



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

GÊYSA JANNE SOUSA E SILVA

**TOXIGENÉTICA DE LEITES INDUSTRIALIZADOS, TIPO EM PÓ, PARA
LACTENTES: *SCRENNING* DA CITOGENÉTICA**

PICOS

2017

GÊYSA JANNE SOUSA E SILVA

**TOXIGENÉTICA DE LEITES INDUSTRIALIZADOS, TIPO EM PÓ, PARA
LACTENTES: *SCREENING* DA CITOGENÉTICA**

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 Licenciada em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Paula Peron.

PICOS

2017

FICHA CATALOGRÁFICA

Serviço de Processamento Técnico da Universidade Federal do Piauí

Biblioteca José Albano de Macêdo

S586t Silva, Gêysa Janne Sousa e

Toxigenética de leites industrializados, tipo em pó, para lactentes:
Screening da citogenética / Gêysa Janne Sousa e Silva– 2017.

CD-ROM : il.; 4 ¾ pol. (30 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. Citotoxicidade. 2.Genotoxicidade em Células. 3.Leite em Pó-Toxigenética. I. Título.

CDD 581.4

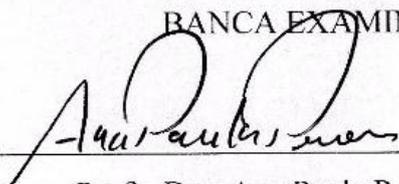
GÊYSA JANNE SOUSA E SILVA

**TOXIGENÉTICA DE LEITES INDUSTRIALIZADOS, TIPO EM PÓ, PARA
LACTENTES: SCRENNING DA CITOGENÉTICA**

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 Licenciada em Ciências Biológicas.

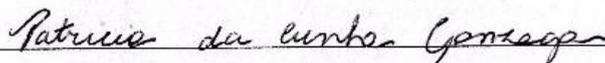
Monografia aprovada em 17 de fevereiro de 2017

BANCA EXAMINADORA



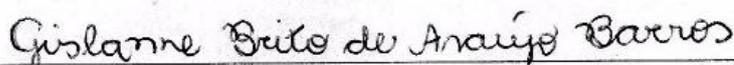
Profª. Dra. Ana Paula Peron (Orientadora)

Curso de Ciências Biológicas – UFPI



Profª. Me. Patrícia da Cunha Gonzaga (Examinadora)

Curso de Ciências Biológicas – UFPI



Profª. Dra. Gislanne Brito de Araújo Barros (Examinadora)

Curso de Ciências Biológicas – UFPI

A Deus, meus pais, amigos e mestres que me apoiaram e encorajaram durante toda a jornada acadêmica.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Jeová Deus por se fazer presente em minha vida me fornecendo força, determinação e tantas outras bênçãos que me ajudaram a superar os inúmeros desafios enfrentados durante essa longa jornada acadêmica.

Aos meus pais José Luis e Maria de Jesus, que não só neste momento, mas que em toda a minha vida estiveram ao meu lado ensinando valores, me apoiando amorosamente, e confiando em mim até quando eu mesma estava desacreditada, vocês são meus exemplos!

A toda a minha família, em especial minha avó Maria Luzia, e minhas tias Ildete, Lucília e Francisca, pois sempre foram pacientes, me apoiaram e deram conselhos oportunos nos momentos que eu mais precisei. Também ao meu irmão Luis Guilherme e ao meu primo Francisco Antonio, pelo carinho, amizade e cumplicidade de toda uma vida.

A minha querida orientadora Prof.^a Dr.^a Ana Paula Peron, por ser uma pessoa tão querida, acessível, e por ter acreditado no meu potencial. As grandes amigas de laboratório, em especial Fabelina, Maria Eduarda e Valtânia, que me ajudaram na produção deste trabalho e proporcionaram manhãs e tardes de alegria e risos. Aos mestres pela sábia instrução, pela paciência e pela amizade, em especial aos professores Juscelino Francisco do Nascimento, Patrícia da Cunha Gonzaga, Gislanne Brito de Araújo Barros e Maria do Socorro Meireles de Deus.

A todos os meus amigos de universidade e aos amigos que a vida me presenteou, especialmente Rodrigo, Maura, Ila Monize, Mirella e Luis Paulo, pois estiveram presentes nos momentos mais importantes da minha graduação, se mostraram amigos verdadeiros em momentos de dificuldade e fizeram dessa jornada um pouco mais leve e divertida.

E a todos os que não foram mencionados, mas que são pessoas especiais que me presentearam tanto com abraços como com palavras motivadoras e indiscutivelmente contribuíram para a realização desse sonho, meu muito **OBRIGADA!!!**

“Para tudo há um tempo determinado; há um tempo para toda atividade debaixo dos céus”.

(Eclesiastes 3:1)

RESUMO

Objetivou-se na presente pesquisa avaliar, em células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* L., o potencial citotóxico e genotóxico de leites industrializados, tipo em pó, de quatro marcas amplamente comercializadas no Brasil, denominadas nesse estudo de A, B, C e D. As concentrações avaliadas, nos tempos de exposição 24 e 48 horas, destes leites foram 0,075; 0,15 e 0,30 g/ml, onde a concentração 0,15 g/ml era a sugerida para consumo nas embalagens dos produtos lácteos avaliados. Ainda, os leites A, B e C eram para crianças lactentes, e D para crianças acima de seis meses de idade ou para crianças na primeira infância. Com base nos resultados obtidos, verificou-se que os leites das quatro marcas selecionadas para análise promoveram efeito antiproliferativo acentuado aos meristemas de raízes nos dois tempos de exposição considerados. No entanto, nenhuma das amostras analisadas causou alterações celulares em número significativo as células do bioensaio utilizado. Portanto, nas condições de estudo estabelecidas para esta pesquisa, os leites em pó avaliados foram citotóxicos, porém, não genotóxicos.

