

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

JULIA MARA LAUXEN DE FRANÇA

**DETERMINAÇÃO DA FITO, CITO E GENOTOXICIDADE DE *SLIME* UTILIZANDO
MODELO DE RAÍZES *Allium cepa* L.**

CAMPO MOURÃO

2022

JULIA MARA LAUXEN DE FRANÇA

**DETERMINAÇÃO DA FITO, CITO E GENOTOXICIDADE DE SLIME UTILIZANDO
MODELO DE RAÍZES *Allium cepa* L.**

phytotoxicity, cytotoxicity and genotoxicity of slime to roots of allium cepa l.

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

CAMPO MOURÃO

2022



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/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) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

JULIA MARA LAUXEN DE FRANÇA

**FITOTOXICIDADE, CITOTOXICIDADE E GENOTOXICIDADE DE *SLIME A*
RAÍZES DE *Allium cepa* L.**

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

Data de aprovação: 23/novembro/2022

Fernanda Vitoria Leimann
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Odinei Hess Gonçalves
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Marcilene Ferrari Barriquelo Consolin
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

**Campo Mourão
2022**

AGRADECIMENTOS

Uma das partes mais difíceis de se fazer quando um ciclo está prestes a se encerrar é agradecer a todos aqueles que em algum momento estiveram presentes direta e indiretamente em tal fase. Ninguém está preparado para encerrar um ciclo, mas a vida é isso, somos feitos de fases e agora preciso agradecer a todos que marcaram essa. Agradeço a Deus porque sei que ele esteve comigo desde sempre, em cada decisão, e principalmente nas vezes que pensei em desistir.

Dedico esse trabalho aos meus pais e a minha irmã que sempre me apoiaram e estiveram comigo. Relembro de todos amigos que fiz nesses últimos anos que me ajudaram a ser quem eu sou hoje, aqueles que não seguiram o mesmo caminho e aqueles que seguem na luta. Assim, como também meus amigos do ensino médio que até hoje torcem e comemoram as pequenas vitórias juntamente a mim.

Por fim, deixo aqui minha admiração e agradecimento especial a UTFPR-CM e todos os docentes que marcaram a minha jornada acadêmica em especial as minhas orientadoras Fernanda Vitória Leimann; Ana Paula Peron que me ajudaram nos últimos meses a tornar essa pesquisa real, e a Stephani Beneti que me socorreu em diversos momentos nos últimos 5 anos. E obrigado a você, querido leitor por estar aqui.

Dedico este presente trabalho
primeiramente a Deus, por ter me dado
forças para continuar, assim como também
meus pais, Lia e Belmar, por sempre
me apoiarem.

RESUMO

O *slime* ou amoeba, como também é chamado, é um brinquedo que se tornou famoso nos anos 80. Esse brinquedo tão famoso possui uma variedade de cores e tamanhos que chama atenção de muitas crianças e até mesmo de adultos. Contudo, nos últimos anos tanto o *slime* comercial quanto o caseiro acabaram se tornando febre entre crianças e adolescentes. O que é preocupante é o uso incorreto desses brinquedos pois os mesmos podem acarretar em problemas de saúde caso sejam ingeridos ou manuseados por um longo período de tempo. Dentro deste contexto, o presente trabalho buscou analisar a toxicidade em raízes de *A. cepa* do *slime* de uma marca comercial e dos componentes utilizados na fabricação de *slime* caseiro. Obteve-se em resposta às análises que a cola diferentemente do *slime* e do ácido bórico apresentou fitotoxicidade e citotoxicidade devido a redução drástica da divisão celular nas raízes. Ademais, as raízes que foram expostas ao ácido bórico e ao *slime* apresentaram prófases em detrimento, caracterizando um atraso na mitose induzido por esses compostos. Apesar de estudos mostrarem que os componentes não apresentam riscos relacionados a toxicidade, fatores externos auxiliam no nível tóxico dos mesmos. Através da análise do método *A. cepa* notou-se uma inibição da divisão celular e alterações cromossômicas consideráveis nas células. Portanto, conclui-se que ambos os compostos testados a longo prazo ou devido a sensibilidade a que é submetida pode causar danos físicos a saúde. O bioensaio com *A. cepa* mostrou-se uma ferramenta útil para avaliar o potencial de substâncias não regulamentadas encontradas em diversas matrizes, como o álcool polivinílico presente na cola branca assim como as demais substâncias.

Palavras-chaves: amoeba; crescimento de radículas; índice mitótico; alterações celulares.

ABSTRACT

The slime or amoeba, as it is also called, is a toy that became famous in the 80s. This famous toy has a variety of colors and sizes that attracts the attention of many children and even adults. However, in recent years, both commercial and homemade slime have become a rage among children and teenagers. What is worrying is the incorrect use of these toys, as they can lead to health problems if they are ingested or handled for a long period of time. Within this context, the present work sought to analyze the toxicity in *A. cepa* roots of a commercial brand slime and of the components used in the manufacture of homemade slime. It was obtained in response to the analyzes that the glue, unlike slime and boric acid, presented phytotoxicity and cytotoxicity due to the drastic reduction of cell division in the roots. Furthermore, the roots that were exposed to boric acid and slime showed prophase to the detriment, characterizing a delay in mitosis induced by these compounds. Although studies show that the components do not present risks related to toxicity, external factors help in their toxic level. Through the analysis of the *A. cepa* method, it was noted an inhibition of cell division and considerable chromosomal alterations in the cells. Therefore, it is concluded that both compounds tested in the long term or due to the sensitivity to which it is subjected can cause physical damage to health. The bioassay with *A. cepa* proved to be a useful tool to assess the potential of unregulated substances found in various matrices, such as polyvinyl alcohol present in white glue, as well as other substances.

Keywords: amoeba; root growth; mitotic index; cell alterations.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Fórmula estrutural da molécula de PVA.....	17
Figura 2 – Regiões palmares mostram eritema, descamação e vesículas .	18
Figura 3 – Reação de reticulação do PVA com glutaraldeído (GA)	19
Figura 4 – Reação de reticulação do PVA com tetraborato de sódio	20
Figura 5 – Segmentos do bulbo de <i>A. cepa</i>	23
Figura 6 – Diferentes momentos de prófase.....	24
Figura 7 – Cromossomos alinhados em metáfase	25
Figura 8 – Diferentes momentos de anáfase	25
Figura 9 – Diferentes momentos de telófase	25
Figura 10 – Equipamento de agitação Ultra-Turrax.....	30
Figura 11 – Bulbos submetidos as soluções para enraizamento	31
Figura 12 – Hidrolização das raízes	32
Figura 13 – Lâminas confeccionadas para análise	33
Figura 14 – Alterações encontradas das células meristemáticas de raízes de <i>A. cepa</i>	36

LISTAS DE TABELAS

Tabela 1 – Codificação das amostras que foram analisadas pelo teste A.	
Cepa.....	28
Tabela 2 – Índice de crescimento de raízes, Índice mitótico e Índice de	
Prófase.....	33
Tabela 3 – índices de alterações celulares observados nos meristemas de	
raízes.....	33

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

%	Porcentagem
(ECA)	<i>European Chemical Agency</i>
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
DAC	Dermatite De Contato Alérgico
DCIP	Dermatite De Contato Irritativa
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
g	Gramma
GHS	Sistema Globalmente Harmonizado
HaCaT	Linhagem De Células Humanas
INMETRO	Instituto Nacional de Tecnologia
IPCS	Programa Internacional de Segurança Química
NOAELs	Nível Sem Efeitos Adversos Observados
PVA	Álcool poli(vinílico)
UNEP	Programa Ambiental das Nações Unidas
UTFPR	Universidade tecnológica Federal do Paraná

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	12
2.1	Objetivo geral	12
2.2	Objetivo específico	12
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
3.1	Slime	13
3.2	Composição do <i>slime</i>	13
3.2.1	Riscos relacionados ao bórax	15
3.2.2	Dermatite	16
3.3	Reação de reticulação	17
3.3.1	Exemplos de reticulação do PVA	18
3.3.2	Agentes de reticulação	19
3.4	Hidrogéis alternativos	19
3.5	Análise de toxicidade celular	20
3.5.1	Sistema teste <i>Allium cepa</i>	20
3.5.2	Ciclo celular	21
3.6	Outros testes de toxicidade	24
4	MATERIAL E MÉTODOS	27
4.1	Materiais	27
4.2	Preparo das soluções de amostras para o teste	27
4.3	Teste de <i>Allium cepa</i>	28
4.3.1	Enraizamento dos bulbos	28
4.3.2	Avaliação de fitotoxicidade	29
4.3.3	Avaliação de citotoxicidade e genotoxicidade	30
4.4	Análise estatística	32
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5.1	Análise das células meristemáticas	33
5.2	Fito, Cito e genotoxicidade das substâncias analisadas	33
6	CONCLUSÃO	39
	REFERÊNCIAS	41

1 INTRODUÇÃO

Slime é o nome coloquial para o brinquedo similar a massa de modelar de aspecto viscoelástico que ganhou popularidade nos últimos anos entre crianças e adolescente, sendo que o mesmo pode ser comprado em lojas ou produzido em casa. A segunda opção é obtida por meio de uma mistura de produtos como cola, detergente, sabão em pó e ácido bórico (PESSOTI *et al.*, 2020).

Também conhecido como borato de sódio, o bórax é uma substância branca constituída de um sal hidratado e ácido bórico. A água boricada, usada em várias receitas de *slime* é feita com ácido bórico em baixa concentração e diluído em água. Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), o bórax é uma substância altamente tóxica e pode estar presente em concentrações de no máximo 20% nos produtos comercializados (AZEVEDO, 2019).

Slimes confeccionados em casa podem causar alergias e irritações no corpo principalmente na pele e em áreas mais sensíveis como os olhos. Um dos maiores inimigos da barreira cutânea e causadores dos problemas apresentados é a presença do ácido bórico na composição do *slime* caseiro (ANDERSON *et al.*, 2017).

Uma das maneiras de se identificar a toxicidade de determinadas substâncias é o método *Allium cepa* por ser um bioindicador de genotoxicidade e demonstrar o potencial genotóxico de extratos de diferentes substâncias químicas através da análise de células meristemáticas provenientes de pontas de raízes tratadas com tais substâncias. O método de avaliação de alterações cromossômicas em raízes de *Allium* é válido pelo Programa Internacional de Segurança Química (IPCS, OMS) e o Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP) como um teste eficiente para análise *in situ* da genotoxicidade de substâncias ambientais (BAGATINI *et al.*, 2007).

A mutação que ocorre nas plantas devido à presença de agente mutagênicos na composição provem de estudos citogenéticos. A mutação pode resultar da ação de compostos químicos e ambientais nos ácidos nucleicos (VIEIRA; VICENTINI, 1997).

