixadas à exposição solar. Células citotóxicas têm o poder de destruir outras células através da liberação de substâncias nocivas, assim sendo não causará nenhum efeito tóxico ao organismo de seres vivos.

Tabela 1. Valores dos Índices Mitóticos obtidos para os tratamentos.

Águas analisadas	Número de células analisadas	Células em Interfase	P	M	A	T	IM
Controle	9.000	4.792	98	1908	1598	11	40,16
1-Água Crystal controle	9.000	4.948	3.485	108	14	29	40,40
2-Água Fontana controle	9.000	5.253	3.398	54	26	27	39,09
3-Água Crystal tratamento	9.000	4.689	3.682	37	36	27	42,02
4-Água Fontana tratamento	9.000	5.181	3.244	40	24	39	37,18

Controle- Água mantida em geladeira **Tratamento-** Água exposta à luz solar

Na tabela 2 consta o índice de fases (IF) ou potencial genotóxico que foi calculado da seguinte maneira: $IF = \text{número de células em divisão} / \text{número total de células contadas} \times 100$. Nos pontos de tratamento 2 (fases Prófase anormal e Anáfase anormal) e 3 (Metáfase anormal e Anáfase anormal) os valores foram mais baixos que o ponto controle, e os demais IF dos tratamentos apresentam valores maiores que o ponto controle.

Tabela 2. Valores dos Índices de Fases (IF), obtidos para cada tratamento, controles negativo e positivo.

Água mineral	Sem exposição ao sol	Com exposição ao sol
Crystal	3,48	2,24
Fontana	1,53	3,61
Controle positivo	4,87	4,87
Controle negativo	3,48	3,48

Os valores para as alterações cromossômicas (AC) ou potencial mutagênico, estão apresentados na tabela 3, e foram obtidos por: $\text{número de células em divisão} / \text{número total de células contadas} \times 100$. Nota-se que as AC da água mineral Fontana, pontos controles apresentam maior similaridade com os valores do controle negativo.

Tabela 3. Valores encontrados para os micronúcleos (MN) com respectivos pontos analisados.

Água mineral	Sem exposição ao sol	Com exposição ao sol
Crystal	1,13	1,46
Fontana	1,01	1,63
Controle positivo	3,84	3,84
Controle negativo	4,65	4,65

O resultado do teste estatístico feito nas amostras de água mineral em garrafas PET indicou que os índices mitóticos (IM) apresentaram valores maiores $p < 0,05$ dando resultados negativo para efeitos citotóxicos. Índice de fases (IF), ou potencial genotóxico tiveram resultados negativos, ou seja, não causam efeito tóxico no organismo dos seres vivos. Se o resultado apresentar índice mitótico inferior a 5% colocaria em risco a saúde do consumidor.

Estatisticamente, para a análise de micronúcleos os resultados foram inferiores 5% dando a resultado positivo para mutagenicidade, tais substâncias causam mudanças prejudiciais no material genético, lesões nestas células podem ser causadas por agentes químicos, provenientes do meio ambiente, radiações ou resultantes de reações químicas que ocorrem nas próprias células. Alterações na estrutura do DNA geralmente são prejudiciais às

células, prejudicando processos vitais, como a sua funcionalidade e herança. Estes fenômenos podem levar ao desenvolvimento de processos patogênicos e morte celular (KNOLL et al, 2006).

A indução de micronúcleos, normalmente resulta da quebra de fragmentos de cromossomos ou comprometimento do fuso, levando à disjunção de anomalias cromossômicas no estágio de anáfase. Micronúcleos originados por quebras cromossômicas são decorrentes de uma resposta clastogênica causando danos aos seres vivos (KNOLL et al., 2006).

4. DISCUSSÃO

Os elementos como o antimônio (Sb) e o cromo (Cr) podem ser encontrados no ambiente de forma natural ou decorrente de atividades antrópicas, tais como processos industriais, metalúrgicos, bem como em embalagens plásticas, as quais podem entrar em contato com a água, tornando-se fonte de contaminação (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). A biodisponibilidade, toxicidade ou essencialidade de Sb e Cr para os seres humanos está associada às diferentes espécies e concentração desses elementos presentes no meio (HU; CAI; JIANG, 2016; SAPUTRO, 2014).