Palavras-chave: Leites Infantis. Ciclo Celular. Proliferação Celular. Tecido Meristemático.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the cytotoxic and genotoxic potential of industrialized milks, powder type, of four brands widely marketed in Brazil, named in this study of A, B, C and D. The concentrations evaluated at the 24 and 48 hour exposure times of these milks were 0.075; 0.15 and 0.30 g/ml, where the concentration 0.15 g/ml is suggested for consumption in the packaging of the dairy products evaluated. Also, milks A, B and C are for infants, and D for infants over six months of age. Based on the results obtained, it was verified that the milks of the four brands selected for analysis promoted an antiproliferative effect accentuated to the root meristems in the two exposure times considered. However, none of the analyzed samples caused significant cellular changes in the cells of the bioassay used. Therefore, in the study conditions established for this research, the powdered milks evaluated were cytotoxic, but not genotoxic.

Keywords: Infant Milk. Cell Cycle. Cell Proliferation. Meristematic Tissue.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 – Aditivos Alimentares de Fórmulas Infantis.....	14
Figura 1 – Bulbos de <i>Allium cepa</i> L. em frascos com água destilada.....	19
Tabela 1 - Número de células em cada fase do ciclo celular observado em tecido meristemático de raízes de <i>Allium cepa</i> exposto por 24 e 48 horas a fórmulas infantis de leite em pó, identificadas como A, B, C e D. As amostras de leite ou tratamentos foram avaliados nas concentrações 0,075; 0,15 e 0,30 g/ml. Em cada tratamento foram apresentados os valores significativos de χ^2	20

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	13
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	18
3.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS DE LEITE EM PÓ.....	18
3.2 DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE LEITE EM PÓ PARA AVALIAÇÃO.....	18
3.3 TESTE DE CITOTOXICIDADE E GENOTOXICIDADE EM CÉLULAS MERISTEMÁTICAS DE RAÍZES DE <i>ALLIUM CEPA</i>	18
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	20
5 CONCLUSÃO.....	24
REFERÊNCIAS	

1 INTRODUÇÃO

Os hábitos alimentares associados ao estilo de vida expõem o homem a fatores de risco para o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis. Dentre estes hábitos estão as dietas abundantemente constituídas por alimentos aditivados por microingredientes de ação conservante, corante, aromatizante, espessante, entre outros (MOURA et al., 2016; SALES et al., 2017). Destacam-se entre estes alimentos industrializados as fórmulas infantis de leites em pó para lactentes (até seis meses de idade) e crianças na primeira infância (acima de seis meses de idade), que são utilizados em casos específicos como substitutos parcial ou total ao leite materno humano (CYRILLO et al., 2009). Estes leites, apesar de ricamente constituídos por carboidratos, proteínas, lipídeos saturados, ácido linoleico, fibra alimentar, sais minerais e vitaminas, possuem em sua formulação compostos químicos das classes de aditivos aromatizante, regulador de acidez e espessante (BRASIL, 1993; BRASIL, 2001; ANVISA, 2009).

No Brasil, os alimentos lácteos para crianças são normatizados e autorizados para consumo e comercialização pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), por meio da Norma Brasileira de Comercialização de Alimentos para Lactentes e Crianças de primeira infância, instituída pela Portaria 2.051 de 8 de novembro de 2001 (BRASIL, 2001). Estes documentos foram confeccionados 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).

Porém, agências de segurança alimentar, como a *European Food Safety Authority* (EFSA), o *Codex Alimentarius* e a própria ANVISA, ressaltam que os aditivos, apesar de imprescindíveis para a fabricação de alimentos industrializados, despertam atualmente muitos questionamentos quanto aos seus potenciais efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos, uma vez que, estudos sobre a toxicidade em nível celular de tais compostos são poucos encontrados na literatura científica (BRASIL, 2007; XU et al., 2013; SALES et al., 2017). Ademais, profissionais da área de segurança alimentar alegam que os microingredientes em geral contribuem de forma significativa para o empobrecimento da dieta e para o desencadeamento ou potencialização de patologias, principalmente em crianças, como distúrbios no funcionamento do trato digestório e reações alérgicas (KONISHI et al., 2011; SALES et al., 2016).

Dessa forma, torna-se impreterível a realização de estudos que verifiquem os efeitos citotóxicos e genotóxicos de alimentos aditivados por microingredientes artificiais. Tais avaliações são relevantes para a promoção da segurança alimentar, uma vez que, segundo Zaineddin et al. (2012), o desenvolvimento dos tipos mais comuns de câncer resulta da interação entre fatores endógenos e ambientais, sendo o mais notável deles a dieta alimentar, principalmente quando constituída por alimentos industrializados em demasia. No entanto, não foram encontrados nas principais bases de dados de trabalhos científicos, estudos de avaliação de toxicidade de leites industrializados, tipo em pó, de forma geral.