O teste de *Allium cepa* já foi comprovado em diversos estudos como no caso de amostras de águas coletadas em dois pontos (nascente e foz) do Rio da Ilha, juntamente com análises físico-químicas e microbiológicas onde avaliou-se a toxicidade, citotoxicidade e genotoxicidade (RODRIGUES *et al.*, 2015).

Além disso, já foram avaliados por este teste produtos como fórmulas de alimentação infantil (SILVA *et al.*, 2020), corantes alimentícios (KHAN *et al.*, 2020), filmes de cobertura para agricultura (SOUZA *et al.*, 2020), herbicidas (ROUSCULETE *et al.*, 2018), entre outros.

Apesar de várias análises de toxicidade terem sido feitas através do teste de *Allium cepa* e obterem sucesso em seus resultados, não foram encontrados na literatura estudos relacionados a toxicidade do ácido bórico, da cola e do *slime* comercial através do método citado.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

A finalidade do presente estudo foi avaliar a toxicidade celular de uma marca de *slime* comercial e dos principais componentes utilizados na fabricação de *slime* caseiro sobre o método *A. cepa*.

2.2 Objetivos específicos

- Identificar se o método *Allium cepa* L. é eficaz na análise de toxicidade dos componentes.
- Determinar através do teste de *Allium cepa* possíveis efeitos fitotóxicos, citotóxicos e genotóxicos causados pelo contato com o ácido bórico, cola e *slime* comercial;
- Assimilar os resultados obtidos com possíveis problemas a saúde humana.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 *Slime*

A palavra *slime* se deu durante a Segunda Guerra Mundial por volta dos anos 40 quando James Wright inventou uma substância que poderia substituir a borracha. O cientista fez uma mistura de ácido bórico com silicone líquido, criando assim um material polimérico maleável que inicialmente teria a finalidade de servir como solado do coturno dos soldados, porém a ideia foi descartada, e por isso, a fórmula foi arquivada e ficou esquecida por anos. Por meados dos anos 50, um publicitário comprou a fórmula, fez algumas adaptações e lançou o produto como brinquedo. Em 1984, surge a amoeba ou mais conhecida *slime*, graças ao mundo cinematográfico que apresentou um personagem constituído por uma meleca maleável. O *slime* passou a ser produzido a partir de poli (álcool polivinílico) (PVA), goma de guar e até leite (SPS, 2018).

A geleca como também é chamada dominou a mídia nacional no final de 2016 como um passatempo popular entre as crianças e adolescentes. O interesse pela novidade se deu pelo alto estímulo das mídias sociais e marketing de diversas empresas.

3.2 Composição do *slime*

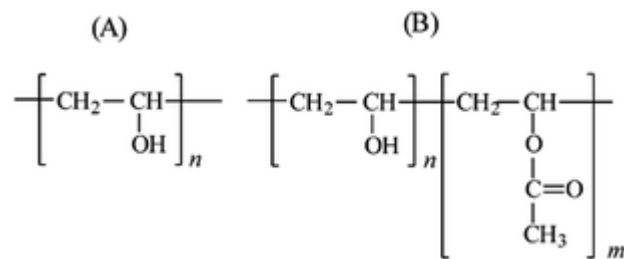
Entre diversas receitas de preparo de *slime* disponíveis na literatura, tem-se o uso do polímero álcool polivinílico e do agente reticulante tetraborato de sódio, popularmente conhecido como bórax. O primeiro nada mais é que um polímero solúvel em água, que se apresenta na forma de um pó e é exclusivamente destinado para uso industrial.

O polímero é um conjunto de milhares de unidades de repetição denominadas meros ligadas por ligação covalente que formam uma macromolécula. O PVA é obtido a partir da desacetilação de poliacetato de vinila (PVAc) que pertence à classe dos polivinil ésteres. O controle da velocidade de dissolução em água é uma das vantagens desses polímeros (CANEVAROLO, 2002).

O PVA é uma substância solúvel em água, e produzida em maior volume no mundo. Em 1924, Herrman e Haegnel obtiveram pela primeira vez o PVA, através da hidrólise do poli (acetato de vinila) que é a forma de obtenção comercial utilizada até

hoje. Em 1961, a transformação reversível entre o poli (álcool vinílico) e o poli (acetato de vinila) foi estudado por Staudinger por meio da reação de esterificação. As propriedades básicas do PVA dependem do grau de polimerização e do grau de hidrólise. Por suas excelentes propriedades, o PVA tem sido utilizado em um grande número de aplicações industriais (ARANHA; LUCAS, 2021). A Figura 1 apresenta a estrutura de uma molécula de PVA, onde: (A) completamente hidrolisado; (B) parcialmente hidrolisado.

Figura 1- Fórmula estrutural da molécula de PVA



Fonte: Halima, Nihed (2016, p. 46)

3.2.1 Riscos relacionados ao bórax

A mania do *slime* desacelerou por volta do mês de março de 2017, depois de crianças apresentarem queimaduras de segundo e terceiro grau atribuídas ao boráx, um ingrediente do *slime* caseiro e conhecido irritante de contato. Diversas receitas foram divulgadas como alternativa “segura”, mas nenhuma delas está livre de potenciais irritantes (PESSOTTI, 2020).

É de conhecimento que o *slime* pode ser feito com uma mistura de ingredientes que trazem problemas para a saúde. Algumas receitas encontradas na internet recomendam o uso de água boricada para a produção do *slime* caseiro. Devido a presença do bórax na água boricada, a substância não é indicada pois, quando entra em contato com a pele, pode provocar escamação, ocasionando uma reação que se assemelha a uma queimadura. Além disso, ela pode ser absorvida pela pele e, quando utilizada em quantidades acima do recomendado, provoca intoxicação, vômitos, câimbras e irritações nos olhos. A água boricada, um ingrediente bastante requerido nas receitas de *slime*, conta com 3% de ácido bórico em sua composição, o mesmo elemento presente no bórax, porém devido a uma baixa concentração o seu uso apresenta menor risco (PESSOTTI, 2020).

3.2.1.1 Dermatite

Diversos trabalhos relatam casos de dermatite causada pelo contato com *slime* (Relata-se que uma menina de 11 anos após brincar com slime por um ano apresentou eritema, verículas e exulcerações no dorso de seis dedos (PIAZZA; CHRISTIANE DONATO; CESTARI, & SILMARA C. P, 2022). 127 produtos de slime foram testados em cidades do Japão e Coreia do sul e 70,1% excederam o limite de migração de boro de 300mg/kg para brinquedos feitos com materiais pegajosos (LIM *et al.*, 2022). Uma menina de 9 anos, sem histórico médico apresentou dermatite pruriginosa nas mãos durante 5 meses. O início da dermatite coincidiu com o tempo em que ela brincava com a geleca caseira contendo bórax (GITTLER; GARZON; LAUREN; C. T., 2018).

A amoeba pode causar dermatite de contato irritativa (DCIP) e dermatite de contato alérgico (DAC), principalmente se confeccionado em casa. Componentes do tipo ácido bórico, álcoois e glicóis são responsáveis pelo tipo irritativa, e alérgenos como metilisotiazolinona e metilclorotiazolinona são conhecidos como causadores de DAC. Pacientes atópicos são propensos ao desenvolvimento de DAC pela deficiência da barreira cutânea e pelo contato constante com possíveis alérgenos. A Figura 2 mostra a reação causada devido ao contato com slime.

Figura 2- Regiões palmares mostram eritema, descamação e algumas vesículas



Fonte: Pessotti (2020)

Oliveira *et al.*, (2023) realizaram uma revisão bibliográfica sobre os efeitos da intoxicação por *slime* em crianças e adolescentes. Os autores identificaram vários relatos de reações cutâneas induzidas por brinquedos de *slime* na literatura, principalmente aqueles classificados como dermatite alérgica de contato ou dermatite

irritante de contato. A dermatite alérgica de contato é uma doença inflamatória da pele causada por uma reação de hipersensibilidade do tipo IV, a resposta imune ocorrendo em indivíduos previamente sensibilizados com um período de latência de 48–96 h. Por outro lado, a dermatite irritante de contato é uma reação cutânea causada pelo contato com substâncias corrosivas e geralmente leva a sintomas em um período de 48 h após a exposição.

Vale ressaltar que indivíduos que sofreram episódios prévios de atopia têm maior probabilidade de desenvolver dermatite atópica e apresentar sintomas mais graves ou intensos de dermatite alérgica de contato ou dermatite irritante de contato. Além disso, é bem conhecido que substâncias levemente corrosivas podem potencialmente danificar a pele das crianças, pois é mais frágil e sensível em comparação com a pele dos adultos. Além disso, a gravidade das reações pode ser diretamente proporcional às condições de pele preexistentes, concentração do composto irritante e tempo de exposição.

O tema da dermatite causada por *slime* em crianças também foi recentemente revisado por Dupuy, Miller e Harter (2022) e Anderson *et al.* (2019), que descrevem uma lista de possíveis potenciais alérgenos presentes nos produtos utilizados na produção caseira de *slime*, incluindo propileno glicol, mistura de parabenos, álcool benzílico, cocamidopropil betaína, trietanolamina, partenólídeo, sesquiterpeno lactona, diazolidinil uréia, DMDM hidantoína, hidroximetil glicinato de sódio, álcool estearílico, álcool cetearílico, álcool cetílico e acetato de tocoferol.

3.3 Reação de reticulação

A modificação na estrutura química dos biopolímeros, com o intuito de apresentar propriedades funcionais adicionais ou melhorar atributos já característicos dos mesmos é uma atividade de pesquisa muito explorada, uma vez que o número expressivo de publicações científicas e de patentes são disponíveis. As reações de reticulação visam principalmente modificar determinadas propriedades do biopolímero, tais como, estabilidade química e térmica, rigidez estrutural, permeabilidade, cor, e capacidade de imobilização proteica e celular (GONSALVES, *et al.*, 2011).

Quando colocado em contato com um meio de intumescimento, as cadeias poliméricas do hidrogel podem sofrer interações com o meio. Dessa forma, se provoca

uma expansão de suas cadeias, aumentando o volume e a distância entre os retículos das mesmas (FLORY; REHNER, 1943).

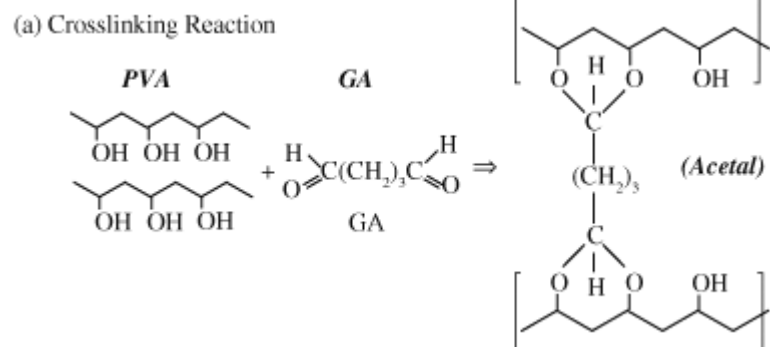
A reticulação pode ser classificada em física e química sendo que as interações iônica/eletrostática, ligação de hidrogênio, cristalização e interações hidrofóbicas entram no grupo das reticulações físicas e as ligações químicas compreendem a fotopolimerização, ligação cruzada induzida por enzimas, e formação da base de Schiff (DEY *et al.*, 2019).

