



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

RAYSSA ALÉXIA MARTINS MOURA

**CITOTOXICIDADE E EFEITO MUTAGÊNICO DE INTEGRASIS EM PÓ UTILIZANDO
SISTEMA TESTE VEGETAL**

PICOS, PIAUÍ
2016

RAYSSA ALÉXIA MARTINS MOURA

**CITOTOXICIDADE E EFEITOS MUTAGÊNICOS DE LEITES INTEGRAIS EM PÓ
UTILIZANDO SISTEMA TESTE VEGETAL**

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

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ana Paula Peron.

PICOS, PIAUÍ
2016

FICHA CATALOGRÁFICA
Serviço de Processamento Técnico da Universidade Federal do Piauí
Biblioteca José Albano de Macêdo

M929c Moura, Rayssa Aléxia Martins

Citotoxicidade e efeito mutagênico de leites integrais em pó utilizando sistema teste vegetal / Rayssa Aléxia Martins Moura– 2016.

CD-ROM : il.; 4 ¾ pol. (33 f.)

Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Piauí, Picos, 2017.
Orientador(A): Profª Dra. Ana Paula Peron

1. Leite Instatâneo-Citoxidade. 2.Divisão Celular.
3.Distúrbio de Fuso Mitótico. I. Título.

CDD 571.6

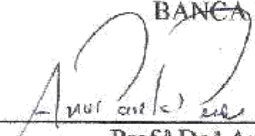
RAYSSA ALÉXIA MARTINS MOURA

**CITOTOXIDADE E EFEITOS MUTAGÊNICOS DE LEITES INTEGRAIS EM PÓ
UTILIZANDO SISTEMA TESTE VEGETAL**

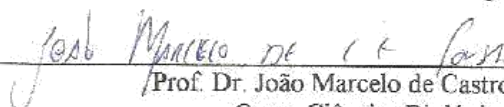
Monografia apresentada ao curso de Ciências
Biológicas da Universidade Federal do Piauí,
Campus Senador Helvídio Nunes de Barros,
como requisito parcial para a obtenção do grau
de Licenciado em Ciências Biológicas.

Monografia aprovada em 26/06/2016

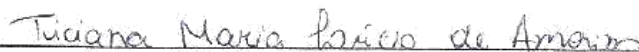
BANCA EXAMINADORA



Prof.^a Dr.^a Ana Paula Peron (Orientadora)
Curso de Ciências Biológicas-UFPI



Prof. Dr. João Marcelo de Castro (Examinador)
Curso Ciências Biológicas-UFPI



Prof.^a Dr.^a Ticiane Maria Lúcio de Amorim (Examinador)
Curso de Medicina-UFPI

À Jeová, minha família, pais e irmã e aos amigos.
Dedico.

AGRADECIMENTOS

Existem pessoas na vida, que acabam sendo muito mais do que podemos esperar delas. Acabam sendo essenciais para que possamos enfrentar as batalhas, as tristezas, os momentos difíceis, mas que também são aqueles que estão nos momentos de alegria, de felicidade absoluta e de superação. A estas pessoas que tornaram a minha vida melhor, agradeço de coração e espero que esse seja o começo de uma nova fase, e que mesmo que a distância nos separe, estarei sempre a disposição de todos e que sempre saibam que o que sinto por todos não mudará.

Agradeço à meus pais, Nelson Moura e Cléia Moura, que são realmente os bons pais que qualquer pessoa gostaria de ter, que cuidaram de mim, me ajudaram, me ensinaram a base da bíblia a melhor forma de viver, amando a Jeová lealmente acima de todas as coisas, sempre com muita paciência, com muita perseverança, pois não é um trabalho nada fácil. Me sinto privilegiada por ser sua filha, e sei que mesmo falha em demonstrar, tenho certeza do quanto os amo e sempre os amarei.

Agradeço à minha irmã querida, Alanna Moura, meu xodó, minha grande e melhor amiga. Quando meu olhar se mostrava triste ou cansado, ela com o jeito dela engraçado, sempre me alegrou, teve muita paciência durante minhas crises, e me ajudou sempre quando eu precisava. O tempo fez nossa relação ser muito forte, aprendendo a viver e conviver com as nossas diferenças que nos fizeram traçar uma ponte entre nós nos deixando mais unidas a ponto de nossas igualdades serem o nosso laço. Amo você!

Agradeço aos meus colegas: Gabriele Meneses, Erick Leal, Andréia Carvalho, Francisco Antônio, Hélia Alencar e Brenda Carvalho, pelos momentos nessa jornada em que pudemos compartilhar, principalmente as aventuras e as alegrias. Espero imensamente que sejam muito felizes fazendo o que gostam de fazer, desejo muitas felicidades a esses biólogos do meu coração.

Também sou grata a minha companheira e amiga Ila Monize pela grande ajuda que me deu no laboratório sempre com o jeitinho alegre de ser, contagiando a todos e também a Fabelina Karollyne pelo apoio.

À minha professora orientadora doutora Ana Paula Peron a quem respeito muito e sou grata pelo apoio, pela orientação e pela força durante todo esse tempo que estive sob sua orientação e a todos os professores do curso de Ciências Biológicas por tudo que pude aprender.

“Não sabendo que era impossível, ele foi lá e fez.”
Jean Cocteau

RESUMO

A presente pesquisa tem o intuito de avaliar a ação em nível celular de leites desidratados ou em pó do tipo integral de quatro empresas de reconhecida atuação no mercado brasileiro de alimentos, assim como de outros países da América do Sul. A avaliação se deu em células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* L., nos tempos de exposição 24 e 48 horas, onde os produtos lácteos diluídos em água mineral foram testados nas concentrações 130 g/1000mL e 130g/500mL. Com base nos resultados obtidos, todas as amostras avaliadas nos tempos de análises estabelecidos reduziram a proliferação celular dos meristemas de raízes demonstrando significativo efeito citotóxico. Ainda, a concentração 130 g/1000ml das amostras analisadas induziu nas 24 horas de exposição frequência expressiva de alterações de fuso mitótico e micronúcleos as células do tecido analisado caracterizando-se, nas condições de análises estabelecidas, como genotóxicas e mutagênicas, respectivamente. Portanto, com base nos dados obtidos, conclui-se que os leites em pó avaliados causaram relevante instabilidade genética às células do organismo teste utilizado. Estes resultados são de grande relevância em razão de, até o momento, não existirem estudos de toxicidade de produtos lácteos desidratados, e nem dos aditivos alimentares presentes na formulação destes alimentos.

Palavras-chave: leite instantâneo; divisão celular; distúrbios de fuso mitótico, tecido meristemático.

ABSTRACT

The present research aims to evaluate the action at the cellular level of dehydrated or powdered milk of the integral type of four companies of recognized performance in the Brazilian food market, as well as other South American countries. The evaluation occurred in cells *Allium cepa* L. roots, at 24 and 48 hour exposure times, where the milk products diluted in mineral water were tested at 130 g / 1000 mL and 130 g / 500 mL concentrations. Based on the results obtained, all the samples evaluated at the established analysis times reduced the cellular proliferation of the root meristems demonstrating a significant cytotoxic effect. Moreover, the concentration of 130 g / 1000 ml of the analyzed samples induced the expressive frequency of mitotic spindle and micronucleus alterations in the analyzed tissue, characterized in the conditions of established analyzes, as genotoxic and mutagenic, respectively. Therefore, based on the data obtained, it is concluded that the powdered milks evaluated caused significant genetic instability to the cells of the test organism used. These results are of great relevance because, to date, there are no toxicity studies of dehydrated dairy products, nor the food additives present in the formulation of these foods.

Keywords: instant milk; cell division; mitotic spindle disorders, meristematic tissue.