Os bioensaios vegetais são considerados bastantes sensíveis e simples para o monitoramento dos efeitos citotóxicos de compostos químicos (TABREZ et al., 2011; CARVALHO et al., 2005; MOURA et al., 2016) e as células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* (cebola) têm sido indicadas como um eficiente organismo-teste para avaliação da toxicidade em nível celular (CARITÁ; MARIN-MORALES, 2008; SALES et al., 2016). Tal eficiência se dá em função de suas propriedades cinéticas de proliferação e de seus cromossomos grandes e em número reduzido ($2n=16$), o que facilita a análise na detecção de alterações de ciclo mitótico (HERRERO et al., 2012; NEVES et al., 2015). Este organismo de prova ainda possibilita a verificação de alterações no índice de divisão celular (índice mitótico), como aumento ou redução da proliferação das células dos meristemas de raízes expostos a compostos químicos de interesse (TABREZ et al., 2011; CARDOSO et al., 2014).

Salienta-se ainda que o sistema teste *A. cepa* é validado mundialmente por vários pesquisadores que concomitantemente ao sistema teste vegetal realizam testes em animais e em cultura de células, e observam, na maioria das vezes, semelhança entre resultados obtidos por meio destes diferentes bioensaios (CARITÁ; MARIN-MORALES, 2008; SALES et al., 2017). Dessa forma, os meristemas de raízes de *A. cepa* é um excelente parâmetro de análise da toxicidade em nível celular e pode ser usado como indicativo para prevenir a população humana sobre o consumo de produtos e/ou substâncias químicas (TABREZ et al., 2011; CARDOSO et al., 2014).

Portanto, considerando a carência de estudos sobre a toxicidade das fórmulas infantis de leites industrializados, teve-se como objetivo avaliar, em células meristemáticas de raízes de *A. cepa*, a citotoxicidade, com base nos valores de índice mitótico obtidos, e a genotoxicidade, por meio da frequência de alterações de fuso mitótico observadas, de leites de diferentes marcas para lactentes e para crianças na primeira infância.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

O leite é considerado um alimento primordial à dieta humana, estando também relacionado a uma alimentação saudável principalmente nos primeiros anos de vida da criança, visto que é uma fonte de nutrientes essenciais para o crescimento e desenvolvimento infantil (BUZZO, 2015). Deste modo, tanto a Organização Mundial de Saúde (OMS) como o Ministério da Saúde do Brasil destacam a importância do aleitamento materno, uma vez que este leite apresenta substâncias essenciais e em quantidades adequadas, que atendem as necessidades básicas do lactente (COSTA; SABARENSE, 2010) e conferem vantagens imunológicas que reduzem significativamente os índices de morbidade e mortalidade infantil (MACIEL et al, 2013; SILVA; MENDES, 2011).

Apesar de todo o beneficiamento proporcionado pela amamentação natural, o leite de vaca vem sendo frequentemente utilizado como uma alternativa de baixo custo em substituição ao leite materno (BUZZO, 2015). Contudo, o leite *in natura* é altamente perecível, sendo necessária a adoção de diferentes técnicas por meio da indústria alimentícia, para garantir sua conservação. O processo tecnológico de desidratação do leite bovino, cujo produto final é o leite em pó, tem sido o meio preferencial de conservação (COELHO et al, 2016), uma vez que aditivos alimentares são acrescentados ao leite (NICOLINI, 2008).

Segundo Albuquerque (2012), aditivos alimentares tratam-se de substâncias acrescentadas aos alimentos de forma intencional, com objetivo de alterar particularidades sensoriais, físicas, químicas ou biológicas do alimento, sem intenção de nutrir. Deste modo, todos os aditivos químicos introduzidos nos alimentos desempenham papéis característicos. Por exemplo, os emulsificantes são utilizados para melhorar a dispersão uniforme do produto; os estabilizantes e os espessantes têm capacidade de estabilizar emulsões e aumentar a viscosidade do produto; e os umectantes mantêm a umidade e maciez do alimento (LORENZONI, 2011). Assim sendo, nota-se que a maioria dos alimentos industrializados produzidos atualmente recebem aditivos químicos durante o processo de fabricação, ou seja, apresentam na sua composição uma abundância de micro ingredientes de ação conservante, corante, aromatizante, espessante, entre outros (MOURA et al., 2016; SALES et al., 2017), visando assim realçar características organolépticas e/ou a própria conservação destes alimentos (MARINI, 2016; FERREIRA, 2015).

Entre os alimentos lácteos industrializados destacam-se as fórmulas infantis, leites em pó para lactentes (até seis meses de idade) e crianças na primeira infância (acima de seis meses

de idade), utilizados em casos específicos como substitutos parciais ou totais ao leite materno humano (CYRILLO et al., 2009). Estes leites, apesar de ricamente constituídos por carboidratos, proteínas, lipídeos saturados, ácido linoleico, fibra alimentar, sais minerais e vitaminas, possuem em sua formulação compostos químicos das classes de aditivos aromatizantes, regulador de acidez e espessante (BRASIL, 1993; BRASIL, 2001; ANVISA, 2009), bem como emulsificantes, uma vez que a dificuldade de solubilidade é um problema comum em leites em pó (NICOLINI, 2008).

No Brasil, os alimentos lácteos para crianças são normatizados e autorizados para consumo e comercialização pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), por meio da Norma Brasileira de Comercialização de Alimentos para Lactentes e Crianças de primeira infância, instituída pela Portaria 2.051 de 8 de novembro de 2001 (BRASIL, 2001). Estes documentos foram confeccionados com base nas determinações do *Codex Alimentarius*, (PFLANZER et al., 2010). A Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 46, de 19 de setembro de 2011, estabelece os requisitos básicos que as fórmulas infantis devem atender quanto aos aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia produzidos e comercializados no Brasil e que são destinados aos lactentes e crianças na primeira infância, definindo também os limites máximos de tais aditivos e suas respectivas funções (BRASIL, 2011).