Os polímeros formados por redes tridimensionais levam à natureza viscoelástica do fluido que se dá ao lado sua textura específica. O PVA se liga com o tetraborato de sódio por meio da ligação de hidrogênio produzindo o material tipo gel. A ligação pode ser do tipo (a) onde a ligação é baseada em natureza física e química e (b) onde existe apenas uma ligação química na forma de ligações cruzadas entre PVA e íons borato (ASHRAF; NAYFEH; NAYFEH, 2022).

3.3.1 Exemplos de reticulação do PVA

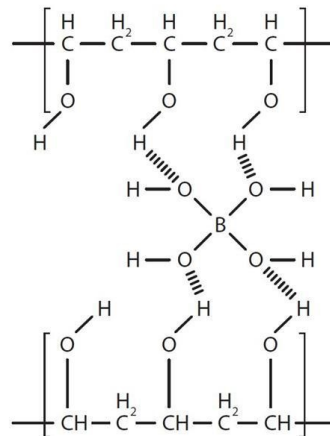
A Figura 3 a seguir apresenta a estrutura molecular da reação de reticulação do PVA com glutaraldeído. Em seguida, a Figura 4 demonstra a reação do PVA com tetraborato de sódio, comumente utilizada na fabricação de *slime* caseiro.

Figura 3- Reação de reticulação do PVA com glutaraldeído (GA)



Fonte: Reis *et al.*, (2006, p. 185)

Figura 4- Reação de reticulação do PVA com tetraborato de sódio



Fonte: Nuffield Foundation (2022)

3.3.2 Agentes de reticulação

As propriedades do polímero tridimensional variam de acordo com o agente reticulante utilizado na reação. No geral, as ligações entre o agente e o polímero linear são do tipo iônicas ou covalentes, e a interação é forte e forma-se um gel rígido. Quando se utiliza um material que forma interações intermoleculares mais fracas entre as cadeiras lineares, forma-se um material com propriedades mais fluidas. O bórax, apresenta átomos de oxigênio na estrutura o que ocasiona em ligações de hidrogênio com os hidrogênios da hidroxila do polímero PVA.

3.4 Hidrogéis alternativos

É possível fazer *slime* em casa usando apenas ingredientes que não fazem mal à saúde, podendo ser utilizados hidrogéis alternativos (OVIEDO *et al.*, 2008). Um exemplo é o coagulante para tratamento de água, sulfato de alumínio. O mesmo produz um fluido viscoelástico quando combinado com PVA e pode-se demonstrar a gelificação através dele. O alginato de sódio por outro lado, é um polímero aniônico natural, ele é obtido a partir de algas marrons, onde a gelificação ocorre em combinação com o cloreto de cálcio. Além de ser capaz de formar um gel, o sistema conta com a vantagem de que a degelificação pode ocorrer após a adição de citrato trissódico ao gel (HURST, 2020).

Os hidrogéis podem ser obtidos também a partir de fontes naturais como gelatina, amido, caseinato de sódio entre outros. Contudo estes materiais ainda não foram avaliados para aplicação com slime (ZHANG *et al.*, 2020).

Os hidrogéis de gelatina podem ser produzidos por reticulação química com glutaraldeído (EINERSON; STEVENS; KAO, 2003), e por reticulação enzimática com transglutaminase (LEMES *et al.*, 2017). A reticulação enzimática é segura quanto à sua toxicidade, como já demonstrado por Chen, Hu e Sheu (2005) que avaliaram sua segurança por testes *in vitro*, por viabilidade celular de fibroblastos humanos.

3.5 Análise de toxicidade celular

3.5.1 Sistema teste *A. cepa*

O nível de toxicidade de uma substância é determinado pelo aumento ou decréscimo do índice mitótico, caracterizado pelo número de células em divisão no ciclo celular em um organismo teste, como também pela incidência de mutações cromossômicas, como perdas de cromossomos inteiros ou a formação de micronúcleos. O estudo da genotoxicidade em espécies vegetais é uma alternativa viável no levantamento do potencial mutagênico de diversas espécies, dentre os bioensaios mais utilizados, o sistema *A. cepa* (CARVALHO, 2018).

O teste de *A. cepa* tem sido considerado, por diversos autores, como de baixo custo e de fácil execução, além de ser um bioensaio eficiente para análise de toxicidade (LEME; MORALES, 2009).

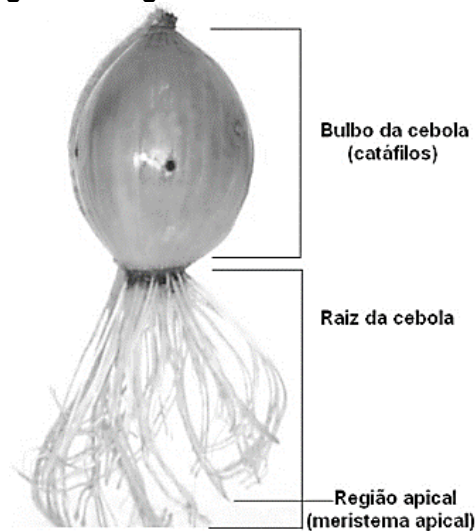
O teste foi desenvolvido por Levan (1938), e avalia basicamente os efeitos de produtos químicos nos cromossomos de plantas, através da análise das células das pontas das raízes, que permanecem por um determinado período em contato direto com a substância a ser testada. Em 1985 foram realizadas as primeiras adaptações do teste proposto por Levan, para o monitoramento ambiental e efeitos de misturas complexas nos seres vivos (CARVALHO, 2018).

As vantagens de se utilizar o Sistema *A. cepa* além de seu baixo custo, é a sua confiabilidade. Ele é validado pelo Programa Internacional de Segurança Química (IPCS, WHO) e o Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP), tido como instrumento de extrema eficiência para o monitoramento *in situ* da genotoxicidade de substâncias químicas (FACHINETTO *et al.*, 2004).

A cebola da espécie *A. cepa* é considerada a melhor a fim de uso do teste, e tem sua aplicação validada pelo Programa Internacional de Segurança Química (PISQ) (FERETTI *et al.*, 2007; PARVAN *et al.*, 2020).

Como algumas células se dividem lentamente ou não se dividem (RAVEN *et al.*, 2020; URRY *et al.*, 2021), é importante que haja células de rápida divisão celular, e a *A. cepa* possui meristemas radiculares que possuem intensa divisão celular e estão localizados na extremidade das raízes (RAVEN *et al.*, 2020; URRY *et al.*, 2021). A Figura 6 apresenta as divisões de uma cebola.

Figura 5 - Segmentos do bulbo de *A. cepa*



Fonte: Rossi-Rodrigues *et al.* (2011)

Uma das vantagens em se utilizar tal espécie é a facilidade de cultivo e disponibilidade de bulbos de cebola o ano todo (GRANT, 1982; KURAS *et al.*, 2006; MATSUMOTO; MARIN-MORALES, 2004; RANK; NIELSEN, 1993)

3.5.2 Ciclo celular

Para se multiplicar e dar continuidade ao desenvolvimento de organismos eucariontes, uma célula percorre etapas organizadas que constituem o ciclo celular, separado em estágios principais chamados de intérfase e fase mitótica.

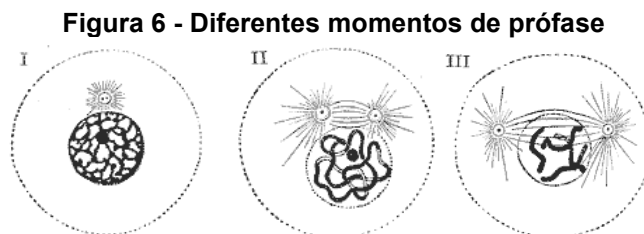
A intérfase, período em que a célula está se preparando para a divisão, tem início pela etapa G₁. O período G₁ caracteriza-se pelo reinício da síntese de RNA que estava interrompida durante a meios. Com essa síntese, a célula cresce continuamente (JUNQUEIRA, 2012) onde replica organelas e produz componentes

moleculares que serão necessários no decorrer do ciclo. O início da síntese de DNA marca o início do período S onde uma cópia completa do DNA é sintetizada no interior do núcleo e o centríolo, estrutura organizadora de microtúbulos, que auxiliarão na posterior separação do material genético, é duplicado; e na etapa G₂, ela cresce ainda mais, fabrica novas proteínas e começa a reorganizar seu conteúdo.

Em seguida, a fase mitótica (M) é subdividida em quatro etapas separadas por prófase, metáfase, anáfase e telófase, além de um quinto momento de citocinese, que pode ter início de forma conjunta durante anáfase ou telófase.

Ao partir do final da intérfase (G₂), sabendo que a essa altura a célula copiou seu DNA, cada cromossomo passa a ter duas cópias de si conectadas, as cromátides irmãs, mas elas ainda não são claramente visíveis porque estão em seu aspecto fibroso e descondensado.

No início da prófase, caracterizada pela condensação gradual das fibras de cromatina, os cromossomos passam a se condensar e o fuso mitótico começa a se formar, composto pelos microtúbulos, enquanto que os nucléolos que são partes do núcleo, desaparecem, indicando que o próprio núcleo está prestes a se partir (Figura 6).



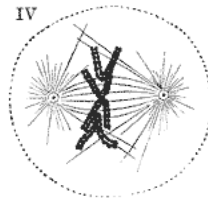
Fonte: Adaptado de Moreira (2015, p. 170)

Os últimos instantes de prófase são marcados pela condensação ainda mais intensa dos cromossomos, de maneira a se tornarem muito compactados; pelo rompimento do envoltório nuclear, liberando-os no citoplasma; e pela expansão do fuso mitótico.

Na metáfase, os cromossomos atingem um avançado estado de condensação e o fuso alinha os cromossomos no centro ao longo da placa metafásica (Figura 7), e ele faz isso através do cinetócoro, um arranjo de proteínas presente no centrômero. Antes de seguir para a anáfase, a célula verifica se todos os cromossomos estão

devidamente na placa com seus cinetócoros seguros, garantindo que as cromátides se dividam uniformemente.

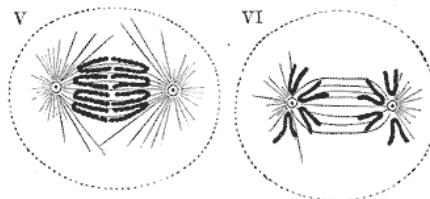
Figura 7 - Cromossomos alinhados em metáfase



Fonte: Adaptado de Moreira (2015, p.170)

Na anáfase começam os eventos finais da mitose e durante a anáfase, as cromátides enfim se separam e são empurradas a extremidades opostas porque a proteína que as mantinham unidas é quebrada, permitindo que elas se tornem cromossomos únicos novamente (Figura 8).