LISTA DE QUADROS E FIGURAS

Quadro 01 - Classe de aditivos alimentares.....	3
Quadro 02 - Aditivos aceitos pela ANVISA em Leites e suas quantidades	8
Figura 01 - Leites em integrais em Pó.....	11
Figura 02 - Bulbos de cebola em frascos com água para crescimento das raízes.....	11
Figura 03 - Principais fases da divisão mitótica.....	12
Figura 04 - Algumas das principais mutações cromossômicas encontradas nas lâminas.....	12

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 – Número de células em cada fase do ciclo celular observado em tecido meristemático de raízes de *Allium cepa* expostos por 24 e 48 horas a amostras de leite em pó diluídos em água mineral, nas concentrações 130g/1000ml e 130g/500ml, provenientes de quatro diferentes empresas alimentícias, identificadas como como A, B, C e D. Em cada tratamento foram apresentados os valores significativos de χ^2 .
.....13

Tabela 02 – Número de alterações celulares em tecido meristemático de raízes de *Allium cepa* expostos, por 24 e 48 horas, a amostras de leite em pó de quatro empresas de alimentos diluídos em água mineral, na concentração de 130g/1000ml. Em cada tratamento foram apresentados os valores significativos de χ^2 .
.....15

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO	3
3. MATERIAIS E MÉTODOS	10
3.1 OBTENÇÃO DOS LEITES INTEGRAIS EM PÓ.....	10
3.2 OBTENÇÃO DE CÉLULAS MERISTEMÁTICAS DE RAÍZES DE A. CEPA PARA A ANÁLISE CITOGENÉTICA.....	10
3.3 PREPARO E LEITURA DAS LÂMINAS E ANÁLISE DE DADOS.....	11
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
5. CONCLUSÃO	13
REFERÊNCIAS	19

1. INTRODUÇÃO

O leite bovino, em função de sua composição de lipídeos, sacarídeos e vitaminas, é considerado um dos alimentos mais completos em termos nutricionais para a dieta humana (TAFFAREL et al., 2015). Dentre as várias formas em que este alimento é oferecido para o consumidor, o leite em pó ou desidratado tem uma maior estabilidade dos componentes nutricionais, o que lhe proporciona maior vida de prateleira, podendo ser classificados conforme seu teor de lipídeos em integral, semidesnatado e desnatado, onde o tipo integral é o mais consumido pela população.

De acordo com Oliveira (2008), este alimento é preparado a partir da desidratação do leite, condição que o protege da contaminação por microrganismos indesejáveis. Segundo este mesmo autor, tais produtos lácteos também são isentos de aditivos alimentares de cor, aroma e sabor. No Brasil, estes produtos são normatizados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, através do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos leites desidratados– Portaria nº 369, de 1997 (BRASIL, 1997). Tal regulamento foi confeccionado com base nas determinações do *Codex Alimentarius*, órgão que regulariza em todo o mundo as normas gerais de composição química, segurança e rotulagem de alimentos (PFLANZER et al., 2010).

Apesar de não se atribuir aos leites em pó os aditivos aromatizantes, corantes e conservantes – microingredientes cientificamente comprovados como tóxicos em nível sistêmico e celular (MARQUES et al., 2015; MOURA et al., 2016; SALES et al., 2016) - são adicionados a esses alimentos aditivos de ação umectante, estabilizante e antioxidante que, dentre outras características, têm a função de preservar a textura e a homogeneidade e garantir a não oxidação do leite, principalmente, após aberto para consumo (AGUIAR et al., 2015; TAFFAREL et al., 2015).

Órgãos como o *Codex Alimentarius* e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), ressaltam em seus regulamentos técnicos a necessidade constante de estudos toxicológicos de efeito agudo de microingredientes alimentares de modo geral, e especialmente dos alimentos acrescidos destes compostos, uma vez que muitos aditivos alimentares, como os de ação umectante, estabilizante e antioxidantes, não foram avaliados quanto aos seus potenciais efeitos citotóxicos, genotóxicos, mutagênicos e carcinogênicos (GOMES et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2013; MARQUES et al., 2015; MOURA et al., 2016; SILVA et al., 2016). Ainda, enfatizam que os resultados obtidos das análises toxicológicas são a base de elaboração ou modificação dos documentos que normatizam a

composição básica e o índice de ingestão diária ou de consumo de alimentos semi-industrializados e industrializados (BRASIL, 2007; MOURA et al., 2016; SALES et al., 2016). Entretanto, em uma ampla busca na literatura científica, verificou-se que não existem trabalhos de avaliação de toxicidade de bebidas lácteas comercializadas na forma desidratada ou em pó.

Um exemplo de teste que pode avaliar a toxicidade a nível celular dos leites seria a análise dos meristemas de raízes de *Allium cepa* L. (cebola), que são considerados no meio científico como um eficiente bioensaio para a avaliação da toxicidade aguda em nível celular de compostos químicos em razão de apresentarem número cromossômico reduzido ($2n=16$), o que favorece a detecção de alterações cromossômicas ou clastogênicas, de fuso mitótico ou aneugênicas, e de distúrbios no índice proliferação celular (NEVES et al., 2014; BIANCHI et al., 2015). Esse sistema teste é aceito internacionalmente por agências de pesquisa como um instrumento de avaliação de acurada sensibilidade para análise da citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade de substância de interesse, uma vez que, os resultados obtidos por intermédio dele demonstram, em grande parte das vezes, similaridade satisfatória a aqueles obtidos via sistemas testes animal e em culturas de células (TUKOGLU, 2007; HERRERO et al., 2011; LACERDA et al., 2014; TABREZ et al., 2011; GOMES et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2013; CAMPOS; MARIN-MORALES, 2016; MOURA et al., 2016, SANTANA et al., 2016; CAMPOS-PEREIRA et al., 2016).

Portanto, pretendeu-se na presente pesquisa avaliar, em células meristemáticas de raízes de *A. cepa*, a toxicidade de leites em pó, do tipo integral, de quatro empresas de expressiva relevância no mercado de alimentos brasileiro, assim como de outros países da América do Sul.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

Nos últimos anos, a abertura da economia de alguns países incluindo o Brasil tem incentivado o aumento do mercado consumidor, além da estabilização monetária. O preço real dos alimentos industrializados acabou diminuindo, o que resulta no favorecimento da participação de pessoas que possuem uma renda menor no mercado alimentício industrializado. Em suma, a medida que se aumenta a renda de um país e seus índices econômicos, o consumo de alimentos passa a ser mais sofisticado. E a preferência maior de alimentos industrializados acontece também pela facilidade de obtenção (POLÔNIO; PEREZ 2009).

Além desses fatores, podemos também citar o grande avanço social das mulheres, que com o trabalho, passam a conviver fora do lar, e como os alimentos industrializados têm maior praticidade, rapidez, durabilidade e boa aceitação de produto, os hábitos alimentares da família brasileira acabam por serem substituídos o que antes eram *in natura* por alimentos industrializados. Com isso, a dieta alimentar humana tem sofrido modificações e é possível notar o aumento de doenças crônicas associadas ao consumo processado, reações adversas e carcinogenicidade em longo prazo, acrescentando uma preocupação, principalmente à saúde das crianças, pois estas possuem menos massa corpórea para a quantidade de alimentos industrializados consumidos. (POLÔNIO; PEREZ 2009; DE AQUINO, PHILIPPI, 2002).