Deste modo, os aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia e seus limites para consumo estão destacados no quadro 01:

Quadro 1 – Aditivos Alimentares de Fórmulas Infantis.

Aditivos Alimentares	
Função / Aditivo	Limite máximo (g/100ml do produto pronto para consumo)
ACIDULANTE/ REGULADOR DE ACIDEZ	
Ácido láctico (L-, D- e DL-)	<i>quantum satis</i> em todos os tipos de fórmulas infantis
Ácido cítrico	<i>quantum satis</i> em todos os tipos de fórmulas infantis
Citratomonossódico	<i>quantum satis</i> em todos os tipos de fórmulas infantis, desde que atenda os limites estabelecidos para sódio.
Citratotriessódico, citrato de sódio	<i>quantum satis</i> em todos os tipos de fórmulas infantis, desde que atenda aos limites estabelecidos para sódio
Citratotripotássico, citrato de potássio	<i>quantum satis</i> em todos os tipos de fórmulas infantis, desde que atenda aos limites estabelecidos para potássio

Carbonato de sódio	0,2 em todos os tipos de fórmulas infantis, sozinhos ou em combinação e desde que a quantidade total adicionada atenda aos limites estabelecidos para sódio, potássio e cálcio
Bicarbonato de sódio, carbonato ácido de sódio	
Carbonato de potássio	
Bicarbonato de potássio, carbonato ácido de potássio, hidrogeno carbonato de potássio	
Hidróxido de sódio	
Hidróxido de potássio	
Hidróxido de cálcio	

ANTIOXIDANTE	
Ácido ascórbico (L-)	0,005 somente em fórmulas infantis de
Ascorbato de sódio	seguinte e em fórmulas infantis de seguimento para necessidades dietoterápicas específicas (sozinhos ou em combinação, expresso como ácido ascórbico)
Ascorbato de cálcio	
Palmitato de ascorbila	0,001 em todos os tipos de fórmulas infantis
Mistura concentrada de tocoferóis	0,001 para fórmulas infantis para lactentes, fórmulas infantis para lactentes com necessidades dietoterápicas específicas e (sozinho ou em combinação com INS 307) e 0,003 para fórmulas infantis de seguimento e fórmulas infantis de seguimento para necessidades dietoterápicas específicas (sozinho ou em combinação com INS 307)
Tocoferol, alfa-tocoferol	0,003 somente em fórmulas infantis de seguimento, fórmulas infantis de seguimento para necessidades dietoterápicas específicas (sozinho ou em combinação com INS 306)

AROMATIZANTES	
Somente pra fórmulas infantis de seguimento:	
Aromas naturais de frutas	<i>quantum satis</i>
Aroma natural de baunilha	<i>quantum satis</i>
Etil vanilina	0,005
Vanilina	0,005
EMULSIFICANTE	
Lecitinas	0,5 em todos os tipos de fórmulas infantis
Mono e diglicerídeos de ácidos graxos	0,4 em todos os tipos de fórmulas infantis
Ésteres de mono e diglicerídeos de ácidos graxos com ácidos cítricos	0,75 para fórmulas infantis em pó 0,9 para fórmulas infantis líquidas com proteínas hidrolisadas, peptídeos ou aminoácidos

ESPESSANTE	
Goma garrofina, goma caroba, goma alfarroba, goma jataí	0,1 em todos os tipos de fórmulas infantis
Goma guar	0,1 somente em fórmulas líquidas contendo proteína hidrolisada
Pectina, pectina amidada	1,0 somente em fórmulas infantis de seguimento e fórmulas infantis de seguimento para necessidades dietoterápicas específicas (Redação dada pela Resolução – RDC nº 49 de

COADJUVANTES DE TECNOLOGIA	
Função / Coadjuvante	Limite máximo
GASES PROPELENTES, GASES PARA EMBALAGENS	
Dióxido de carbono	<i>quantum satis</i>
Nitrogênio	<i>quantum satis</i>

FONTE: Anvisa, 2011.

É evidente que os aditivos químicos desempenham um papel fundamental na produção de alimentos em larga escala, todavia, sabe-se que não há substância química desprovida de toxicidade (HONORATO, 2013), e que os seres humanos estão cada vez mais expostos aos riscos toxicológicos desencadeados pela adição destes microingredientes (ROCHA; BARROS, 2012). É importante destacar que crianças na primeira infância, especialmente os lactentes, estão mais susceptíveis a reações adversas provocadas pela ingestão de aditivos alimentares que os adultos, uma vez que os lactentes ainda possuem imaturidade fisiológica, ou seja, ainda não são capazes de metabolizar e excretar tais substâncias de forma adequada, estimulando assim reações antagônicas indesejadas (FERREIRA, 2015).

Em vista disso, há necessidade de atenção aos possíveis riscos e danos toxicológicos que estão ligados ao consumo excessivo destas substâncias, pois diferentes pesquisas indicam que a ingestão frequente de aditivos alimentares pode ocasionar reações tóxicas de natureza aguda ou crônica, uma vez que podem desencadear processos alérgicos, o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), bem como alterações neurocomportamentais e, neoplasias em longo prazo (MARINI, 2016; FERREIRA, 2015; AZEVEDO et al, 2014).