Nas embalagens plásticas (PET) é encontrado um composto, o antimônio (Sb) que é um elemento considerado não essencial para os seres humanos por ser considerado tóxico para a saúde dos seres vivos, podendo apresentar carcinogenicidade e mutagenicidade. Potencial toxicidade apresentado pelo Sb tem levado a este elemento ser considerado um poluente prioritário pela União Europeia (PAYÁN, 2017). Este elemento pode ser considerado ainda um interferente endócrino (IE) (CHOE, 2003). Os IE vêm sendo alvo de estudos, pois podem promover efeitos biológicos nos organismos tais como alterações na função reprodutiva, infertilidade, aumento da incidência de diferentes formas de câncer, além de alterações metabólicas como obesidade, diabetes e outros desvios de metabolismo, bioacumulação e toxicidade crônica (GAMA, 2012; GHISELLI; JARDIM, 2007).

Compostos de Sb são empregados nas garrafas plásticas como catalisadores e pigmentos, na fabricação de embalagens utilizadas para envase de alimentos e bebidas (MIHUCZ; ZÁRAY, 2016). A embalagem é um meio de proteção para produtos alimentícios e não alimentícios, visando garantir a qualidade desses produtos, durante as etapas de fabricação, armazenamento, distribuição e consumo. Com relação aos produtos alimentícios, as indústrias utilizam, principalmente, embalagens que consistem de materiais como o vidro e

os polímeros (PAYÁN, 2017). Nesse contexto, o Sb vem sendo utilizado na indústria, no processamento de embalagens plásticas, como o PET.

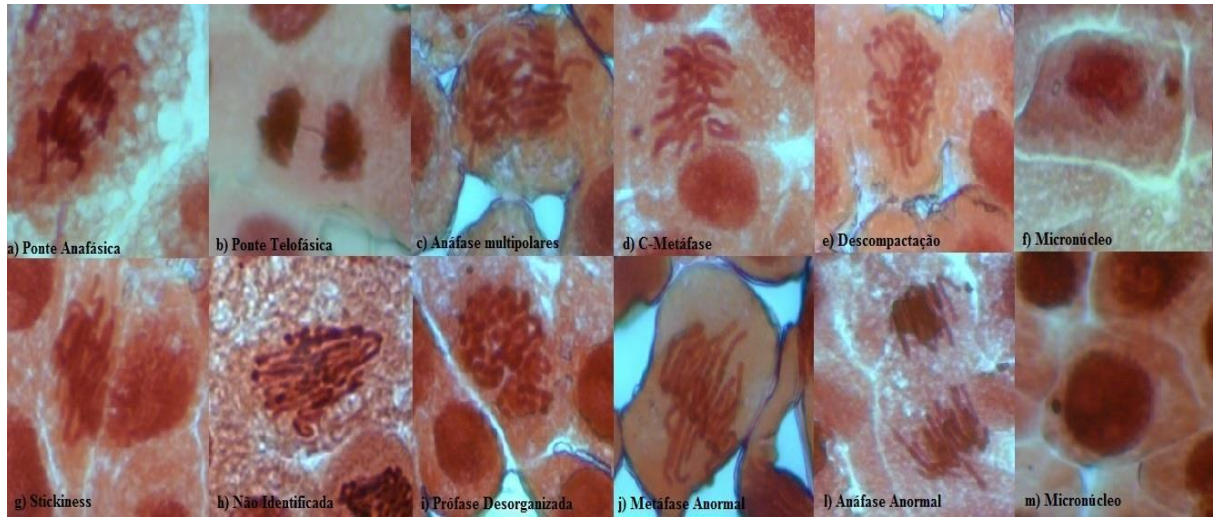
Uma das preocupações nos últimos anos refere-se ao uso das embalagens PET para envase de bebidas. Estudos reportam a presença de maiores concentrações de Sb em águas envasadas, em comparação com águas naturais (JIANG; WEN; XIANG, 2010). Diante disso, estudos da presença de Sb vêm sendo realizados em amostras, tais como água mineral, as quais são amplamente consumidas pelos seres humanos (KERESZTES, 2009). A Legislação Brasileira e o Codex Alimentarius estabelecem um limite para Sb em água mineral de 5,0 µg L-1 (BRASIL, 2010; CODEX ALIMENTARIUS, 2011). Os limites de migração específica (LME) máximo adotado para Sb é 0,04 mg kg-1 para alimentos (Brasil, 2010).