Hoje é possível identificar nos mais diversos alimentos consumidos pelos brasileiros, aditivos que podem ser inseridos no momento de fabricação do produto. Estas mesmas substâncias também conhecidas como microingredientes, que são utilizadas em larga escala pela indústria alimentícia e adicionados para o melhoramento dos alimentos em sabor, aroma, conservação e textura entre outras coisas, são os aditivos alimentares. Eles não possuem o objetivo de nutrir, mas de modificar as características físicas, químicas e biológicas sensoriais e ainda atingem o mundo inteiro principalmente os grandes centros urbanos onde as pessoas fazem grande consumo das comidas processadas. (POLÔNIO, PEREZ 2009). O uso atual dessas substâncias tem aumentado bastante com a globalização, o desenvolvimento da logística e o grande avanço na área química, resultando em um número considerável de aditivos incorporados e comercializados pela indústria alimentícia oferecendo melhorias na qualidade física dos alimentos, gerando melhor renda e maior preferência da população ao consumo desses produtos do que alimentos *in natura*. (HONORATTO et.al. 2013).

Os aditivos são classificados em naturais, que são aqueles que são retirados e utilizados diretamente de partes das plantas, como o urucum, casca de uva, beterraba e etc, e classificados em sintéticos que passam pelo processo químico antes de chegar ao consumidor. Atualmente é observado em algumas pesquisas e estudos que os sintéticos podem prejudicar a saúde pelo uso de forma indiscriminada por mais que proporcionem maior duração do sabor, do aroma e do próprio alimento, mas que são apontados por causarem diversas reações ao organismo, inclusive expor o organismo a doenças crônicas em consequência de dietas descontroladas. Os mesmos são encontrados nos rótulos dos produtos, porém percebe-se a falta de informações de identificação das quantidades utilizadas para a população, informações estas que poderiam mostrar quais os riscos que podem acontecer se ingeridos sem limites diários. (CHAGAS et. al. 2014; ALBUQUERQUE et. al. 2012).

De acordo com Salinas (2002), no quadro abaixo os aditivos estão classificados das seguintes formas, destacando-se suas funções:

Quadro. 01 Classe de aditivos alimentares

TIPO	FUNÇÃO
Antiespumante	Previne ou reduz a formação de espumas.
Antiumectante/Antiaglutinante	São capazes de reduzir características higroscópicas de alimentos e diminuir a tendência das partículas individuais a aderir umas as outras.
Antioxidante	Retarda o aparecimento de alteração oxidativa do alimento.
Corante	Confere, intensifica ou restaura a cor do alimento.
Conservante	Impede ou retarda a alteração dos alimentos provocada por microorganismos e enzimas.
Edulcorante	É diferente dos açúcares que dão sabor doce aos alimentos.
Espessante	Aumenta a viscosidade dos alimentos.
Gelificante	Dá textura através da formação de gel.
Estabilizante	Manutenção de dispersão uniforme de duas ou mais substâncias imiscíveis em um alimento.
Aromatizante/flavorizante	Substância ou mistura com propriedades aromáticas, sápidas ou ambas, capazes de dar ou reforçar o aroma, o sabor ou ambos dos alimentos
Umectante	Protege os alimentos da perda de umidade em ambiente de baixa umidade relativa ou que facilitam a dissolução de um pó em meio aquoso.
Regulador da acidez	Altera ou controla a acidez ou alcalinidade dos alimentos.
Emulsionante/Emulsificante	Tornam possível a formação ou manutenção de uma mistura uniforme de duas ou mais fases imiscíveis no alimento.

Melhoradores da farinha	São substâncias que ser adicionadas a farinha, melhoram sua qualidade tecnológica.
Ressaltante de sabor	Ressalta e realça o sabor e/ou aroma de um alimento
Fermentos químicos	São substâncias ou misturas de substâncias que liberam gás e desta maneira, aumentam o volume de massa.
Abrilhantadores	Substâncias que quando aplicadas na superfície do alimento proporcionam aparência brilhante ou dão revestimento protetor.
Agente de firmeza ou endurecedor ou texturizante	Tornam ou mantêm os tecidos de frutas ou hortaliças firmes e crocantes, ou interagem com agentes gelificantes para produzir ou fortalecer o gel.
Sequestrante	Complexos químicos com íons metálicos.
Espumantes	Possibilitam a formação ou manutenção da dispersão uniforme de uma fase gasosa em um alimento líquido ou sólido.

Fonte: Salinas, 2002

A ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), órgão nacional responsável pelo controle dos alimentos e suas substâncias para proteção da saúde da população brasileira comenta sobre estes tais aditivos e segundo a RESOLUÇÃO Nº 388, DE 5 DE AGOSTO DE 1999, com o objetivo de minimizar os riscos a saúde da população em geral, regula em que quantidades máximas os produtos alimentícios industrializados podem conter de aditivos estabelecendo suas funções e seus limites máximos para cada categoria de alimentos.

Segundo a Anvisa (1997), a ingestão dessas substâncias não devem ultrapassar o IDA (Ingestão Diária Aceitável) sob os níveis estipulados de concentração tolerado aos tipos específicos de alimentos por massa corpórea e devem atender a pureza estabelecida pela FAO-OMS- Food Chemical Codex como referência do uso de aditivos. Ainda assim, nos últimos anos observou-se uma discussão a respeito da toxicidade dos grupos sintéticos pela genotoxicidade, e os riscos que podem causar à saúde a fim de que se determine os efeitos nocivos, já que desempenham um papel importante na indústria dos alimentos (HONORATO et. al. 2013).

Estudos realizados em alguns países como a Índia, mostraram que a ingestão desses aditivos pela população excedem os níveis máximos do IDA, como por exemplo, as crianças apresentaram uma ingestão de alimentos sólidos entre 2 e 465 g/dia e de 25 a 840mL/dia de alimentos líquidos com adição de corantes (Polônio; Perez, 2009). Já Shumann (2008) explica que mesmo que a Anvisa propunha resoluções sobre a quantidade de ingestão de aditivos, ainda assim é preciso um controle já que não existe a obrigatoriedade legal na indústria de alimentos a declarar as quantidades adicionadas e comercializadas.

Dentre os alimentos consumidos em larga escala, podemos citar um produto bem consumido pela população, que se pode encontrar facilmente nos mercados, comercializado de várias formas, desde esterilizado, aromatizado, dentre outros, é o leite. Líquido branco, opaco, levemente adocicado, com odor pouco acentuado, o leite é o produto da secreção da glândula mamária das fêmeas no período de lactação, liberado pelo processo da ordenha. É um dos líquidos mais consumidos no mundo inteiro por pessoas de todas as idades e é bastante relevante no mercado. Pelo seu valor nutritivo elevado, torna-se o único alimento que satisfaz às necessidades nutricionais e metabólicas dentre os recém-nascidos das espécies de mamíferos (VALSECHI, 2001; SGARBIERI, 2004).

Na sua constituição existem proteínas, carboidratos, lipídeos, minerais e vitaminas dissolvidas em água, gerando pela mistura desses compostos, propriedades complexas importantes para a alimentação humana de todas as idades, principalmente para crianças e recém-nascidos. No aspecto energético, o leite pode fornecer elementos essenciais à manutenção do equilíbrio orgânico e oferecer a reposição de elementos minerais essenciais, o que irá proporcionar o bom funcionamento do metabolismo e estrutural dos organismos, e manutenção do equilíbrio orgânico, o que ocorre por meio da reposição mineral. Em sua composição geral, possui em ordem decrescente: Água (87,30%), Lactose (4,90%), Gordura (3,80%), Proteínas (3,30%) e Minerais (0,72%) (SGARBIERI, 2004; REIS et. al. 2001).

A lactose é o açúcar do leite, com o nome químico 4-β-D-galactopiranosil-D-glicopiranos, ela é responsável pela acidez e o sabor agradável. É um dissacarídeo composto pela união dos monossacarídeos D-glicose e D-galactose, e estão ligados por ponte glicosídica β-1,4 (GONZÁLEZ et.al 2001; GAONA, 2006).