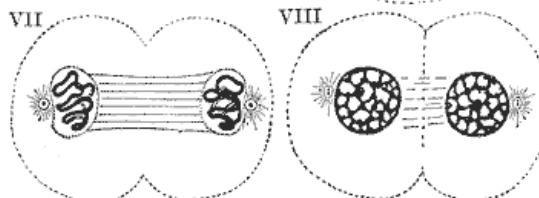
Figura 8 - Diferentes momentos de anáfase



Fonte: Adaptado de Moreira (2015, p.170)

A telófase inicia-se quando os cromossomos filhos alcançam os respectivos polos. Na telófase, a célula restabelece sua estrutura à medida que a citocinese progride: o fuso é interrompido; dois novos envelopes nucleares são formados; os nucléolos reaparecem; e os cromossomos se descondensam, dando origem à duas novas células-filhas (Figura 9).

Figura 9 - Diferentes momentos de telófase



Fonte: Adaptado de Moreira (2015, p.170)

Os ensaios de citotoxicidade estão intimamente associados a este ciclo uma vez que são baseados no índice mitótico, dado expresso em porcentagem que

representa as taxas de divisão celular (SMAKA-KINCL *et al.*, 1996). Distúrbios nas condições do meio, como aqueles oriundos de poluição, são refletidos nas plantas, por exemplo, através da inibição da germinação ou crescimento das raízes, sinais de que pode estar havendo problemas com as células (ALVIM *et al.*, 2011).

Eles normalmente são realizados em conjunto com os de genotoxicidade, referentes às alterações induzidas durante o ciclo, demonstradas por autores como Braga e Lopes (2015) e Herrero *et al.* (2012) em casos de aumento de micronúcleos, falhas de alinhamento no fuso e pontes entre cromátides.

Para isso, é necessário que se defina um organismo que ceda suas células para análise, que são também chamados de organismos-teste ou bioindicadores. Em geral, são espécies viáveis de manter em laboratório, com biologia conhecida (ARENZON; PEREIRA NETO; GERBER, 2011) e pertencentes a diferentes níveis tróficos: produtores (algas), consumidores primários (microcrustáceos), secundários (peixes) e até mesmo decompositores (bactérias) (MOREIRA, 2014).

Ciente de que a complexidade dos ecossistemas é impossível de ser reproduzida, considerando a diversidade de interações que os atores estão sujeitos na natureza (COSTA *et al.*, 2008), os bioensaios com plantas ainda assim são os mais sensíveis, simples se comparados aos de animais, e amplamente adotados por serem receptores diretos (MA *et al.*, 1995; PEDRO, 2008).

3.6 Outros testes de toxicidade

Diversos modelos de toxicidade podem ser aplicados para avaliação dos efeitos causados pela exposição a diferentes substâncias. Lehmann, Cavet e Richardson (2010) avaliaram o efeito citotóxico de soluções de limpeza de lentes de contato, que continham ácido bórico (0,64 a 1,28%p/v), em fibroblastos de rato L929 (linhagem celular CCL 1), e também *in vivo* em coelhos (córneas). Os autores demonstraram que os resultados dos dois ensaios diferentes de citotoxicidade foram aceitáveis às questões regulatórias em concentrações duas vezes maiores do que as tipicamente usadas nas soluções de aplicação ocular com borato comercialmente disponíveis. Contudo os autores ainda destacam que não podem descartar a possibilidade de que métodos mais sensíveis possam revelar baixos níveis de citotoxicidade.

Dey e Kang (2020) avaliaram o efeito tóxico da aflatoxina B1 (micotoxina contaminante secretada pelo fungo conidial *Aspergillus*) em células HaCaT de

queratinócitos humanos, no sistema *Allium cepa* e no desenvolvimento de embrião de peixe-zebra (*zebrafish*). Os autores descrevem que as células da pele atuam como uma barreira e são consideradas a primeira e principal linha de defesa contra infecções e os resultados obtidos mostraram apoptose celular devido à aceleração do estresse oxidativo (aumento da concentração de espécies reativas ao oxigênio) ativado pela exposição à micotoxina. No modelo *A. cepa* os autores observaram um efeito tóxico dependente da dose e interrupção da metáfase induzida pela exposição à micotoxina.

De acordo com Janssen *et al.* (2011) está bem documentado para os eucariotos que a divisão cromossômica anormal ou anormalidades cromossômicas se devem principalmente a eventos de dano ao DNA, como fragmentação do DNA, inibição da síntese do DNA, replicação do DNA mutante, etc. No caso do peixe-zebra houve comprometimento do sistema imunológico e incapacidade de se salvar da inflamação induzida pela micotoxina, que acabou ativando a programação de morte celular. O conjunto de resultados demonstrado pelos autores suporta a conclusão de que as espécies reativas ao oxigênio, que tiveram sua geração aumentada após o processo inflamatório que foi causado pela micotoxina, atuam como moléculas de sinalização para ativar ainda mais as vias inflamatórias e apoptóticas adicionais.

Os corantes utilizados no *slime* também podem afetar a toxicidade do produto, uma vez que são compostos por sais metálicos. Vários metais são conhecidos por induzir quebras cromossômicas, fragmentos e formação de micronúcleos em plantas e sistemas de teste de mamíferos. Entre os efeitos induzidos estão a formação de reticulação entre DNA-DNA e DNA-proteína, alterações na formação dos fusos mitóticos produzindo estágios mitóticos aberrantes e indução de trocas de cromátides-irmãs. A indução de micronúcleos geralmente é causada por quebras ou fragmentos cromossômicos ou envenenamento do fuso, que é uma disjunção anômala dos cromossomos durante a anáfase. Metais como ferro e cobre também podem causar efeitos indiretos devido ao aumento do estresse oxidativo, levando à citotoxicidade e danos ao DNA (EGITO *et al.*, 2007).

A segurança do PVA, principal componente da cola branca utilizada no preparo do *slime* caseiro, baseia-se nas seguintes informações descritas por DeMeris e Schoneker (2003): (1) a toxicidade oral aguda do PVA é muito baixa, com LD50s (*Lethal Dose*, dose letal suficiente para matar 50% de uma população teste) na faixa de 15–20 g/kg; (2) o PVA administrado por via oral é muito pouco absorvido pelo trato

gastrointestinal; (3) o PVA não se acumula no corpo quando administrado por via oral; (4) PVA não é mutagênico ou clastogênico (não produz destruição do material genético); e (5) Os Nível Sem Efeitos Adversos Observados - NOAELs (*The no-observed-adverse-effect level*) do PVA administrado por via oral em ratos machos e fêmeas foram 5.000 mg/kg de peso corporal/dia no estudo dietético de 90 dias e 5.000 mg/kg de peso corporal/dia no estudo de reprodução de duas gerações, que foi o dose mais alta testada.

Dalyan, Öztürk e Pişkin (2021) descrevem resultados de estudos realizados pela *Cosmetic, Toiletry, and Fragrance Association* (CTFA), relacionados à toxicidade *in vivo* de PVA. No estudo de curto prazo, o PVA puro (1,0 mL/kg para dose de 1000 mg/kg) foi aplicado na pele raspada de 20 ratos albinos (10 de cada raça) cinco dias por semana durante cinco semanas e todos os dias uma vez por dia (27 no total). Amostras diárias de sangue demonstraram que níveis de hematócritos e o valor de glóbulos vermelhos estavam notavelmente abaixo nos animais tratados quando comparado ao determinado para os animais controle. Mas não foram observadas mudanças no peso corporal. No estudo a nível subcrônico, dez ratos albinos fêmeas foram tratados 5 vezes por semana por 13 semanas com uma máscara facial destacável contendo 13% de PVA. O material de teste foi aderido nas costas raspadas (diretamente à pele). Nenhum tóxico importante foi encontrado associado ao material de teste.

Tendo em vista as informações apresentadas a partir da revisão da literatura, é proposto no presente trabalho avaliar o *slime* comercial, bem como os principais componentes usados para o seu preparo caseiro (cola branca e água boricada) quanto aos possíveis efeitos fitotóxicos, citotóxicos e genotóxicos no modelo *A. cepa*.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Materiais

O *slime* (composição do rótulo: água, glicerina, espessantes, conservantes e corantes) foi adquirido no comércio local da cidade de Campo Mourão (PR), juntamente com a cola branca (composição do rótulo: PVA e água) e a água boricada (3% de ácido bórico). O modelo de *slime* escolhido apresenta cor amarelo claro. Foram utilizados ácido bórico (Dinâmica), ácido cítrico e propionato de cálcio (Sigma Aldrich) e o coranteorceína acética 2% (Dinâmica). Também foram utilizados nos experimentos acetona, álcool etílico, ácido clorídrico (grau analítico, Synth). Bulbos de cebola da espécie *A. cepa* (variedade beta cristal, formato periforme) foram obtidos de uma horta orgânica localizada em Peabiru, Paraná, Brasil (Latitude: 23° 55' 5" Sul, Longitude: 52° 20' 20" Oeste).

4.2 Preparo das soluções de amostras para o teste

As soluções de água boricada, cola e *slime* comercial foram preparadas por dispersão em água por homogeneização em Ultra-Turrax (IKA, T25). Cada amostra foi submetida a cerca de 5 minutos de agitação, em rotação variável de 3.000 a 25.000 rpm no equipamento Ultra-Turrax IKA® T18 Digital (Figura 10), aparelho de agitação capaz de fornecer grandes quantidades de energia afim de obter a homogeneização de águas residuárias, desagregação de pigmentos e dispersão de emulsões, e mantidas refrigeradas e ao abrigo de luz.

A concentração utilizada para análise foi baseada nos estudos realizados pela Parvan *et al.* (2020) que avaliaram a genotoxicidade de herbicida com flumioxazina no modelo *A. cepa*. Foram pesados em balança analítica 0,5 g de cada componente a ser testado e adicionados à 250 mL de água destilada resultando em uma concentração de 2 g/L, totalizando assim 9 amostras que foram codificadas de acordo com a Tabela 1, triplicata para cada amostra. Após o preparo das soluções (250 mL para cada tratamento) estas foram armazenadas em frascos tipo PET fechados até o momento da aplicação no teste de *A. cepa* (não ultrapassando 24 h entre preparo e aplicação).