Estudos reportam ainda que Sb podem ser transferidos a partir de embalagens PET para a água mineral, e a migração deste elemento pode ser influenciada por diversos fatores, tais como o tamanho e cor da embalagem PET, o pH, a temperatura, a exposição solar e o tempo de estocagem da água mineral (PAYÁN, 2017; REIMANN; BIRKE; FILZMOSER, 2012).

Foi avaliado o teor de antimônio em 132 marcas de água mineral de 28 países. Os resultados mostraram que no Japão, duas marcas apresentaram valores iguais ou superiores ao teor de Sb permitido, que é 2,0 µg L-1. A transferência de Sb das garrafas PET para a amostra de água mineral foi avaliada durante seis meses, indicando um aumento de 19% a 90% de Sb nas amostras de água mineral, durante o período avaliado. Dessa forma, os resultados indicaram que a lixiviação apresenta comportamento variado entre as amostras. Para este estudo foram determinados apenas os teores totais de Sb nas amostras avaliadas. Outros estudos descritos na literatura reportam que a lixiviação de Sb é maior em temperaturas mais elevadas, de 40 a 80 °C, apresentando um aumento considerável acima de 60 °C, ultrapassando os limites adotados para a legislação (REIMANN; BIRKE; FILZMOSER, 2012). Welle e Franz (2011) avaliaram a concentração de antimônio (Sb) em amostras de água mineral envasada em embalagens plásticas (PET) de diferentes colorações, e observaram que a migração de Sb a partir de embalagens mais escuras é maior em relação às embalagens claras.

Para possibilitar e avaliar os efeitos ou danos que agentes mutagênicos causam, faz-se necessário que a amostra esteja em constante divisão mitótica, podendo assim identificar os efeitos tóxicos e alterações ocorridas ao longo do ciclo celular, e o teste de *Allium cepa* tem sido amplamente empregado com esse propósito (SILVA; ERDTMANN; HENRIQUES, 2003). O índice mitótico e índice de replicação são usados como indicadores de proliferação

adequada das células, que pode ser medido através do sistema teste vegetal de *Allium cepa* (GADANO, 2002).



Exemplos de anomalias cromossômicas encontradas em células das raízes de *Allium cepam* tratadas com amostras de águas comercializadas nos municípios de Realeza e Salto do Lontra, a) pontes anafásica, b) ponte telofásica, c) anáfase multipolares, d) c-metáfase, e) descompactação desigual da cromatina, f) micronúcleo, g) stickiness, h) não identificada, i) prófase desorganizada, j) metáfase anormal, l) anáfase anormal e m) micronúcleo.

5. CONCLUSÃO

Este estudo permitiu avaliar a qualidade das águas minerais consumidas pela população, onde o teor de toxinas liberadas pelo plástico ocasiona crescimento anormal, a ação inibitória de substâncias genotóxicas sobre os fusos mitóticos de células meristemáticas de *A. cepa* geram anormalidades no DNA. As amostras que ficaram expostas ao sol tiveram aumento maior de genotoxicidade em relação às amostras que ficaram em geladeiras, assim sendo as altas temperaturas levam o plástico a liberar substâncias que causam câncer no organismo humano. Este trabalho teve o objetivo de conscientizar a população sobre os danos que as substâncias tóxicas liberadas pelo plástico causam nos seres vivos, contudo espera que mais estudos sejam desenvolvidos nessa área e pesquisas feitas em como armazenar alimentos sem o uso de embalagens plásticas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA, **Agência Nacional de Vigilância Sanitária** (Brasil). RDC n. 274, de 22 de setembro de 2005. Brasília, 2005. 7 p.

BRASIL, República Federativa do Brasil. **D. Maps**: contornos, estados. 2010. Disponível em: <http://d-maps.com/carte.php?num_car=24872&lang=es>. Acesso em: 5 de maio de 2019

CARNEADO, S. et al. **Migration of antimony from polyethylene terephthalate used in mineral water bottles**. Food Chemistry, v. 166, p. 544-550, 2015.

CHOE, S. Y. et al. **Evaluation of estrogenicity of major heavy metals**. Science of the Total Environment, v. 312, p. 15-21, 2003.