A gordura é o terceiro componente mais abundante do leite. Este material formado por lipídeos tem forma de emulsão na mistura que compõe o leite e contribui muito para o resultado energético final. A gordura do leite também é muito importante para obtenção de sabor e odor do leite e seus derivados, além de ser a base para fabricação dos próprios derivados. A coloração branca que o leite possui se dá devido aos glóbulos de gordura e às micelas de caseína e fosfato de cálcio suspensas em fase aquosa que variam de 0,1 a 10 micrômetros (GONZÁLEZ et.al 2001).

A caseína é relativamente a principal proteína presente no leite. Apresenta boa qualidade nutricional, fornecendo uma quantidade de aminoácidos que possui digestibilidade de cerca de 97%. Além disso, a mesma proteína irá permitir os processos

tecnológicos para sua transformação, principalmente na fabricação de queijos (VALSECHI, 2001; REIS et.al. 2002).

No leite são encontrados alguns tipos de minerais como cálcio e fósforo que são essenciais na alimentação humana de todas as idades, para a formação dos ossos e dentes principalmente de lactantes e crianças. Muitas vitaminas são encontradas no leite, mas ele será mesmo uma grande fonte de vitamina A, riboflavina e cianocobalamina que contribuem para a boa visão, integridade da pele e estão ligadas ao crescimento do organismo e função imunológica além de ser essencial à manutenção fisiológica do organismo (VALSECHI, 2001; FERNANDES, 2005).

Nas diferenças de alimentação da população brasileira entre alguns anos está à forma em que este produto é consumido, sendo antes consumido *in natura*, e hoje como produto industrializado, comercializado em sua forma líquida integral ou desengordurado e pasteurizado ou esterilizado. Essas mesmas formas são também comercializadas desidratadas, que é o leite em pó. Porém, apesar de não se atribuir aos leites em pó os aditivos aromatizantes, corantes e conservantes – microingredientes cientificamente comprovados como tóxicos em nível sistêmico e celular (MARQUES et al., 2015; MOURA et al., 2016; SALES et al., 2016) - são adicionados a esses alimentos, aditivos de ação umectante, estabilizante e antioxidante que, dentre outras características, têm a função de preservar a textura e a homogeneidade e garantir a não oxidação do leite, principalmente, após aberto para consumo (AGUIAR et al., 2015; TAFFAREL et al., 2015). De acordo com Oliveira (2008), este alimento é preparado a partir da desidratação do leite, condição que o protege da contaminação por microrganismos indesejáveis.

Os produtos lácteos, no Brasil, são normatizados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, através do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos leites desidratados– Portaria nº 369, de 1997 (BRASIL, 1997). Tal regulamento foi produzido com base nas determinações do *Codex Alimentarius*, órgão que regulariza em todo o mundo as normas gerais de composição química, segurança e rotulagem de alimentos (Brasil, 1996; PFLANZER et al., 2010). Na América do Sul, há um importante mercado de leite em pó integral e desnatado, no qual o Brasil, o sexto maior produtor de leite do mundo atua como um importante exportador bem como a Argentina (PINHA, 2014).

Para o leite em pó a ANVISA determinou na Resolução nº 1 de 26 de abril de 1999, em reunião realizada em 22 de março de 2000, o seguinte regulamento citando o código geral dos aditivos permitidos e a quantidade recomendada:

Quadro 02: Aditivos aceitos pela ANVISA em Leites e suas quantidades.

Leite em Pó Integral		Quantidade
	Estabilizante	
331 iii	Citrato de Sódio, Citrato Tridissódico	<i>quantum satis</i>
332	Citrato de Potássio, Citrato Tripotássico	<i>quantum satis</i>
Leite em Pó Instantâneo		
	Emulsificante	
322	Lecitina	<i>quantum satis</i>
	Estabilizante	
331 iii	Citrato de Sódio, Citrato Trissódico	<i>quantum satis</i>
332	Citrato de Potássio, Citrato Tripotássico	<i>quantum satis</i>

Fonte: ANVISA, 1999

Entre os dados é possível notar que a ANVISA indica a quantidade de alguns aditivos como *quantum satis* (q.s.), o que significa que é permitida a quantidade necessária para obter o efeito tecnológico desejado desde que não altere a identidade e a genuinidade do produto, ou seja, as taxas de quantidades ficam a critério da própria empresa de fabricação dos produtos alimentícios.

Nota-se uma escassez de trabalhos e estudos de embasamento para sanar completamente as dúvidas sobre a citotoxicidade, carcinogenicidade e mutagenicidade desses aditivos (HONORATO et. al 2014). Portanto, recomenda-se que haja estudos dessa área, pois é possível notar que pouco é encontrado em conhecimento científico com pesquisas e estudos a respeito do tema proposto, e que essas pesquisas possam mostrar de forma satisfatória a avaliação dessas substâncias em quesitos como mutagenicidade, carcinogenicidade e toxicidade visto que o tema genotoxicidade tem emergido como grande preocupação para busca de informação através da pesquisa genética. Além disso que possam esclarecer à comunidade as propriedades mutagênicas e antimutagências de alguns produtos usados pela população, fazendo-se diversos sistemas de testes. O benefício é que nos sistemas-testes oferecem uma prova circunstancial do potencial genotóxico, quando causa danos ao DNA (ANDRADE, 2007; HONORATO et. al 2014)

Os testes nas células meristemáticas da raiz em *Allium cepa*, utilizado por muitos pesquisadores, se aplica bem a avaliação, podendo assim estimar uma garantia de consumo correto e retirar dúvidas pertinentes ao assunto e a influência na saúde da população. Na comunidade científica, o *Allium cepa* é considerado um organismo eficiente em testes de avaliação da citotoxicidade e genotoxicidade de produtos, além disso é bem aceito por diversos fatores como o rápido crescimento de raízes, a boa tolerância a variações das condições para o cultivo, a facilidade em ser manuseado e o fato de possuir uma quantidade

menor de cromossomos além de que cebolas são fáceis de serem armazenadas, manuseadas e as células da raiz constituem um sistema conveniente tanto para parâmetros macroscópicos quanto para microscópicos (GRIPPA, et. al 2010; AMARAL et. al. 2007)

Esse teste tem sido aceito pela IPCS (Programa Internacional de Segurança Química), OMS (Organização Mundial da Saúde) e UNEP (Programa Ambiental das Nações Unidas) e nesse estudo foi observado durante o ciclo celular se o leite de diferentes marcas afetam processos químicos como a duplicação e transcrição e se podem gerar células cancerígenas, com lesões no seu material genético. Assim, torna-se importante os testes dessas substâncias em bioindicadores, como os feitos com sistemas testes vegetais, que inclusive têm sido bem aceitos, principalmente o de *Allium cepa* na avaliação de riscos de genotoxicidade, pois a ativação de pró-mutagênicos das raízes meristemáticas possui alta relevância. Também, a pesquisa de bioindicadores como com as células raiz da cebola e alterações cromossômicas decorrentes de seu metabolismo com a presença de agentes mutagênicos, tem sido relatado por vários autores e alertado a população sobre consumo de substâncias em testes feitos e avaliados (BAGATINI et.al. 2007).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 OBTENÇÃO DOS LEITES INTEGRAIS EM PÓ

Os leites em pó, fabricados pelas empresas *Nestlé*[®], *Piracanjuba*[®], *Itambé*[®] e *Embaré*[®] -denominadas adiante de A, B, C e D, respectivamente - foram adquiridos em mercado varejista na cidade de Picos no Estado do Piauí, Brasil, em maio de 2016.

Figura 01: Leites Integrais em Pó A. Nestlé. B. Piracanjuba. C. Itambé. D. Embaré.