Assim sendo, vários experimentos laboratoriais, conhecidos como bioensaios, vêm sendo realizados para obter-se uma melhor compreensão da ação tóxica de alguns compostos de forma isolada ou associada, e visam a obtenção de dados por meio de métodos padronizados que permitem tanto prever como avaliar efeitos toxicológicos em determinada espécie, variando a concentração ou dosagem da substância a ser testada (MOREIRA, 2014). Os testes de

viabilidade celular, também chamados de testes de citotoxicidade, são um dos parâmetros mais utilizados para avaliar a toxicidade de inúmeros produtos químicos. Desta maneira, é notável a eficiência da espécie *Allium cepa* como instrumento na identificação de distúrbios no ciclo celular - citotoxicidade, e/ou danos cromossômicos – genotoxicidade, visto que seus cromossomos oferecem condições pertinentes a esse tipo de estudo (MOREIRA, 2014; HARA, 2012).

O bioensaio *Allium cepa*, desenvolvido por Levan em 1938, e atualmente é reconhecido internacionalmente pelo Programa Internacional de Segurança Química (IPCS, OMS) e pelo Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP) (BAGATINI et al., 2007; CUCHIARA, 2012). Como já citado, esse teste é considerado eficaz para a determinação da ação citotóxica e genotóxica de produtos químicos e estruturas complexas, uma vez que apresenta elevada sensibilidade, rapidez, facilidade de manipulação e utilização de amostras sem tratamento prévio, indicando assim, a diminuição do índice mitótico e a formação de aberrações cromossômicas, além de apresentar baixo custo para sua execução (CUCHIARA, 2012; LEME; MARIN-MORALES, 2009).

Atualmente, muitos pesquisadores empregam amplamente este procedimento avaliativo por que o consideram como um teste eficiente e adequado para monitoramento e análise *in vivo* de alterações cromossômicas desencadeadas por inúmeras substâncias, uma vez que obtêm resultados similares quando realizados testes comparativos em animais *in vivo* (VICENTINI et al., 2001; TEIXEIRA et al., 2003). Tal eficiência se dá em função de suas propriedades cinéticas de proliferação e de seus cromossomos grandes e em número reduzido ($2n=16$), o que facilita a análise na detecção de alterações de ciclo mitótico (HERRERO et al., 2012; NEVES et al., 2015).

Neste bioteste, as raízes de *A. cepa* (cebola), com células meristemáticas em constante divisão mitótica, crescem diretamente em contato com a substância desejada, permitindo assim, a prévia observação de possíveis danos e alterações no material genético, bem como a identificação de efeitos tóxicos desencadeados ao longo do ciclo celular. Dessa forma, a utilização dos meristemas de *A. cepa* se trata de um método de análise da toxicidade em nível celular e pode ser usado como indicativo para prevenir a população humana sobre o consumo de produtos e/ou substâncias químicas (TABREZ et al., 2011; CARDOSO et al., 2014).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS DE LEITE EM PÓ

Os leites em pó de diferentes marcas de comercialização, denominadas neste estudo de A, B, C, D - foram adquiridas em farmácia localizada na cidade de Picos, Estado do Piauí, Brasil, em outubro de 2016. Teve-se o cuidado de verificar se tais alimentos estavam dentro do prazo de validade e se suas embalagens não estavam violadas e/ou danificadas. Os leites A, B e C avaliados são comercialmente indicados para crianças lactentes, e D, classificado como leite de segmento, para crianças na primeira infância.

3.2 DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE LEITE EM PÓ PARA AVALIAÇÃO

As amostras de leites estavam acondicionadas em embalagens que continham um total de 400 g do produto em pó. Para determinação das concentrações a serem analisadas quanto a toxicidade, utilizou-se como parâmetro a forma de preparo e ingestão indicada nos rótulos de cada produto. Assim, para os leites das quatro marcas comerciais consideradas sugeria-se ingerir 4,5 g de pó diluídos em 30 ml de água. Com base nesta informação, as concentrações definidas para análise dos leites foram 0,075; 0,15 e 0,30g/ml. Para o preparo das concentrações utilizou-se água destilada.

3.3 TESTE DE CITOTOXICIDADE E GENOTOXICIDADE EM CÉLULAS MERISTEMÁTICAS DE RAÍZES DE *ALLIUM CEPA*.

Inicialmente, os bulbos de cebola foram colocados em frascos aerados com água destilada, à temperatura ambiente ($\pm 27^{\circ}\text{C}$), até a obtenção de raízes de 2,0 cm de comprimento (**Figura 1**). 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 1 - Bulbos de *Allium cepa* L. em frascos com água destilada. Fonte: Sales, 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 diluído 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.

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. Foram observadas células em interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase. A partir desta análise determinouse o índice mitótico (IM) por meio da seguinte equação: (número total de células em mitose ÷ número total de células analisadas) x 100. O valor de IM foi parâmetro para a determinação do potencial citotóxico das amostras de leite em estudo.

Avaliou-se também o potencial genotóxico das concentrações de leite através da frequência de células micronucleadas, de metáfases colchícinicas, pontes anáfasicas e telofásicas, células com aderências, brotos nucleares e anáfases multipolares. A análise estatística dos dados foi realizada pelo teste do Qui-quadrado (χ^2), com nível de probabilidade <0.05 , por meio do software estatístico BioEstat 3.0 (AYRES, 2007).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos resultados apresentados na Tabela 1, verifica-se que os índices de divisão celular para os tempos de exposição 24 e 48 horas de todas as amostras de leite analisadas, quando confrontados aos índices mitóticos obtidos para seus respectivos controles, causaram inibição significativa da divisão celular nos meristemas de raízes. Ainda, para cada concentração de leite, os índices mitóticos observados para o tempo de análise 24 horas foram estatisticamente iguais aos seus específicos índices para o tempo de exposição 48 horas. A inibição drástica da divisão celular de todos produtos lácteos analisados caracteriza tais alimentos, nas condições de análises estabelecidas para esse estudo, como citotóxicos. Destaca-se que para todas as amostras de leite avaliadas a concentração tida como ideal pelos fabricantes, a de 0,15g/ml, foi citotóxica logo no menor tempo de análise considerado. Ressalta-se também que a citotoxicidade observada para todas as amostras de leite ocorreu logo na menor concentração analisada nos dois tempos de análises considerados.