Figura 10 - Equipamento de agitação Ultra-Turrax



Fonte: Autoria própria (2022)

Tabela 1- Codificação das amostras que foram analisadas pelo teste *A. cepa*

Código	Amostra
SC1-0.5-1	Slime comercial
SC1-0.5-2	Slime comercial
SC1-0.5-3	Slime comercial
SA-0.5-1	Cola branca
SA-0.5-2	Cola branca
SA-0.5-3	Cola branca
AB-0.5-1	Ácido bórico
AB-0.5-2	Ácido bórico
AB-0.5-3	Ácido bórico

Fonte: Autoria própria (2022)

4.3 Teste de *Allium cepa*

4.3.1 Enraizamento dos bulbos

Bulbos de *A. cepa* (cebola) foram obtidos em horta orgânica para utilização em tal análise. Para o controle com água destilada (tratamentos) utilizou-se 6 bulbos de cebolas que passaram pela remoção de catáfilos secos e lavados em água destilada. Já no teste das soluções foram utilizados 3 bulbos para cada solução. Após a limpeza, os bulbos foram postos em seus respectivos tratamentos onde permaneceram por 120 horas (cinco dias) para enraizamento (Figura 11).

Figura 11 - Bulbos submetidos as soluções para enraizamento



Fonte: Autoria própria (2022)

As avaliações de fitotoxicidade, citogenotoxicidade e genotoxicidade em *A. cepa* foram realizadas de acordo com Fiskesjö (1985), com modificações.

4.3.2 Avaliação de fitotoxicidade

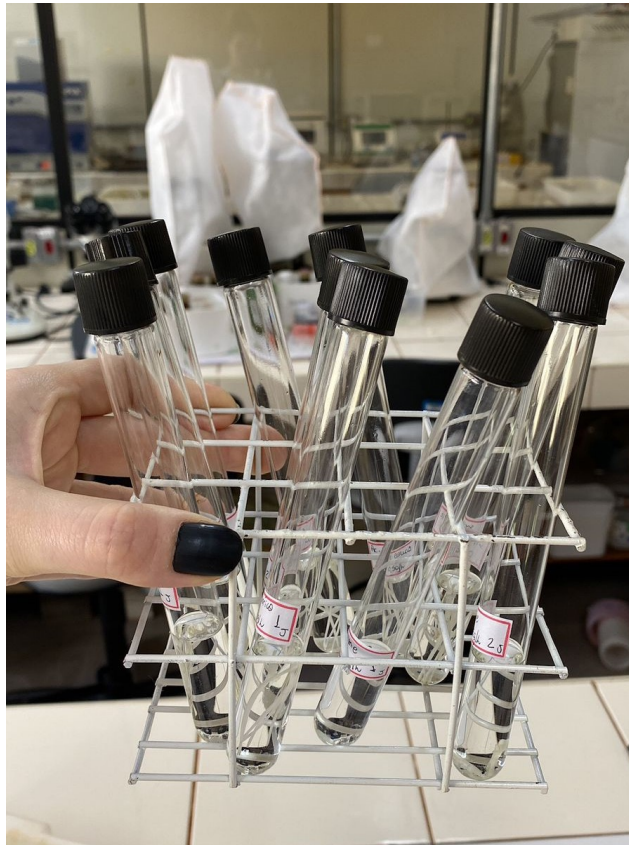
A avaliação da fitotoxicidade foi com base no comprimento de raízes extraídas dos bulbos de cebola. Mediu-se com paquímetro digital 10 raízes cada bulbo e se estabeleceu a média de comprimento radicular (CR, cm) por tratamento (Equação 1), onde SCRFR representa a soma do comprimento de raízes dos feixes radiculares (cm). Outros sinais de toxicidade também foram considerados, como raízes que perderam a região meristemática, alterações na cor das raízes, raízes em gancho e raízes torcidas.

$$CR = \frac{SCRFR}{10} \quad (1)$$

4.3.3 Avaliação de citotoxicidade e genotoxicidade

Após a avaliação de fitotoxicidade, cinco raízes foram fixadas em Carnoy 3:1 (álcool etílico: ácido acético) por 48 h. Após a fixação, as raízes foram hidrolisadas em HCl 1N, e suas regiões meristemáticas foram excisadas para confecção de lâminas por meio da técnica de esmagamento conforme Herrero *et al.* (2012) como apresentado na Figura 12.

Figura 12 - Hidrolização das raízes



Fonte: Autoria Própria (2022)

Na técnica se extraía a região meristemática, coradas com orceína acética 2% e maceradas com bisturi de forma a serem reduzidas em partes ainda menores e se espalharem pelo vidro. Elas também recebiam lamínula e esmalte para fixação, que reduziam a desidratação e em seguida eram armazenadas em uma caixa fechada para conservação. As lâminas foram analisadas em microscópio óptico em aumento de 400 x (Figura 13).

Figura 13 - Lâminas confeccionadas para análise



Fonte: Autoria própria (2022)

A citotoxicidade foi estabelecida com base na proliferação celular dos meristemas, onde se contabilizou células em intérfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase, e calculou-se o Índice Mitótico (IM) (Equação 2), onde NCDC representa o número total de células em divisão celular. Para cada bulbo analisou-se 2.000 células, totalizando 6.000 células analisadas para cada uma das amostras (cola, ácido bórico e *slime*).

$$IM = \frac{NCDC}{6000} \times 100 \quad (2)$$

A genotoxicidade foi definida com base no Índice de Alterações Celulares (IAC) calculado a partir do número de alterações celulares (NAC) observado nos meristemas (Equação 3). De cada bulbo observou-se 200 células, totalizando 600 células analisadas para cola, ácido bórico e *slime*. As categorias de células aberrantes consideradas foram micronúcleo, viscosidade, metáfase com desagregação cromossômica e ana/telófases anormais, que incluem pontes, cromossomos vagantes, desagregação cromossômica e fusos multipolares.

$$IAC: \frac{NAC}{600} \times 100 \quad (3)$$

4.4 Análise estatística

Os resultados obtidos foram submetidos ao teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn ($p \leq 0,05$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análise das células meristemáticas

Para se obter os resultados de toxicidade nas amostras estudadas cada amostra foi analisada separadamente e comparada com os resultados obtidos do controle.

5.2 Fito, Cito e genotoxicidade das substâncias analisadas

Com base nos resultados da Tabela 2, a concentração avaliada de cola, diferentemente do ácido bórico e do *slime*, reduziu significativamente o comprimento de raízes quando comparado ao controle. Em relação ao índice mitótico, somente a cola reduziu drasticamente a divisão celular nas raízes, mostrando-se citotóxica, e corroborando os dados de fitotoxicidade obtidos. Ademais, os meristemas de raízes expostos ao ácido bórico e ao *slime* apresentaram número significativo de prófases em detrimento as demais fases da divisão celular, caracterizando um atraso na mitose induzido por esses compostos/substâncias.

Tabela 2 - Índice de crescimento de raízes, Índice mitótico e Índice de Prófase

TR	Parâmetro (cm)	Parâmetro (%)	Parâmetro (%)
	ICR/DP	IM/DP	IP/DP
Controle	2,8 ± 0,8	34,1 ± 0,7	25,4 ± 0,9
Cola branca	1,3 ± 0,5 *	18,4 ± 0,6*	27,3 ± 0,4
Água boricada	2,9 ± 0,5	28,4 ± 0,5	45,9 ± 0,8 *
<i>Slime</i>	3,8 ± 0,5	25,6 ± 0,5	39,2 ± 0,8*

TR: Tratamentos, ICR: Índice de Crescimento de Raízes, IM: Índice Mitótico, DP: Desvio Padrão, Co: Controle, IP: Índices de prófases. * Os asteriscos indicam diferenças estatisticamente significativas entre tratamento e controle, segundo Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn ($p \leq 0,05$).

Fonte: Autoria própria (2022)

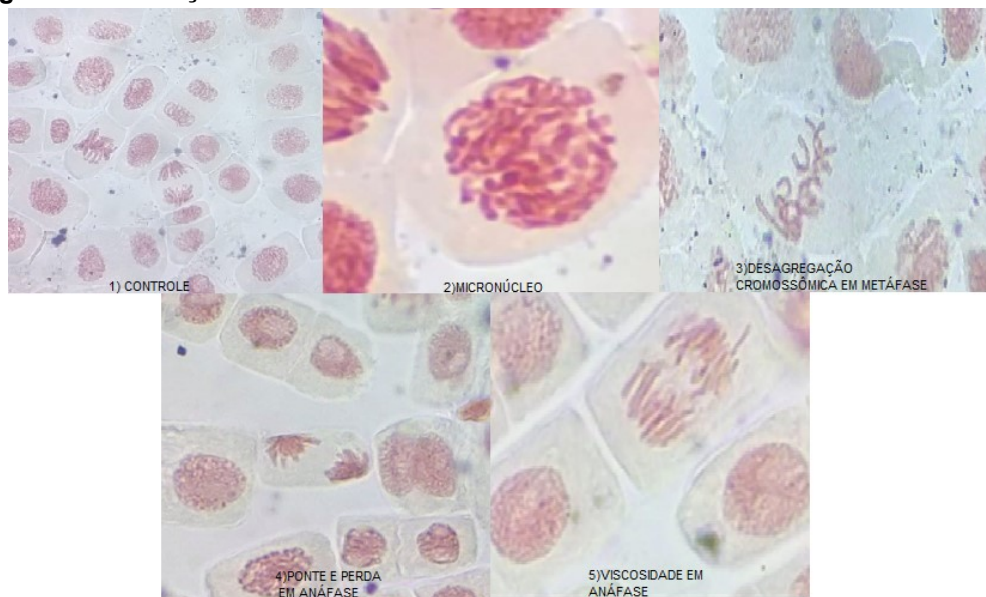
De acordo com Rank e Nielsen (1997), o índice mitótico não deve ser inferior a 50% do valor de controle para se obter uma análise confiável de alterações celulares. Os três compostos avaliados causaram alterações celulares em número significativo quando comparado ao controle, com ênfase ao *slime*. As alterações celulares observadas foram micronúcleo, desagregação cromossômica em metáfase, perda cromossômica em metáfase e anáfase, ponte anafásica e cromossomos viscosos (Tabela 3, Figura 14).

Tabela 3- Número, tipos e índices de alterações celulares observados nos meristemas de raízes

TR	Número e tipos de alterações celulares				
	celulares				
	Micronúcleo	Metáfase Anormal	Anáfase anormal	Viscosidade	IAC±DP
Controle	n.d.	04	n.d.	n.d.	0,4 ± 0,2
Cola branca	10	01	28	21	6,0 ± 0,5*
Água boricada	15	17	09	18	5,9 ± 0,6*
<i>Slime</i>	27	22	29	32	11,0 ± 0,5*

TR: tratamentos, IAC: índice de alterações celulares, DP: desvio padrão, n.d.: não detectado. *Diferente ao valor de Índice de Alterações Celulares observado para o Co, segundo Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn ($p \leq 0,05$).

Fonte: Autoria própria (2022)

Figura 14- Alterações encontradas das células meristemáticas de raízes de *A. cepa*

Fonte: Autoria própria (2022)

As imagens apresentadas na Figura 15, ilustram as alterações celulares encontradas em todas as soluções analisadas. Os micronúcleos podem ser decorrência da quebra do DNA com formação de fragmentos cromossômicos acêntricos ou do atraso cromossômico durante a divisão celular (HERRERO *et al.*, 2012). Pelos resultados de alterações obtidos nesse estudo, pode-se inferir que os micronúcleos foram oriundos de perda cromossômica em metáfase e anáfase. Porém, a ocorrência deles também pode ser devida a quebras cromossômicas uma vez que se observou ponte em anáfase. Assim, a cola, a água boricada e o *slime* induziram efeito aneugênico aos meristemas de raízes. Porém, nas condições de análises estabelecidas para esse trabalho, não foi possível afirmar sobre o seu potencial clastogênico das amostras.