Fonte: Google, 2016

Teve-se o cuidado de verificar se os alimentos lácteos estavam dentro do prazo de validade e se suas embalagens não estavam violadas e/ou danificadas. As amostras de leite das empresas estavam acondicionadas em embalagens plásticas que continham 130 g do produto em pó. Nos rótulos sugeriu-se como ideal para consumo a diluição de todo o leite do pacote em um litro de água mineral fervente. Com base nesta orientação, estabeleceu-se duas concentrações para análise: 130g/1000ml e 130g/500ml. Após a diluição, os produtos lácteos foram deixados para esfriar a temperatura ambiente, e logo em seguida iniciou-se a análise de toxicidade.

3.2 OBTENÇÕES DE CÉLULAS MERISTEMÁTICAS DE RAÍZES DE A. CEPA PARA A ANÁLISE CITOGENÉTICA

Inicialmente, os bulbos de cebola foram colocados em frascos preenchidos com água mineral, à temperatura ambiente ($\pm 27^{\circ}\text{C}$), até a obtenção de raízes de 2,0 cm de comprimento. Para análise de cada amostra de leite estabeleceu-se um grupo experimental com cinco bulbos de cebola. Antes de colocar as raízes em contato com a suas respectivas

amostras de leite (tratamentos), algumas raízes foram coletadas e fixadas para servirem de controle do próprio bulbo. Em seguida, as raízes restantes foram postas em seus respectivos tratamentos por 24 horas, procedimento denominado de tempo de exposição 24 horas.

Figura 02: Bulbos de cebola em frascos com água para crescimento das raízes



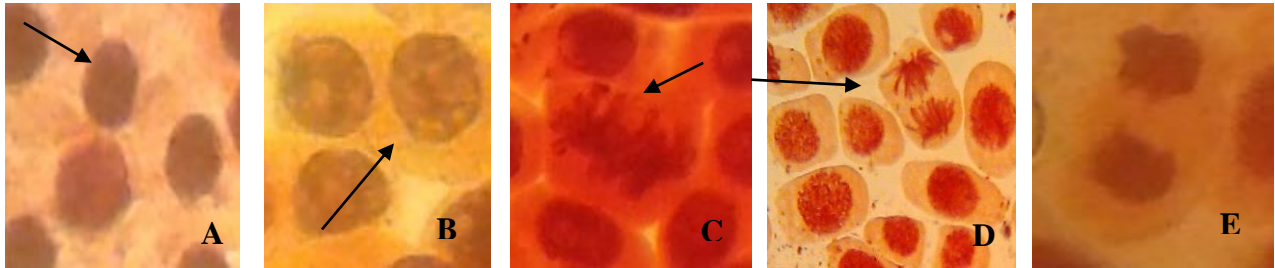
Fonte: A autoria própria, 2016

Após 24 horas foram retiradas algumas raízes e fixadas. Feito este procedimento, as raízes restantes de cada bulbo foram devolvidas a seus respectivos tratamentos onde permaneceram por mais 24 horas, o que se denominou de tempo de exposição 48 horas. Após este período, raízes novamente foram coletadas e fixadas. Os tempos de exposição 24 e 48 horas foram escolhidos com o intuito de avaliar a ação dos leites em pó diluídos em mais de um ciclo celular. A fixação das raízes se deu em Carnoy 3:1 (etanol: ácido acético) por 24 horas. Em cada coleta, retirou-se, em média, três raízes por bulbo.

3.3 PREPARO E LEITURA DAS LÂMINAS E ANÁLISE DE DADOS

As lâminas, em média 03 por bulbo, foram feitas seguindo o protocolo proposto por Guerra e Souza (2002), e analisadas em microscópio óptico em objetiva de 400x. Para cada bulbo de cebola analisou-se 1.000 células, totalizando 5.000 células para cada controle, tempo de exposição 24 horas e tempo de exposição 48 horas de cada grupo tratamento em análise. Assim, para cada amostra de leite analisou-se um total de 15.000 células incluindo-se as amostras de controle. Foram observadas células em intérfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase. Para o cálculo do índice mitótico (IM) utilizou-se a seguinte equação: (número total de células em mitose ÷ número total de células analisadas) x 100.

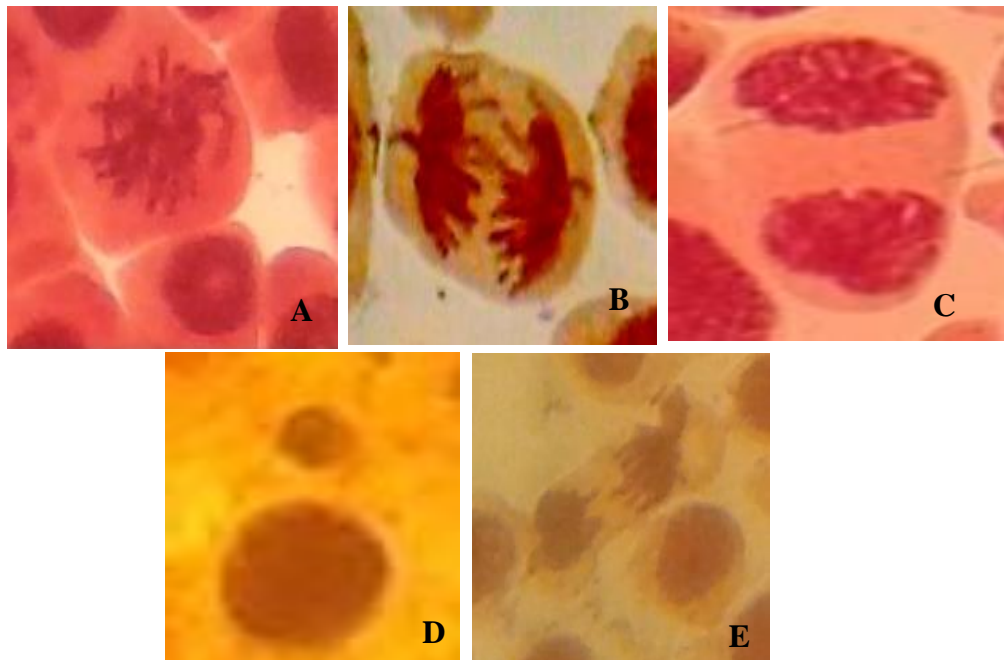
Figura 03 - Principais fases da divisão mitótica **A.** Célula em intérfase. **B.** Célula em prófase. **C.** Célula em metáfase. **D.** Célula em anáfase. **E.** Célula em telófase



Fonte: Autorial Própria, 2016.

Avaliou-se também a toxicidade das amostras de leite através da frequência de micronúcleos ou de efeitos clastogênicos e de metáfases colchicínicas, pontes anáfasicas e telofásicas, ampliações gênicas, células com aderências, brotos nucleares e anáfases multipolares, denominadas de alterações aneugênicas ou de fuso mitótico. Para a análise estatística dos dados, utilizou-se o teste do Qui-quadrado (χ^2), com nível de probabilidade <0.05 .

Figura 04: Algumas das principais mutações cromossômicas encontradas nas lâminas **A.** Metáfase colchicínica. **B.** Ponte Anafásica. **C.** Célula binucleada **D.** Micronúcleo **E.** Anáfase com atraso cromossômico.



Fonte: Autorial Própria, 2016

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 são apresentados os resultados de proliferação celular em tecidos meristemáticos de raízes de *Allium cepa* expostos a leites em pó diluídos em água mineral nas concentrações 130g/1000ml e 130g/500ml.

Tabela 1 - Número de células em cada fase do ciclo celular observado em tecido meristemático de raízes de *Allium cepa* expostos por 24 e 48 horas a amostras de leite em pó diluídos em água mineral, nas concentrações 130g/1000ml e 130g/500ml, provenientes de quatro diferentes empresas alimentícias, identificadas como como A, B, C e D. Em cada tratamento foram apresentados os valores significativos de χ^2 .