Tabela 1 - Número de células em cada fase do ciclo celular observado em tecido meristemático de raízes de *Allium cepa* exposto por 24 e 48 horas a fórmulas infantis de leite em pó, identificadas como A, B, C e D. As amostras de leite ou tratamentos foram avaliados nas concentrações 0,075; 0,15 e 0,30 g/ml. Em cada tratamento foram apresentados os valores significativos de χ^2 .

LEITE A									
TR	Conc	TE	TCH	P	M	A	T	TCD	IM (%)
A	0,075 g/mL	CO	3528	410	352	367	343	1472	29,4
		24h	4915	26	21	30	85	85	1,7
		48h	4964	11	17	07	36	36	0,7
A	0,15 g/mL	CO	3378	502	401	418	301	1622	32,4
		24h	4945	22	31	01	01	55	1,1
		48h	4977	18	01	01	03	23	0,5
	0,30 g/mL	CO	3044	631	571	503	251	1956	39,1
		24h	4981	07	09	03	00	19	0,4
		48h	4988	11	00	00	01	12	0,2
LEITE B									
TR	Conc.	TE	TCH	P	M	A	T	TCD	IM (%)
	0,075 g/mL	CO	4102	204	292	178	224	898	17,9
		24h	4929	39	11	07	14	71	1,4
		48h	4975	13	09	03	00	25	0,5
B	0,15 g/mL	CO	3673	378	321	329	299	1327	26,5
		24h	4984	07	07	01	01	16	0,3
		48h	4986	11	02	01	00	14	0,3
	0,30 g/mL	CO	3600	401	394	327	278	1400	28,0
		24h	4989	00	11	00	00	11	0,2
		48h	4986	01	13	00	00	14	0,3

LEITE C									
TR	Conc.	TE	TCII	P	M	A	T	TCD	IM (%)
C	0,075 g/mL	CO	3401	507	391	402	299	1599	32,0
		24h	4962	11	11	07	09	38	0,8
		48h	4986	04	00	00	10	14	0,3
	0,15 g/mL	CO	3293	494	522	493	198	1707	34,1
		24h	4966	19	04	11	00	34	0,7
		48h	4989	07	01	01	01	11	0,2
	0,30 g/mL	CO	3602	394	402	401	201	1398	27,9
		24h	4989	07	04	00	00	11	0,2
		48h	4987	09	00	00	04	13	0,3
LEITE D									
TR	Conc.	TE	TCII	P	M	A	T	TCD	IM (%)
D	0,075 g/mL	CO	3045	639	591	423	302	1955	39,1
		24h	4927	34	21	11	07	73	1,5
		48h	4970	09	13	01	07	30	0,6
	0,15 g/mL	CO	3503	417	481	01	298	1497	29,9
		24h	4937	19	29	14	01	63	1,3
		48h	4981	04	13	01	01	19	0,4
	0,30 g/mL	CO	3623	407	391	390	189	1377	27,5
		24h	4980	13	07	00	00	20	0,4
		48h	4984	03	09	01	04	16	0,3

TCII – Total de células em interfase e indiferenciadas; TE – Tempo de Exposição; CO – Controle; IM – Índice Mitótico; TCD – Total de células em divisão; TCA – Total de Alterações Celulares; 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%.

Não foram verificadas alterações de fuso mitótico e micronúcleos nos tecidos meristemáticos utilizados como bioensaios. Esta condição corrobora aos dados apresentados na tabela 1, uma vez que, a inibição da divisão celular observada para todo os leites testados reduziu significativamente o número de células. Ainda, pode-se explicar tal situação baseado no fato de que tecidos de funcionamento normal, como os meristemas de raízes aqui utilizados, quando expostos a compostos que alteram mecanismos celulares vitais, como a duplicação do DNA e a síntese proteica, têm sua divisão celular significativamente comprometida (VALAVANIDIS et al., 2013; ZILIFDAR et al., 2014). É importante mencionar que esta condição quando presentes em tecidos animais podem potencializar ou desencadear processos cancerosos (QUEIROZ et al., 2015).

Conforme mencionado previamente, três são as classes de microingredientes presentes nas formulações dos leites em pó para lactentes e crianças acima de seis meses (ANVISA, 2009). Dentre estes compostos encontra-se os aromatizantes, aditivos responsáveis em proporcionar e/ou manter o aroma e sabor de alimentos industrializados (OYELAKIN et al., 2015; SALES et al., 2017). Em leites em pó para crianças somente os aromatizantes sintéticos

de frutas e baunilha, em baixas concentrações, são permitidos pela legislação brasileira (ANVISA, 2001; 2009).