Ademais, anáfase viscosas ocorrem pelo dobramento inadequado de fibras cromossômicas e pela despolimerização do DNA devido a desnaturação parcial de nucleoproteínas, bem como pela quebra e troca de fibras dobradas entre cromátides (SANTO *et al.*, 2022). Logo, cromossomos viscosos indicam efeito altamente tóxico dos compostos ao qual os meristemas foram expostos, e são irreversíveis, causando a morte celular (FISKESJO, 1985).

Baseado nos resultados de inibição da divisão celular, do aumento expressivo de prófases, bem como a presença significativa de alterações celulares, entende-se que as três amostras na concentração 2 g/L causaram distúrbios na interfase que podem ocorrer pela inibição na síntese de DNA e/ou pelo bloqueio na finalização da fase G1 da interfase e na formação do fuso mitótico em meristemas de raízes de *A. cepa*.

Sabe-se que a cola branca é resultado de uma mistura de álcool poli(vinílico) com água, por isso analisou-se resultados obtidos do estudo da toxicidade do composto PVA. DeMerlis *et al.* (2003) realizou estudos em 344 ratos dos sexos masculino e feminino para analisar a toxicidade do álcool poli(vinílico) um dos componentes na fabricação da cola branca ao ser ingerido oralmente. Resultados mostram que muito pouco PVA é absorvido pelo trato gastrointestinal. Os dados indicam que o PVA administrado por via oral seria colocado na categoria de menor preocupação.

Apesar da substância encontrada na cola não ser um problema ao ser ingerida, pode afetar diretamente nas células encontradas na pele que é um tecido de intensa mitose (assim como os meristemas radiculares), principalmente nas mãos onde tem contato direto. Os resultados das análises feitas por *A. cepa* mostram que a cola branca é citogenotóxica e com potencial em causar morte celular, uma vez que induz a formação de anáfases viscosas.

Apesar da cola branca não ser indicada para uso na pele, a utilização da mesma aumentou gradativamente com a fabricação do *slime* caseiro, e apesar de apresentar um grau de toxicidade alto uma vez que inibe a divisão celular ela ainda é muito vendida comercialmente para tal finalidade.

Para pessoas sensíveis e que tendem a ter alergias, o contato com colas, como resinas epoxídicas podem iniciar a respostas inflamatórias no corpo por menor que seja sua composição. Os primeiros sintomas serão vermelhidão e coceira, essa ocorrência é a chamada dermatite de contato que pode ocorrer ao menor contato com

a substância. E devido aos dados encontrados ao analisar a cola branca, subentende-se que pela sua composição ela tende a causar mais problemas de saúde que as demais substâncias.

Conforme a PORTARIA de Nº 302/2021 do INMETRO que avalia brinquedos, como massa de modelar, os mesmos que apresentarem componentes em forma pasta, gel ou líquido não podem apresentar toxicidade oral aguda, dérmica, irritação ocular primária, irritação da mucosa oral e contaminação microbiológica. Porém, *slimes* caseiros por não terem um seguimento fixo não apresentam avaliações e exigências sanitárias.

O *slime* comercial adquirido é resultado da composição de água, glicerina, espessantes, conservantes e corantes, e apesar da análise ter sido feita do produto pronto alguns componentes podem induzir em maior porcentagem aos problemas dermatológicos.

A água boricada utilizada como reticulante em *slimes* caseiros também é um ingrediente com alto risco tóxico, composta por ácido bórico, produto que contém o mesmo elemento presente no bórax. Por ser diluído em água, seu uso apresenta menos risco, mas, ainda assim, acomete pessoas com a pele mais sensível. No presente estudo o ácido bórico mostrou-se genotóxico. Segundo Marin-Morales *et al.* (2009), a genotoxicidade gera células com números cromossômicos diferentes. Em mamíferos tal condição é uma das principais causas na geração de neoplasias.

A ANVISA avalia a água boricada como classe de potencial altamente tóxico. Isso porque a sua utilização pode danificar a camada de gordura protetora da pele, o que pode acarretar em lesões que parecem feridas vermelhas, coçam e ardem. Apesar do teste não apresentar um alto nível de toxicidade para o a água boricada, ele ainda assim pode gerar problemas na saúde principalmente de crianças por serem mais sensíveis.

Segundo o enfermeiro Manuel Reis (2020), água boricada pode levar a problemas de saúde uma vez que é utilizado sem prescrição médica. Quando a concentração de ácido bórico é muito elevada na solução ou quando ingerida, já que é considerada tóxica e pode desencadear reações alérgicas graves.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), aprova que a água boricada seja comercializada com uma concentração de no máximo 3 % de ácido bórico. Apesar da água boricada conter o mínimo de toxicidade crianças são mais facilmente contaminadas, porque, como a solução é mais absorvida por mucosas do

que pela pele, se a criança passar as mãos nos olhos ou na boca, ela estará se contaminando, e o uso prolongado do produto causa problemas.

A *European Chemical Agency* (ECHA), uma agência europeia de produtos químicos, mantém suas classificações segundo critérios do GHS, notificou que a exposição ao bórax apresenta séria irritação aos olhos e o produto ainda é classificado como sendo um composto com toxicidade à reprodução. Os ensaios realizados com ratos resultaram na esterilização dos mesmos, tanto nos ratos do sexo masculino, quanto do sexo feminino.

Um estudo realizado por José *et al.* (2007) analisou 42 pacientes que faziam uso de água boricada para tratamento nos olhos. Os resultados indicaram que o maior índice de contaminação era devido ao uso inadequado dos frascos que acarretavam em um alto número de bactérias, e o menor nível de contaminação da solução estão possivelmente associados às características anti-sépticas da solução de ácido bórico.

Segundo Legnaioli (2022) o uso medicinal da água boricada se deve principalmente à sua ação antisséptica contra bactérias e fungos e um estudo analisou o uso de água boricada nos olhos e concluiu que a aplicação incorreta da água boricada pode piorar quadros de afecções. A exposição à poeira do ácido bórico costuma provocar irritação ocular. Devido aos relatos de toxicidade, sua venda é raramente disponível em alguns países. A FDA (*Food and Drug Administration* – agência federal do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos) questiona a segurança do uso tópico de ácido bórico como antisséptico para os olhos.

É importante enfatizar que, nas condições de análises estabelecida para este estudo, o *slime* avaliado demonstrou potencial genotóxico a *A. cepa*. Esse resultado corrobora a fitototoxicidade e citogenotoxicidade observada para a cola branca e a genotoxicidade obtida para a água boricad. Assim, ao considerar que o princípio da mitose é semelhante em tecido de alto metabolismo e proliferação celular nas diferentes espécies, infere-se que o *slime* pode ser prejudicial as células epidérmicas das mãos. Mais testes devem ser realizados, como os de estresse oxidativo e

viabilidade celular, para se explicar o princípio da toxicidade observada nas células quando expostas a esse brinquedo.

6 CONCLUSÃO

O trabalho apresentou os efeitos da toxicidade presente em *slime* comercial e de componentes usados na fabricação de *slime* caseiro no sistema *Allium cepa* L., nas concentrações de 2 g/L de cada substância. Ele preenche uma lacuna científica, não somente da relação dos componentes com este organismo-teste, mas de estudos relacionados as causas negativas que o uso prolongado de brinquedos com uso de espessantes podem causar, que são ainda recentes.

Em resposta aos objetivos específicos, a cola branca se mostrou fitotóxica uma vez que houve a inibição do crescimento das raízes dos bulbos que estavam em contato com a solução, e ambas os componentes apresentaram um grau de genotoxicidade devido a inibição da divisão celular subsequente a anáfase. Foram encontradas várias alterações celulares em ambas as lâminas, onde se teve a presença de perdas em anáfase, pontes e micronúcleos.

Por mais que estudos demonstrem a baixa toxicidade das 3 substâncias, alguns fatores auxiliam na causa de doenças dermatológicas e patogênicas como o contato prolongado com os componentes, e a sensibilidade ocular ao se encostar a mão contaminada nos olhos. No caso do componente que se mostrou fitotóxico, um constante contato com a cola pode acarretar na inibição da divisão celular, e nesse caso uma perda de células novas resulta em possíveis problemas na epiderme da mão.

O câncer é, uma doença causada por divisão celular alterada. Seu desenvolvimento e progressão estão normalmente ligados a uma série de alterações na atividade do ciclo celular. Os inibidores do ciclo celular impedem que as células se dividam quando as condições não são as corretas, por isso a baixa ação desses inibidores pode causar câncer. Da mesma forma, os reguladores positivos da divisão celular podem causar câncer se estiverem muito ativos. Na maioria dos casos, essas alterações na atividade ocorrem devido a mutações nos genes que codificam as proteínas reguladoras do ciclo celular.

O bioensaio com *A. cepa* mostrou-se uma ferramenta útil para avaliar o potencial de substâncias não regulamentadas encontradas em diversas matrizes, como o álcool polivinílico sobretudo com a combinação de parâmetros macro e microscópicos nas análises. O método em questão é confiável por se tratar de análise de divisão celular, uma vez que o princípio da divisão celular é o mesmo em plantas

e humanos e a região meristemática da raiz de *Allium cepa* possui um alto grau de divisão celular assim como na mão de crianças, por estarem em fase de crescimento e constante troca de renovação celular.

Médicos e especialistas têm recomendado que o manuseio dos *slimes* comerciais não sejam contínuos e orientam para que adultos não incentivem crianças a quererem produzir sua própria *slime*. Se a mistura caseira de *slime* causa alergia a opção é optar pelo produto industrializado certificado pelo INMETRO. Quando produzidos pela indústria, há maior padronização e controle do uso de substâncias que podem fazer mal às crianças. Portanto, o indicado é escolher os brinquedos com o selo, o que significa que eles já foram testados e aprovados, diminuindo, assim, os riscos de causar algum tipo de dano à saúde das crianças.

Com intuito de obter maior conhecimento e abranger os estudos relacionados, que novos ensaios de toxicidade sejam realizados, envolvendo um espectro maior de concentrações e organismos, para que se construa um sólido banco de dados, e que a pesquisa possa alcançar a sociedade e colocá-la a par dos riscos tratados, instigando-a a prevenir futuros problemas de saúde.