CODEX ALIMENTARIUS. **Codex Standard for Natural Mineral Waters**, Codex Stan 108-1981. Amendment 2011. p. 1-4.

DAMODARAN, S; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fennema**. Porto Alegre: Artmed, 2010.

FACHINETTO, J.M. et al. **Efeito anti-proliferativo das infusões de Achyroclinesatureioides DC (Asteraceae) sobre o ciclo celular de Allium cepa**. Rev. Bras. de Farmacognosia, 2007; 17 (1): 49-54.

FISKESJÖ, G. **The Allium test – an alternative in environmental studies**: the relative toxicity of metal ions. Mutation Research, Netherlands, vol. 197, n. 2, p. 243-260, february. 1988.

GADANO, A. et al. **In vitro genotoxic evaluation of the medicinal plant Chenopodium ambrosioides**. L. J Ethnopharmacol 81: 11-16. 2002.

GAMA, M. R. **Processos Fenton como Alternativa na Remoção de Interferentes Endócrinos e outros Micropoluentes Ambientais**. Revista Virtual de Química, v. 4, p. 777-787, 2012.

GHISELLI, G.; JARDIM, W. F. **Interferentes endócrinos no ambiente**. Química Nova, v. 30, p. 695-706, 2007.

HU, L.; CAI, Y.; JIANG, G. **Occurrence and speciation of polymeric chromium (III), monomeric chromium(III) and chromium(VI) in environmental samples**. Chemosphere, v. 156, p. 14-20, 2016.

JIANG, X.; WEN, S.; XIANG, G. **Cloud point extraction combined with electrothermal atomic absorption spectrometry for the speciation of antimony(III) and antimony(V) in food packaging materials**. Journal of Hazardous Materials, v. 175, p. 146–150, 2010.

KERESZTES, S. et al. **Leaching of antimony from polyethylene terephthalate (PET) bottles into mineral water**. Science of the Total Environment, v. 407, p. 4731-4735, 2009.

KNOLL, M.F. et al. **Effects of Pterocaulon polystachyum DC. (Asteraceae) on onion (Allium cepa) root-tip cells**. Genet Mol Biol 29: 539-54. 2006.

LECLERC, H.; MOREAU, A. **Microbiological safety of natural mineral water**. FEMS Microbiology Reviews, v. 26, n. 2, p. 207-222, 2002.

MARCINKOWSKA, M.; LORENC, W.; BARALKIEWICZ, D. **Study of the impact of bottles material and color on the presence of AsIII, AsV, SbIII, SbV and CrVI in matrix-rich mineral water** – Multielemental speciation analysis by HPLC/ICP-DRC-MS. Microchemical Journal, v. 132, p. 1-7, 2017.

MAVRIDOU, A. **Study of the bacterial flora of a non-carbonated natural mineral water**. Journal of Applied Microbiology, v. 73, n. 4, p. 355-361, 1992.

MIHUCZ, V. G.; ZÁRAY, G. **Occurrence of Antimony and Phthalate Esters in Polyethylene Terephthalate Bottled Drinking Water**. Applied Spectroscopy Reviews, v. 51, p. 183-209, 2016.

PAYÁN, L. et al. **Study of the influence of storage conditions on the quality and migration levels of antimony in polyethylene terephthalate-bottled water**. Food Science and Technology International, v. 23, p. 318-327, 2017.

REIMANN, C.; BIRKE, M.; FILZMOSE, P. **Temperature-dependent leaching of chemical elements from mineral water bottle materials**. Applied Geochemistry, v. 27, p. 1492-1498, 2012.

RESENDE, A.; PRADO, C. N. **Perfil microbiológico da água mineral comercializada no Distrito Federal**. Revista de Saúde e Biologia, v. 3, n. 2, p. 16-22, 2008.

SILVA, J.; ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J.A.P. **Genética toxicológica**. Porto Alegre, Alcance, 422p. 2003.

TEIXEIRA, R.O. et al. **Assessment of two medicinal plants, Psidium guajava L. and Achillea millefolium L. in vivo assays**. Genet Mol Biol 26: 551-555. 2003.

WELLE, F.; FRANZ, R. **Migration of antimony from PET bottles into beverages: determination of the activation energy of diffusion and migration modelling compared with literature data**. Food Additives & Contaminants: Part A, v. 28, p. 115-126, 2011.