Empresa	Concentração	DADOS ÍNDICE MITÓTICO							
		TE	TCII	P	M	A	T	TCD	IM (%)
A	130g/1000ml	CO	3963	511	333	194	99	1037	22,7 ^a
		24 h	4755	90	74	59	22	245	4,9 ^b
		48 h	4987	09	03	01	00	13	0,3 ^c
	130g/500ml	CO	3937	398	300	271	94	1063	21,3 ^a
		24 h	4967	14	09	01	09	33	0,7 ^b
		48 h	4989	07	04	00	00	11	0,2 ^b
B	130g/1000ml	CO	3965	322	224	295	194	1035	21,0 ^a
		24 h	4712	99	81	74	34	288	5,8 ^b
		48 h	4954	32	13	00	01	46	0,9 ^c
	130g/500ml	CO	4177	347	199	156	121	823	16,5 ^a
		24 h	4975	14	03	01	07	25	0,5 ^b
		48 h	4986	04	09	01	00	14	0,3 ^b
C	130g/1000ml	CO	3913	378	354	201	154	1087	21,7 ^a
		24 h	4770	74	89	54	13	230	4,6 ^b
		48 h	4965	21	10	04	00	35	0,7 ^c
	130g/500ml	CO	3923	433	299	154	191	1077	21,5
		24 h	4977	09	11	03	00	23	0,5 ^b
		48 h	4984	09	07	00	00	16	0,3 ^b
D	130g/1000ml	CO	3982	389	243	208	178	1018	20,4 ^a
		24 h	4810	44	79	54	13	190	3,8 ^b
		48 h	4961	21	09	09	00	39	0,8 ^c
	130g/500ml	CO	3931	302	433	142	192	1069	21,4
		24 h	4964	17	04	09	01	36	0,7 ^b
		48 h	4984	13	03	00	00	16	0,3 ^b

Nestlé[®], *Piracanjuba*[®], *Itambé*[®] e *Embare*[®]; TCII – Total de células em interfase e indiferenciadas; P - Prófase; M - Metáfase; A - Anáfase; T - Telófase; TE – Tempo de Exposição; CO – Controle; IM – Índice Mitótico; TCD – Total de células em divisão; Valores de IM seguidos da mesma letra dentro de um mesmo tratamento não diferem significativamente entre si pelo teste χ^2 , ao nível de 5%.

Os resultados apresentados na Tabela 1 mostram que as duas concentrações de todas as amostras de leites em pó avaliadas causaram redução significativa no índice de divisão celular dos meristemas de raízes, nos tempos de exposição 24 e 48 horas, quando confrontados aos índices mitóticos observados para seus respectivos controles. Da mesma forma, quando confrontados entre si os índices de divisão celular obtidos para os tempos de exposição 24 e 48 horas das duas concentrações avaliadas, verificou-se que todos leites causaram inibição estatisticamente significativa da proliferação celular. Apesar das duas concentrações avaliadas terem inibido significativamente a divisão celular do tecido meristemático, a 130g/500 ml foi a que causou redução de forma mais acentuada. Assim, considerando os resultados apresentados na Tabela 01, pode-se inferir que os alimentos em pó avaliados, nas condições de estudo estabelecidas, promoveram citotoxicidade significativa ao ciclo celular do sistema teste utilizado.

O potencial citotóxico de alimentos industrializados pode ser determinado pelo aumento ou diminuição do índice mitótico dos tecidos expostos a eles (Fernandes et al., 2007). De acordo com Caritá e Marin-Morales (2008), índices de divisão celular inferiores ao controle negativo indicam a presença de agentes cuja ação tóxica compromete o crescimento e o desenvolvimento dos organismos expostos. Gomes et al. (2013), Marques et al. (2015), Sales et al. (2006) e Moura et al. (2016) ainda citam que a inibição da proliferação celular desencadeada por compostos citotóxicos em tecidos de intensa proliferação celular e de desempenho normal ou sem alterações celulares, como os utilizados nesta pesquisa para avaliação da toxicidade de leites em pó, é bastante prejudicial ao organismo, uma vez que possui a propriedade de inibir ou limitar a reposição de células, alterar a produção de proteínas e, conseqüentemente, resultar no mal funcionamento do órgão onde está localizada (GOMES et al., 2013; MARQUES et al., 2015; SALES et al., 2016; MOURA et al., 2016).

Na Tabela 02 são apresentados os resultados de alterações de fuso mitótico e cromossômicas, decorrentes da exposição de raízes de *Allium cepa* a amostras de leite em pó, na concentração 130g/1000 ml.

Tabela 2 - Número de alterações celulares em tecido meristemático de raízes de *Allium cepa* expostos, por 24 e 48 horas, a amostras de leite em pó de quatro empresas de alimentos diluídos em água mineral, na concentração de 130g/1000ml. Em cada tratamento foram apresentados os valores significativos de χ^2 .

Empresa	TE	Metáfase C	Pontes anafásicas e telofásicas	Anáfase Multipolar	Micronúcleos	TAC
A	CO	01	00	00	00	01 ^a
	24 h	19	18	13	33	83 ^b
	48 h	00	00	00	01	01 ^a
B	CO	00	00	00	01	01 ^a
	24 h	11	13	19	49	82 ^b
	48 h	00	00	02	00	02 ^a
C	CO	00	01	00	00	01
	24 h	23	04	19	33	79 ^a
	48 h	00	00	00	04	04
D	CO	00	00	00	01	01
	24 h	21	13	09	24	67 ^a
	48 h	04	00	00	01	05

Piracanjuba[®], *Embaré*[®], *Goiaisminas*[®], *Parmalat*[®], *CBL Alimentos S/A*[®] e *Lacel Laticínios*[®]; CO – Controle; TE – Tempo de Exposição; TAC: Total de Alterações Celulares. Valores seguidos da mesma letra dentro de um mesmo tratamento não diferem significativamente entre si pelo teste χ^2 , ao nível de 5%.

A partir dos resultados apresentados na Tabela 02, verifica-se que todas as amostras de leite analisadas na concentração 130g/1000ml e tempo de exposição 24 horas promoveram número significativo de alterações celulares no tecido meristemático das raízes. No entanto, é possível observar que o número de alterações observadas para esta concentração no tempo de exposição 48 horas foi estatisticamente menor aos resultados obtidos para os seus específicos tempo de exposição 24 horas. Tal redução corrobora os resultados de proliferação celular apresentados na Tabela 01, uma vez que, todas as amostras de leite na concentração 130g/1000ml reduziram drasticamente a divisão celular no tempo de exposição 48 horas. Não foram observados alterações de fuso mitótico e micronúcleos nas células expostas a concentração de 130g/500ml dos produtos lácteos analisados razão de que esta concentração, conforme descrito na Tabela 01, reduziu expressivamente a divisão celular do organismo já no menor tempo de exposição considerado.

Conforme observado, os leites em pó na concentração 130g/1000ml, com destaque ao tempo de exposição 24 horas, induziram a formação de metáfases colchicínicas ou C-metáfases nas células dos meristemas (Tabela 02). A presença significativa de alteração de fuso mitótico demonstra que tais alimentos foram genotóxicos as células meristemáticas de raízes de *A. cepa*. Segundo Aissa et al. (2012), a ocorrência destes distúrbios em tecidos expostos a agentes genotóxicos demonstram que tais compostos afetam principalmente a integridade do fuso nuclear, ocasionando o não alinhamento correto dos cromossomos na placa equatorial durante a mitose e impedindo que as células avancem normalmente no ciclo celular.