Apesar de serem poucos os estudos sobre a toxicidade em nível celular de microingredientes aromatizantes, são encontrados na literatura científica trabalhos que demonstraram citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade de alguns dos constituintes químicos que fazem parte, de acordo com Resolução RDC nº 2 de 15 de janeiro de 2007 (BRASIL, 2007), da formulação dos aditivos de aroma e sabor em geral. Entre estes compostos está o álcool benzoico, compostos responsável por facilitar a incorporação e dispersão dos aromas nos produtos alimentícios. Demir et al. (2010) verificaram que este álcool promoveu danos significativos ao fuso mitótico, e, conseqüentemente, a divisão celular de células de sangue periférico humano.

Outro composto encontrado em aromatizantes é o diacetil (2,3-butadiona), que tem por função fixar o aroma e sabor nos alimentos industrializados (ANVISA, 2009). Ademais, Whittaker et al. (2008) avaliaram o potencial mutagênico deste composto químico em ensaio de mutação gênica utilizando células de linfoma de rato, linhagem L5178Y, e verificaram que o diacetil causou danos significativos a loci do cromossomo 11 destas células. Também ocasionou a perda funcional do locus da enzima timidina-quinase nestes animais. More et al. (2012) verificaram que altas concentrações de diacetil são mutagênicas e têm o potencial de substituir bases de timinas por guaninas. Esta mudança tem a propriedade de romper as pontes de hidrogênio e de dissulfeto da estrutura terciária de proteínas, como as das envolvidas na divisão celular. Uma vez a estrutura terciária desfeita a proteína perde função. Em relação aos aromatizantes de frutas e baunilha, Sales et al. (2016) e Sales et al. (2017) avaliaram a toxicidade destes aditivos em células meristemáticas de raízes de *A. cepa* e verificaram que tais compostos foram significativamente citotóxicos e genotóxicos aos meristemas de raízes.

Em relação aos espessantes - aditivos que mantêm ou aumentam a textura e a consistência, bem como, estabilizam as proteínas e vitaminas dos alimentos industrializados autorizados para uso em leites para crianças, de acordo com as normas da Anvisa (2009), encontra-se a goma guar, goma alfarroba, goma caroba, goma garrofina, goma jataí, pectina e amino pectina. Estudos de avaliação de toxicidade mostraram que a goma guar (TAKAHASHI et al., 1994; KOUJITARI et al., 1997; KAPPOR et al., 2009), a goma alfarroba (MEUNIER et al., 2014) e a pectina (KANG et al., 2006; KHOTIMCHENKO, 2010) não foram citotóxicas aos sistemas testes aos quais foram testadas. Para os outros espessantes mencionados não foram encontrados trabalhos de avaliação de toxicidade em nível celular.

De acordo com a Anvisa (2009), os reguladores de acidez – microngredientes que controlam a acidez e os níveis de alcalinidade em alimentos – permitidos para uso em fórmulas de leites infantis são os citratosmonossódico, trissódico, potássio e tripotássio, os hidróxidos de potássio, cálcio, sódio, o bicarbonato de potássio, o carbonato de sódio e o ácido cítrico. Não foram encontrados estudos de avaliação de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade de espessantes para alimentos.

Portanto, a partir dos resultados obtidos neste trabalho, verifica-se que, apesar destes leites serem autorizados para consumo por diferentes agências de segurança alimentar, há necessidade de estudos mais detalhados, a médio e longo prazo, em diferentes sistemas teste, como em animais e cultura de células, e tempos de exposição, sobre eles, assim como, dos aditivos presentes em suas composições.

5 CONCLUSÃO

As amostras de leites para crianças avaliadas no presente estudo foram citotóxicas as células meristemáticas de raízes de *A. cepa* nos dois tempos de exposição considerados. No entanto, nenhuma amostra de leites avaliada foi genotóxica.

REFERÊNCIAS

AYRES, M. et al. **BioEstat 5.0** - Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Bio-Médicas. Sociedade Civil Mamirauá, Belém, CNPq: Brasília, 2007.

AZEVEDO, E. C. C. et al. Dietary risk patterns for non-communicable chronic diseases and their association with body fat – a systematic review. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 19, n. 5, p. 1447-1458, 2014.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Resolução da diretoria colegiada RDC nº. 46, de 11 de Setembro de 2011**. Brasília, 2011. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2968724/RDC_46_2011_COMP.pdf/385171c0-a751-4d98-b29b-479d6c514ecb>. Acessado em: 01/02/ 2017.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Consolidação da CP n. 98/2009**. Brasília, 2009. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/393267/Modificacoes_CP_98_Formula_infantil.pdf/60e5c767-a01f-41bd-ad51-799d450f0f57. Acessado em: 03/02/2017.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Resolução da diretoria colegiada RDC nº. 05, de 15 de Janeiro de 2007**. Brasília, 2007. Disponível em:<http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2007/rdc/02_170107rdc.pdf>. Acessado em: 03/12/ 2016.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Norma brasileira de comercialização de: alimentos para lactentes e crianças de primeira infância, bicos, chupetas e mamadeiras**. Brasília, 2001. Disponível em: http://www.aleitamento.com/upload%5Carquivos%5Carquivo1_203.pdf. Acessado em: 03/02/2017.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Legislação e embalagem para leite**. Brasília, 1993. Disponível em: <http://www.ital.sp.gov.br/tecnolat/arquivos/palestras_tecnolactea/dra_patricia.pdf>. Acessado em: 03/02/2017.

BAGATINI, M. D.; SILVA, A. C. F.; TEDESCO, S. B. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. 17(3): 444-447, 2007

BUZZO, M. L. et al. Sodium contents in the processed milk consumed in Brazil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. [S. l.], v. 74, n. 1, p. 12-20, 2015.