REFERÊNCIAS

- ALVIM, L. B.; KUMMROW, F.; BEIJO, L. A.; LIMA, C. A. DE A.; BARBOSA, S. Avaliação da citogenotoxicidade de efluentes têxteis utilizando *Allium cepa* L. **Ambiente & Água**, v. 6, n. 2, p. 255-265, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.198>. Acesso em: 12 nov. 2022.
- ANDERSON, L.; TREAT, J.; BROD, B. A.; & YU, J. “Slime” contact dermatitis: Case report and review of relevant allergens. **Pediatric Dermatology**, v. 36, n. 6, p. 335–337, mai. 2019.
- ARANHA, ISABELE.; LUCAS, ELIZABETE. Poli (Álcool Vinílico) Modificado com Cadeias Hidrocarbônicas: Avaliação do Balanço Hidrófilo/Lipófilo. **Associação Brasileira de Polímeros**, São Paulo, v. 11, n. 4, p. 174-181, mai. 2002.
- ARENZON, A.; PEREIRA, T. J.; GERBER, W. **Manual sobre toxicidade em efluentes industriais**. Porto Alegre: CEP SENAI de Artes Gráficas Henrique d’Ávila Bertaso, 2011.
- ASHRAF, J.M.; NAYFEH, L.; & NAYFEH, A. Mechanical characterization and optical microscopy of homemade slime and the effect of some common household products. **Scientific Reports**. v. 12, n. 3953. p. 13-16, Mar. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-07949-z>. Acesso em: 2 jun. 2022.
- AZEVEDO, Erica. Relato de experiência: preparo de slime para ensino de propriedades dos materiais e forças intermoleculares em Química. **Revista Educação Pública**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 4, fev. 2021. Disponível em: <https://educacaopublica.cecierj.edu.br/artigos/21/4/relato-de-experiencia-preparo-de-slimei-para-ensino-de-propriedades-dos-materiais-e-forcas-intermoleculares-em-quimica>. Acesso em: 08 dez. 2022.
- BAGATINI, Dulce.; SILVA, Antonio. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 17, n. 3, p. 444-447, set. 2007.
- BRAGA, J. R. M.; LOPES, D. M. Citotoxicidade e genotoxicidade da água do rio Subaé (Humildes, Bahia, Brasil) usando *Allium cepa* L. como bioindicador. **Ambiente & Água**, v. 10, n. 1, p. 130-140, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.1459>. Acesso em: 13 nov. 2022.
- CANEVAROLO JR. S. V. **Ciência dos polímeros – um texto básico para tecnólogos e engenheiros**. 2. Ed. São Paulo: Artliber, 2002.
- CARDOSO, A. C. DE O.; BARROS, H. N. DA S.; OLIVEIRA, D. A. A. DOS S., & MESSEDER, J. C. A química da Slime: implicações e perspectivas no Ensino Fundamental. **Educação Química En Punto de Vista**, v. 3. n. 2, mar. 2020.
- CARVALHO, Tassia, *et al.* Testes Para Avaliação De Genotoxicidade Com *Allium Cepa*: Estado Da Arte. **Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento**, v. 3, n. 12. p. 131-139, dez. 2018.

CARVALHO, D. S. **A química dos protetores solares**: uma proposta de texto de divulgação científica. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química) - Instituto de Química, Universidade de Brasília, Brasília, 2019.

CARVALHO, G. Do que é feita a gelatina? Ela é benéfica para a saúde? **GZH**. 2019. Disponível em: <https://gauchazh.clicrbs.com.br/economia/campo-e-lavoura/noticia/2019/11/do-que-e-feita-a-gelatina-ela-e-benefica-para-a-saude-ck37mq95701wy01mq1qe0tfkg.html>. Acesso em: 31 mar. 2022.

CHEN *et al.* Characterization of collagen matrices crosslinked using microbial transglutaminase. **Biomaterials**, v. 26, n. 20, p. 4229–4235, jun. 2005.

COSTA, C. R.; OLIVI, P.; BOTTA, C. M. R.; ESPINDOLA, E. L. G. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000700038>. Acesso em: 13 nov. 2022.

DALYAN, O.; ÖZTÜRK, Ö. F.; & PİŞKİN, M. Toxicity of Polyvinyl Alcohols in Medicinal Chemistry. **MANAS Journal of Engineering**, v. 9, n. 2, p. 129-135, dez. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.51354/mjen.918635>. Acesso em: 03 dez 2022.

DEMERLIS, C.; SCHONEKER, D. Review of the oral toxicity of polyvinyl alcohol (PVA). **Food and Chemical Toxicology**, v. 3, n. 41, p. 319-326, mar. 2003. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S02786991502002582>. Acesso em: 2 jun. 2022.

DEY, D. K.; & KANG, S. C. Aflatoxin B1 induces reactive oxygen species-dependent caspase-mediated apoptosis in normal human cells, inhibits *Allium cepa* root cell division, and triggers inflammatory response in zebrafish larvae. **Science of The Total Environment**, v. 737, n.139704, out. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2020.139704>. Acesso em: 02 dez. 2022.

DUPUY, E.; MILLER, M., & HARTER, N. What We Have Learned—Milestones in Pediatric Contact Dermatitis. **Current Dermatology Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–12, mar. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13671-022-00353-w>. Acesso em: 02 dez. 2022.

EGITO *et al.* Cytotoxic and genotoxic potential of surface water from the Pitimbu river, northeastern/RN Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, v. 30, n. 2, p. 435–441, mar. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1415-47572007000300023>. Acesso em: 02 dez. 2022.

EINERSON, N. J.; STEVENS, K. R., & KAO, W. J. Synthesis and physicochemical analysis of gelatin-based hydrogels for drug carrier matrices. **Biomaterials**, v. 24, n. 3, p. 509–523, fev. 2003. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(02\)00369-1](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(02)00369-1). Acesso em: 2 jun. 2022.

FERETTI, D.; ZERBINI, I.; ZANI, C.; CERETTI, E.; MORETTI, M.; MONARCA, S. *Allium cepa* chromosome aberration and micronucleus tests applied to study genotoxicity of extracts from pesticide-treated vegetables and grapes. **Food Additives & Contaminants**, v. 24, n. 6, p. 561-572, nov. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/02652030601113602>. Acesso em: 12 out. 2022.

FIGUEIREDO *et al.* Slime feito em casa pode apresentar riscos a saúde das crianças. **Hypeness**, 24 mai. 2019. Disponível em: <https://www.hypeness.com.br/2019/05/slime-feito-em-casa-representa-risco-a-saude-das-criancas/>. Acesso em: 08 dez. 2022.

FISKESJÖ, G. The Allium test as standart in enviromental monitoring. **Hereditas**, v.102, n. 1, p. 99-112, mar. 1995. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1985.tb00471.x>. Acesso em: 23 out. 2022.

FLORY, P. J.; REHNER, J. J. Statistical mechanics of cross-linked polymer networks II: Swelling. **The Journal of Chemical Physics**, New York, v. 11, p. 521-526, 1943.

FREITAS *et al.* A rheological description of mixtures of a galactoxiloglucan with high amylose and waxy corn starches. **Carbohydrate polymers**, v. 51, p. 25-32, 2003.

GITTLER, J. K.; GARZON, M. C., & LAUREN, C. T. “Slime” May Not be so Benign: A Cause of Hand Dermatitis. **The Journal of Pediatrics**, v. 200, p. 288, mai. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.JPEDS.2018.03.064>. Acesso em: 9 abr.

GONSALVES, Arlan *et al.* Diferentes estratégias para a reticulação de quitosana. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1215-1223, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000700021>. Acesso em: 9 abr. 2022.

GRANT, W. F. Chromosome aberration assys in *Allium*: A report of the U.S. environmental protection agency gene-tox program. **Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology**, v. 99, n. 3, p. 273-291, 1982. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0165-1110\(82\)90046-X](https://doi.org/10.1016/0165-1110(82)90046-X). Acesso em: 13 nov. 2022.

HALIMA, Niked. Poly(vinyl alcohol): review of its promising applications and insights into biodegradation. **RSC Advances**, v. 6, p. 46, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/C6RA05742J>. Acesso em: 09 abr. 2022.

HELLER, E.; MURTHY, A. S.; & JEN, M. V. A slime of the times: Two cases of acute irritant contact dermatitis from homemade slime. **Pediatric Dermatology**, v. 36, n. 1, p. 139–141, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/PDE.13617>. Acesso em: 9 de abr. 2022.

HERRERO *et al.* Toxicological evaluation of three contaminants of emerging concern by use of the *Allium cepa* test. **Mut Research/Genetic Toxicology Environ Mutagen**, v. 743, n. 1, p. 20-24, mar. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2011.12.028>. Acesso em: 2 jun. 2022.

HURST, G. A. Systems thinking approaches for international green chemistry education. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 21, p. 93–97, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.COGSC.2020.02.004>. Acesso em: 2 jun. 2022.

JANSSEN *et al.*, Chromosome Segregation Errors as a Cause of DNA Damage and Structural Chromosome Aberrations. **Science**, v. 333, n. 6051, p. 1895–1898, sep. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.1210214>. Acesso em: 01 dez. 2022.

JOSÉ AC.; CASTELO BRANCO B.; OHKAWARA LE.; YU MC., & LIMA AL. Use conditions of boric acid solution in the eye: handling and occurrence of contamination. **Arquivos Brasileiros Oftalmologia**.v. 70, n. 2, p. 201-207, mar. 2007.

JUNQUEIRA, Luiz. **Biologia celular e molecular**. 9. ed, Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2012.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL – **INMETRO**. Regulamento Técnico da Qualidade e os Requisitos de Avaliação da Conformidade para Brinquedos – Consolidado. Rio de Janeiro, INMETRO, 2019.

KHAN, I. S.; ALI, M. N.; HAMID, R., & GANIE, S. A. Genotoxic effect of two commonly used food dyes metanil yellow and carmoisine using *Allium cepa* L. as indicator. **Toxicology Reports**, v. 7, p. 370–375, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.TOXREP.2020.02.009>. Acesso em: 2 jun. 2022.

KURAS *et al.*, Changes in chromosome Structure, mitotic activity and nuclear DNA content from cells of *Allium Test* Induced by bark water extract of *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 107, n. 2, p. 211-221, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.03.018>. Acesso em: 23 abr. 2022.

KUÇUK, D. *et al.* “Efeitos citogenéticos de 2/clorofenol em células de meristema de raiz de *Allium cepa* L. **Pesquisa em Ciência Ambiental e Poluição**, v. 25. n. 36 p. 36117-36123, 2018.

LEGNAIOLI, Stella. O que é e para que serve a água boricada. **eCycle**, 2022. Disponível em: <https://www.ecycle.com.br/agua-boricada/>. Acesso em: 11 nov. 2022.

LEHMANN, D. M.; CAVET, M. E., & RICHARDSON, M. E. Nonclinical safety evaluation of boric acid and a novel borate-buffered contact lens multi-purpose solution, Biotrue multi-purpose solution. **Contact Lens and Anterior Eye**, v. 33, p. 24–32, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.clae.2010.06.010>. Acesso em: 01 dez. 2022.