Também foram observadas, na exposição das células de raízes, na concentração 130g/1000ml no menor tempo de exposição, anáfases com pontes, anáfases multipolares e telófases com pontes (Tabela 02). De acordo com Fernandes et al. (2007), as pontes evidenciadas em células em anáfase e/ou telófase ocorrem pela ação de agentes químicos que afetam significativamente o funcionamento do fuso mitótico durante a divisão nuclear, fazendo com que, entre outras características, cromossomos inteiros fiquem a deriva ao final da divisão celular. Já Leme e Marin-Morales (2008) ressaltam que as anáfases multipolares são decorrente do mau funcionamento do fuso ocasionado por agentes genotóxicos, que desencadeia uma distribuição irregular dos cromossomos durante a segregação das cromátides. Ademais, os leites na concentração de 130g/1000ml no tempo de exposição 24 horas induziram, em virtude das alterações de fuso mitóticos mencionadas, frequência expressiva de micronúcleos (Tabela 02). Fernandes et al. (2007) citam que tais alterações são caracterizadas pelas perdas de cromatina, e formadas durante a telófase quando o envoltório nuclear é reconstituído nas células filhas.

De acordo com Leme e Marin-Morales (2008), a presença expressiva de alterações de fuso mitótico, como as observadas aqui pela ação dos leites em pó, são consideradas como um importante parâmetro de genotoxicidade e mutagenicidade de compostos ou substâncias de interesse. Assim, os dados obtidos aqui por meio das células meristemáticas de raízes de *A. cepa* mostram que os alimentos lácteos avaliados possuem significativo potencial em ocasionar toxicidade em nível celular. Este resultado também indica que esses alimentos necessitam ser avaliados em bioensaios fisiologicamente mais complexo, como em animais, uma vez que, segundo Queiroz et al. (2015), alterações celulares quando presentes de forma expressiva, da forma como evidenciado no presente estudo, tem significativo potencial em promoverem neoplasias, visto que há correlação positiva entre o aumento da frequência de micronúcleos e o desenvolvimento de câncer em mamíferos.

Conforme mencionado anteriormente, não foram encontrados na literatura trabalhos de avaliação do potencial citotóxico, genotóxicos e mutagênicos de leites em pó em geral, assim como dos microingredientes sintéticos adicionados a sua composição. No entanto, há grande preocupação por parte de profissionais da área de saúde e dos órgãos de vigilância alimentar quanto a adição de compostos químicos não permitidos por lei pelos órgãos reguladores competentes a estes alimentos (MAREZE et al., 2015; ROCHA et al., 2015). Tais substâncias são adicionadas na intenção de manter características organolépticas específicas, aumentar o rendimento total e, conseqüentemente, o lucro obtido na comercialização desses produtos lácteos.

Dentre os compostos adicionados estão aqueles de ação conservantes e alquilantes (ABRANTES et al., 2014). Conforme as informações disponibilizadas na literatura, os conservantes mais comumente adicionados são o formol e/ou água oxigenada, em razão de ajudarem na eliminação de grande parte da flora microbiana do leite, e assim estenderem o prazo de validade desses alimentos. Já os principais compostos químicos usados como alquilantes são a soda cáustica e/ou bicarbonato, por auxiliarem na manutenção da homogeneidade e a não oxidação do leite.

Tais substâncias químicas utilizadas na adulteração do leite já foram amplamente estudadas quanto aos seus potenciais tóxicos, e demonstraram expressiva toxicidade em nível celular. Porém, é de suma importância destacar que não foram informadas marcas e nem as empresas de alimentos nos estudos que verificam as fraudes realizadas nos leites em pó, o que não permite nem ao menos sugerir que os resultados obtidos na presente pesquisa ocorreram em decorrência das adulterações mencionadas.

5. CONCLUSÃO

Todas as amostras de leite nas duas concentrações avaliadas causaram, de forma significativa, redução drástica da divisão celular, caracterizando-se nesse estudo como citotóxicas.

Todas as amostras, na concentração 130g/1000ml e tempo de exposição 24 horas foram genotóxicas e mutagênicas a células meristemáticas de raízes de *A. cepa*. Tal efeito não foi observado para a menor concentração no tempo de 48 horas, assim como na concentração 130g/500ml, nos dois tempos de análises estabelecidos, em virtude de que para esses tratamentos a redução da divisão celular foi bastante expressiva quando comparados com seus respectivos controles.

Os resultados aqui obtidos da ação tóxica em nível celular de leites em pó são de grande relevância uma vez que, até o momento, não existem estudos de toxicidade publicados envolvendo tais alimentos.

REFERÊNCIAS

ABRANTES, M. R., da Silva Campêlo, C., & da Silva, J. B. A. (2014). Fraude em leite: Métodos de detecção e implicações para o consumidor. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 73(3), 244-251.

AGUIAR, A. C. R. D., Rocha Júnior, V. R., Caldeira, L. A., Almeida Filho, S. H. C. D., Ruas, J. R. M., Souza, V. M. D., ... & Pires, D. A. D. A. (2015). Composição do leite de vacas alimentadas com diferentes fontes de compostos nitrogenados. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 16(3).

AISSA, A.F.; Bianchi, M.L.P.; Ribeiro, J.C.; Hernandes, L.C.; Faria, A.F.; Mercadante, A.Z. y Antunes, L.M.G. Comparative study of β -carotene and microencapsulated β -carotene: Evaluation of their genotoxic and antigenotoxic effects. *Food Chem Toxicol*. 50(5): 1418-1424, 2012. Doi: [10.1016/j.fct.2012.02.030](https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.02.030)

AMARAL, Alexandre de Moraes, et al. "Avaliação preliminar da citotoxicidade e genotoxicidade, da água da bacia do rio Tapanhon (SP-Brasil) através do teste Allium (Allium cepa)." *Rev. bras. toxicol* 20.1/2 (2007): 65-72.

ANDRADE, C. U. B; **Mutagenicidade do extrato de casca de *Musa paradisíaca* (musaceae) em células de sangue periférico de camundongos *in vivo***. Dissertação (Mestrado em Saúde) – Universidade José do Vellano – UNIFENAS-MG, 2007.

BAGATINI, Margarete Dulce, Antonio Carlos Ferreira Silva, and Solange Bosio Tedesco. "Uso do sistema teste de Allium cepa como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais." *Rev Bras Farmacogn* 17.3 (2007): 444-447.

BRAGA, Jacqueline Ramos Machado, and Diêgo Menezes Lopes. "Citotoxicidade e genotoxicidade da água do rio Subaé (Humildes, Bahia, Brasil) usando Allium cepa L. como bioindicador/Cytotoxicity and genotoxicity in water of the Subaé River (Humildes, Bahia, Brazil) using Allium cepa L. as a bioindicator." *Revista Ambiente & Água* 10.1 (2015): 130.

BRASIL, ANVISA. **Resolução da Diretoria Colegiada-RDC nº.16, de 28 de Março 2000**. Disponível em <[http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP\[3266-1-0\].PDF](http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP[3266-1-0].PDF)>. Acesso: 20 mai, 2016.

BRASIL, ANVISA **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos leites desidratados– Portaria nº 369, de 1997**. Acesso: 20 mai, 2016

BRASIL, ANVISA.. **Resolução da Diretoria Colegiada-RDC nº.388, de 05 de Agosto 1999**. Acesso: 20 mai, 2016.

CAMPOS-VENTURA, B.; Marin-Morales, M.A. y Desk S. Micronuclei and chromosome aberrations derived from the action of Atrazine herbicide in Allium cepa meristematic cells. *SDRP J Earth Sci Environ Stu*. 1(1): s/n, 2016.

CARITÁ, R.; MARIN-MORALES, M.A. Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes. **Chemosphere, Oxford**, v.72, n.5, p.722-725, 2008.

CHAGAS, Luma Cipriano, Maria do Socorro Meireles de Deus, and Ana Paula Peron. "Análise preliminar da citotoxicidade dos aditivos alimentares urucum e cúrcuma." **Acta toxicol. argent** 22.2 (2014): 69-75

DE AQUINO, Rita de Cássia, and Sonia Tucunduva Philippi. "Consumo infantil de alimentos industrializados e renda familiar na cidade de São Paulo." **Rev Saúde Pública** 36.6 (2002): 655-60.

FERNANDES, T. C. C, MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, M. A. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *A. cepa* exposed to trifluralin herbicide. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego. v. 88, n. 3, p. 252-259, 2007

FERNANDES, Taciana Fernanda dos Santos, et al. "Hipovitaminose A em pré-escolares de creches públicas do Recife: indicadores bioquímico e dietético." **Rev. nutr** 18.4 (2005): 471-480.

GAONA, Rómulo Campos. "Modelagem da composição química do leite através de indicadores metabólicos em vacas leiteiras de alta produção." (2006).

GOMES, K. M. S.; OLIVEIRA, M. V. G.A.; CARVALHO, F. R. S.; MENEZES, C.C.; PERON, A. P. Citotoxicity of food dyes sunset yellow (E-110), bordeaux red (E-123), and tatzarine yellow (E-102) on *Allium cepa* L. root meristematic cells. **Food Sciences Technology**, 2013

GONZÁLEZ, Félix HD, J. W. Durr, and R. Fontanelli. "Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras." **Porto Alegre** 72 (2001).

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

HONORATO, T. C, BATISTA, E, NASCIMENTO, K. O, PIRES, T. Aditivos Alimentares: aplicações e toxicologia. **Revista Verde** (Mossoró – RN - BRASIL), v. 8, n. 5, p. 01 - 11,(Edição Especial) dezembro, 2013

Lacerda, L.P.; Malaquias, G. y Peron, A.P. *Antiproliferative action of aqueous extracts of Hymenaea stigonocarpa Mart. (Fabaceae) on the cell cycle of Allium cepa L.* **An Acad Bra Ciên.** 89(3): 1147-1150, 2014. Doi: 10.1590/0001-3765201420130163

LEME. D. M.; MARIN-MORALES, M. A. Chromosome aberration and micronuclei frequencies in *A. cepa* cells exposed to petroleum polluted water – a case study. **Mutation Research**. Amsterdam. v. 650, p. 80-86, 2008.

MOURA, A.G.; Santana, G.M.; Ferreira, P.M.P.; Sousa, J.M.C. y Peron AP. *Cytotoxicity of Cheese and Cheddar Cheese food flavorings on Allium cepa L root meristems.* **Braz J Biol.** 76(2): 439-443, 2016. Doi: 10.1590/6484.20514.

PINHA, Lucas Campio. "Poder de mercado nas exportações de leite em pó para o Brasil." (2014).

NEVES, E.S.; Ferreira, P.M.P.; Lima, L.H. y Peron, A.P. *Action of aqueous extracts of Phyllanthus niruri L.(Euphorbiaceae) leaves on meristematic root cells of Allium cepa L.* **An Acad Bras Ciên.** 86(3): 1131-1137, 2014. Doi: [10.12662/2317-3076jhbs.v1i1.14.p27.2013](https://doi.org/10.12662/2317-3076jhbs.v1i1.14.p27.2013)

POLÔNIO, Maria Lúcia Teixeira, and Frederico Peres. "Consumo de aditivos alimentares e efeitos à saúde: desafios para a saúde pública brasileira Food additive intake and health effects: public health challenges in Brazil." **Cad. Saúde Pública** 25.8 (2009): 1653-1666.

PFLANZER, S.B.; Cruz, A.G.D.; Hatanaka, C.L.; Mamede, P.L.; Cadena, R.; Faria, J.A.F. y Silva M.A.A.P.D. *Perfil sensorial e aceitação de bebida láctea achocolatada.* **Food Sci Technol.** 30(2):391-398, 2010. Doi: [10.1590/S0101-20612010000200016](https://doi.org/10.1590/S0101-20612010000200016)

QUEIROZ, F.M.D.; Matias, K.W.D.O.; Cunha, M.M.F.D. y Schwarz, A. *Evaluation of (anti) genotoxic activities of Phyllanthus niruri L. in rat bone marrow using the micronucleus test.* **Braz J Pharm Sci.** 49(1): 135-148, 2013. Doi: [10.1590/S1984-82502013000100015](https://doi.org/10.1590/S1984-82502013000100015)

SANTANA, G.M.; Deus, M.S.M.; Sousa, J.M.C.; Ferreira, P.M.P.; Fernandes, H.B. y Peron, A.P. *Antimitotic and antimutagenic action of the Hymenaea stigonocarpa bark on dividing cells.* **Braz J Biol.** 76(2): 520 – 525, 2016. Doi: [10.1111/1471-0307.12227](https://doi.org/10.1111/1471-0307.12227)

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

SCHUMANN, Simone Pinheiro Alves, Maria Lucia Teixeira Polônio, and E. C. B. A. Gonçalves. "Avaliação do consumo de corantes artificiais por lactentes, pré-escolares e escolares." **Ciênc Tecnol Aliment** 28.3 (2008): 534-9.

SIMÃO, Reis, J., MIYAGI, E., CHANDELIER, R., BERGAMASCO, A., LOBATO, V., & MOURA, C. (2002). Fabricação de derivados do leite como uma alternativa de renda ao produtor rural. **Boletim Agropecuário da Universidade Federal de Lavras, Lavras, 49**, 1-38.

SOUZA, L. V., de Souza Batista, C., de Souza Batista, C., Martins, M. L., Pinto, C. M. F., & de Oliveira Pinto, C. L. (2014). AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE LEITE UHT INTEGRAL PROCESSADO EM INDÚSTRIAS DO ESTADO DE MINAS GERAIS, BRASIL1. *Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável*, 4(2).

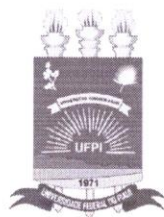
TABREZ, S.; Sahkil, S.; Urooj, M.; Damanhori, G.A.; Abuzenadah, A.M. y Ahmad D. *Genotoxicity testing and biomarker studies on surface water: an over view of the techniques and their efficacies.* **J Environ Sci Health** 29(3): 250-275, 2011. Doi: [10.1080/10590501.2011.601849](https://doi.org/10.1080/10590501.2011.601849).

TAFFAREL, L. E., Costa, P. B., de Oliveira, N. T. E., Braga, G. C., & Zonin, W. J. (2013). Total bacterial count of milk in different systems of milking and cooling. *Arquivos do Instituto Biológico*, 80(1), 07-11.

Türkoğlu, Ş. *Genotoxicity of five food preservatives tested on root tips of Allium cepa L.* **Mut Res.** 626: 4-14, 2007. Doi: 10.1016/j.mrgentox.2006.07.006 .

VALSECHI, Octávio Antônio. "Aditivos." *Tecnologia de produtos agrícolas de origem animal*. São Paulo: Universidade Federal de São Carlos (2001).

VALSECHI, Octávio Antônio. "O leite e seus derivados." *Tecnologia de Produtos Agrícolas de Origem Animal*. Araras (2001).



TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO DIGITAL NA BIBLIOTECA
“JOSÉ ALBANO DE MACEDO”

Identificação do Tipo de Documento

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

Eu, Rayssa Alécia Martins Moura
autorizo com base na Lei Federal nº 9.610 de 19 de Fevereiro de 1998 e na Lei nº 10.973 de 02 de dezembro de 2004, a biblioteca da Universidade Federal do Piauí a divulgar gratuitamente, sem ressarcimento de direitos autorais, o texto integral da publicação Citocidade e Efeito Mutagênico de Leites Integrais em Pó Utilizando Sistema Teste Vegetal de minha autoria, em formato PDF, para fins de leitura e/ou impressão, pela internet a título de divulgação da produção científica gerada pela Universidade.

Picos-PI 27 de Abril de 2017

Rayssa Alécia Martins Moura
Assinatura

Rayssa Alécia Martins Moura
Assinatura