LEME, D.; MORALES, M. A. M.-. *Allium cepa* Test in Environmental Monitoring: A review on its application. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 682, p. 71–81, 2009.

LEMES, *et al.* Enzymatically crosslinked gelatin coating added of bioactive nanoparticles and antifungal agent: **Effect on the quality of Benitaka grapes**. v. 84, p. 175–182, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2017.05.050>. Acesso em: 2 jun. 2022.

LEMOS, Pedro. Alergias de cola: Causas, sintomas e dermatite. **Índice de saúde**. 26. nov. 2018. Disponível em: <https://www.indicedesaude.com/alerrias-cola/>. Acesso em: 11 nov. 2022.

LIM, M.; GUAK, S.; CHEONG, N.Y. *et al.* Children’s exposures to boron and biocides from slime products in Asian regions. **Journal of Exposure Scienci Environment**

Epidemiology, v. 32, p. 103–111, 2022. Disponível em:

<https://doi.org/10.1038/s41370-021-00321-9>. Acesso em: 4 abril. 2022.

MA, T.; XU, Z.; XU, C.; MCCONNELL, H.; RABAGO, E. V.; ARREOLA, G. A.; ZHANG, H. The improved *Allium/Vicia* root tip micronucleus assay for clastogenicity of environmental pollutants. **Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects**, v. 334, n. 2, p. 185-195, 1995. Disponível em:

[https://doi.org/10.1016/0165-1161\(95\)90010-1](https://doi.org/10.1016/0165-1161(95)90010-1). Acesso em: 13 nov. 2022.

MATSUMOTO, S. T.; MARIN-MORALES, M. P. Mutagenic Potential Evaluation of the Water of a River That Receives Tannery Effluent Using the *Allium cepa* Test SYSTEM. **Cytologia**, v. 69, n. 4, p. 399-408, 2004. Disponível em:

<https://doi.org/10.1508/cytologia.69.399>. Acesso em: 31 out. 2022.

METAMUCIL BR. Retrieved April 11, 2022. Disponível em:

<https://www.metamucil.com.br/pt-br/sobre-metamucil/o-que-e-o-psyllium/>. Acesso em: 2 jun. 2022.

MOREIRA, C. Mitose. **Revista de Ciência Elementar**, v. 3, n. 3, p. 170, 2015.

Disponível em: <http://doi.org/10.24927/rce2015.170>. Acesso em: 03 dez. 2022.

OLIVEIRA, M. J. S.; BEZERRA, M. V. F.; LOIOLA, R. A.; DE LIMA, G. S.; ROCHA, G. H. O.; DE OLIVEIRA, R. T. D., & BARIONI, É. D. Effects of slime toy poisoning in children and teenagers. **Revista Paulista de Pediatria**, São Paulo. v. 41, nov. 2022.

Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1984-0462/2023/41/2021357>. Acesso em: 01 dez. 2022.

OSETROV *et al.* The Influence of Oxidant on Gelatin–Tannin Hydrogel Properties and Structure for Potential Biomedical Application. **Polymers**, v.14, n.1, p.150, dez. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/polym14010150>. Acesso em: 9 abr. 2022.

OVIEDO, I. R.; MENDEZ, N. A. N.; GOMEZ, M. P. G.; RODRIGUEZ, H. C.; MARTINEZ, A. R. Design of a physical and nontoxic crosslinked poly (vinyl alcohol) hydrogel. **International Journal of Polymeric Materials**, New York, v. 57, p. 1095-1103, 2008.

PARVAN, L. G.; LEITE, T. G.; FREITAS, T. B.; PEDROSA, P. A. A.; CALIXTO, J. S.; AGOSTINHO, L. DE A. Bioensaio com *Allium cepa* revela genotoxicidade deherbicida com flumioxazina. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 11, set. 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5123/s2176-6223202000544>. Acesso em: 9 nov. 2022.

PAULA, Guilherme. Anvisa alerta para riscos de intoxicação por uso de bórax em slimes. **Intertox**, 2018. Disponível em: <https://intertox.com.br/anvisa-alerta-para-riscos-de-intoxicacao-por-uso-de-borax-em-slimes/>. Acesso em: 09 nov. 2022. Acesso em: 9 abr. 2022.

PEDRO, J. **Detecção da citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade do inseticida fipronil no organismo teste *Allium cepa***. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Rio Claro, 2008.

PESSOTTI, N. S.; HAFNER, M. DE F. S.; POSSA, M. S., & LAZZARINI, R. Dermatite alérgica de contato ao slime. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 95, n. 2, p. 265–266, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.ABDP.2019.06.008>. Acesso em: 04 abr 2022.

PIAZZA, Christiane *et al.* Contact dermatitis from Do-It-Yourself slime: Work performed in a private office. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. v. 93, n. 6, p. 944, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/abd1806-4841.20188396>. Acesso em: 11 abr. 2022.

RANK J, NIELSEN M. *Allium cepa* anaphase-telophase root tip chromosome aberration assay on N-methyl-N-nitrosourea, maleic hydrazide, sodium azide and ethyl methanesulfonate. **Mutation Research**, v. 390, p. 121-127, 1997. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0165-1218\(97\)00008-6](https://doi.org/10.1016/S0165-1218(97)00008-6). Acesso em: 10 nov. 2022.

RAVEN, P.; JOHNSON, G.; MASON, K.; LOSOS, J.; DUNCAN, T. **Biology**. 12. ed. New York: McGraw-Hill, 2020.

REIS, Elizabeth *et al.* Synthesis and characterization of poly (vinyl alcohol) hydrogels and hybrids for rMPB70 protein adsorption. **Materials Research**. 2006, v. 9, n. 2, p. 185-191, jun. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1516-14392006000200014>. Acesso em: 14 jun. 2022.

REIS, Manuel. O que é água boricada para que serve e riscos. **Revista tua saúde**, nov. 2022. Disponível em: <https://bit.ly/3W8Q6wj>. Acesso em: 11 nov. 2022.

REVISTA EDUCAÇÃO PÚBLICA. Relato de experiência: preparo de slime para ensino de propriedades dos materiais e forças intermoleculares em Química. (n.d.) **Retrieved April**, v. 11, 2022. Disponível em: <https://educacaopublica.cecierj.edu.br/artigos/21/4/relato-de-experiencia-preparo-de-slime-para-ensino-de-propriedades-dos-materiais-e-forcas-intermoleculares-em-quimica>. Acesso em: 09 abr. 2022.

RITTO, H. História do *slime*. **Cultura UOL**. 2020. Disponível em: https://cultura.uol.com.br/noticias/colunas/slime/15_revirei-a-internet-e-encontrei-a-historia-do-slime-vem-descobrir.html. Acesso em: 31 mar. 2022.

RODRIGUES, M. A.; SILVIA, P. P.; GUERRA, WENDELL. Cobre. **Química Nova na escola**. v. 34, n. 3, p. 161-162, agosto, 2012. Disponível em: http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc34_3/10EQ-3710.pdf. Acesso em: 21/08/2020. Acesso em: 04 abr. 2022.

ROSCULETE, C. A.; BONCIU, E.; ROSCULETE, E., & OLARU, L. A. Determination of the environmental pollution potential of some herbicides by the assessment of cytotoxic and genotoxic effects on *allium cepa*. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, n. 1, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/IJERPH16010075>. Acesso em: 02 jun. 2022.

ROSSI-RODRIGUES, B. C.; HELENO, M. G.; SANTOS, R. V. DOS; MARCHINI, G. L.; DIAS, F. M. P. P.; CHIKUCHI, H. A.; GALEMBECK, E. **Preparo de lâmina para observação de mitose de célula vegetal ao microscópio óptico**. Campinas: Projeto EMBRIÃO, 2011. Disponível em: <https://www.bdc.ib.unicamp.br/embriao2/visualizarMaterial.php?idMaterial=1104>. Acesso em: 04 dez. 2022.

SHARMA *et al.* Borax mediated synthesis of a biocompatible self-healing hydrogel using dialdehyde carboxymethyl cellulose-dextrin and gelatin. **Reactive and Functional Polymers**, v. 166, p. 104977, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.REACTFUNCTPOLYM.2021.104977>. Acesso em: 09 abr. 2022.

SILVEIRA, G. L. *et al.* Efeitos tóxicos de poluentes ambientais: investigação comparativa usando *Allium cepa* L. e *Lactuca sativa*. **Quimiosfera**, v. 178, p. 359-367, 2017.

SMAKA-KINCL, V.; STEGNAR, P.; LOVKA, M.; TOMAN, M. J. The evaluation of waste, surface and ground water quality using the *Allium* test procedure. **Mutation Research/Genetic Toxicology**, v. 368, n. 4, p. 171-179, 1996. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0165-1218\(96\)90059-2](https://doi.org/10.1016/S0165-1218(96)90059-2). Acesso em: 07 jun. 2022.

SOUSA, S.; GEYSA J. S. S.; FABELINA K. M. M.; MÁRCIA M., PERON, A. P. Cytotoxic and genotoxic potential of industrialized powdered milk for infants and young children. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**. v. 42, p.1679-9283, 2020. Disponível em: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=187163790002>. Acesso em: 2 jun. 2022.

SOUZA, P. M. S.; SOMMAGGIO, L. R. D., MARIN-MORALES, M. A., & MORALES, A. R. PBAT biodegradable mulch films: Study of ecotoxicological impacts using *Allium cepa*, *Lactuca sativa* and HepG2/C3A cell culture. **Chemosphere**, v. 256, n. 126985, out. 2020. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2020.126985>. Acesso em: 11 nov. 2022.

SPS (Steves pangler science). **Science Of Slime Em Steve Spangler Science**. 2018. Disponível em: <https://www.stevespanglerscience.com/>. Acesso: 02 jun. 2022.

URRY, L. A.; CAIN, M. L.; WASSERMAN, S. A.; MINORSKY, P. V.; ORR, B. **Campbell Biology**. 12. ed. New York: Pearson, 2021.

WEMMENHOVE *et al.* Minimal inhibitory concentrations of undissociated lactic, acetic, citric and propionic acid for *Listeria monocytogenes* under conditions relevant to cheese. **Food Microbiology**, v. 58, n. 63–67, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.FM.2016.03.012>. Acesso em: 10 out. 2022.

ZHANG, H.; ZHANG, F., & YUAN, R. (2020). Applications of natural polymer-based hydrogels in the food industry. **Hydrogels Based on Natural Polymers**, p. 357–410. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816421-1.00015-X>. Acesso em: 2 jun. 2022.

ZHANG, Y., ZHU, P.C. & EDGREN, D. Crosslinking reaction of poly(vinyl alcohol) with glyoxal. **Journal of Polymer Research**, v. 17, p. 725–730, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10965-009-9362-z>. Acesso em: 11 nov. 2022.

ZOBEL, H. F.; STEPHEN, A. M. Starch: structure, analysis and application. In: STEPHEN, A. M. **Food polysaccharides and their application**. New York: Marcel Dekker, 1995.