CARDOSO, G. H. S.; DANTAS, E. B. S.; SOUSA, F. R. C.; PERON, A. P. Cytotoxicity of aqueous extracts of *Rosmarinus officinalis* L.(Labiatae) in plant test system. **Brazilian Journal Biology**. v. 74, n. 4, p. 886-889, 2014. DOI: 10.1590/1519-6984.07313

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 azodyes. **Chemosphere**, Oxford, v.72, n.5, p.722-725, 2008.

- CARVALHO, P. R.; Aditivos dos Alimentos. **Revista Logos**, São Paulo, n. 12, pp. 57-69, 2005.
- COELHO, K. O. et al. Somatic cells level on the physicochemical profile of powdered milk. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 17, n. 4, p. 534-539, 2016.
- COSTA, A. G. V.; SABARENSE, C. M. Modulation and composition of fatty acids in human milk. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 23, n. 3, p. 445-457, 2010.
- CUCHIARA, C. C.; BORGES, C. S.; BOBROWSKI, V. L. Sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador da citogenotoxicidade de cursos d'água. **Revista Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 6, n. 1, p. 33-38, 2012.
- CYRILLO, D. C. et al. Duas décadas da Norma Brasileira de Comercialização de Alimentos para Lactentes: há motivos para comemorar? **Pan American Journal of Public Health**, v. 25, n. 2, p. 134-140, 2009.
- DEMIR, E.; KOCAOGLU, S.; KAYA, R. Assessment genotoxic effects of benzyl derivatives by comet assay. **Food and Chemical Toxicology**. v.48, p.1239-1242 2010. DOI: 10.1016/j.fct.2010.02.016.
- FERREIRA, F. S. Aditivos alimentares e suas reações adversas no consumo Infantil. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, Três Corações, v. 13, n. 1, p. 397-407, 2015.
- GUERRA, M.; SOUZA, M.J. **Como observar os cromossomos**: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. Ribeirão Preto, SP, FUNPEC, 2002.
- HARA, R. V. **Avaliação da genotoxicidade e mutagenicidade das águas dos rios jaguari, atibaia e piracicaba, na região de influência da refinaria de Paulínia – SP**. Dissertação. 2012. 170f. Dissertação. Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista. Rio Claro, 2012.
- HERRERO, O. et al. Toxicological evaluation of three contaminant of emerging concern by use of *Allium cepa* test. **Mutation Research**, [S. l.], v. 743, ed. 1-2, p. 24-34, 2012. Doi: 10.1016/j.mrgentox.2011.12.028
- HONORATO, T. C. et al. Food additives: applications and toxicology. **Revista Verde (Mossoró – RN - BRASIL)**, v. 8, n. 5, p. 01 - 11, 2013.
- KANG, H. J. et al. Antioxidant and cancer cell proliferation inhibition effect of citrus pectin oligosaccharide prepared by irradiation. **Journal of Medicinal Food**, [S. l.], v. 9, n. 3, p. 313-320, 2006.
- KAPOOR, M. P.; JUNEJA, L. R. Partially hydrolyzed guar gum dietary fiber. In: **Fiber Ingredients**: food applications and health benefits. CRC Press, 2009. p. 79-120.
- KHOTIMCHENKO, Y. S. The antitumor properties of nons tarch polysaccharides: carrageenans, alginates, and pectins. **Russian Journal of Marine Biology**, [S. l.], v. 36, n. 6, p. 401-412, 2010.
- KONISHI, Y.; HAYASHI, S. M.; FUKUSHIMA, S. Regulatory forum opinion piece*: supporting the need for international harmonization of safety assessments for food flavoring substance. **Toxicologic Pathology**. 2011;42:949-53. DOI: 10.1177/0192623313495603

KOUJITANI, T. et al. Absence of detectable toxicity in rats fed partially hydrolyzed guar gum (K-13) for 13 weeks. **International Journal of Toxicology**, [S. l.], v. 16, n. 6, p. 611623, 1997.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research**, v. 682, n. 1, p. 71–81, 2009.

LORENZONI, A. S. G. **Aditivos presentes em alimentos para o público infantil comercializados no Brasil**. 2011. 32f. Trabalho Acadêmico. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2011.

MACIEL, A. P. P. et al. Conocimiento de embarazadas y lactantes sobre lactancia materna exclusiva. **Revista Brasileira em Promoção da Saúde**, Fortaleza, v. 26, n. 3, p. 311317, 2013.

MARINI, B. L. V.; FUMAGALLI, F. O aumento no consumo de aditivos alimentares: malefícios do corante caramelo IV para o consumo humano e sua alta concentração em bebidas com cola no Brasil. **Revista Conexão Eletrônica**, Três Lagoas, v. 13, n. 1, p. 1-9, 2016.

MEUNIER, L. et al. Locust bean gum safety in neonate and young infants: an integrated review of the toxicological database and clinical evidence. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, [S. l.], v. 70, n. 1, p. 155-169, 2014.

MORE, S.S.; et al. The butter flavorant, diacetyl, forms a covalent adduct with 2deoxyguanosine, uncoils DNA, and leads to cell death. **J. Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 2012; 60:3311-17. DOI: 10.1021/jf300180e.

MOREIRA, T. C. et al. Avaliação da toxicidade e da genotoxicidade da ivermectina e da deltametrina através de bioensaio com *Allium cepa*. **Revista Científica da Faminas**, v. 9, n. 1, 2014.

MOURA, A. G. et al. Cytotoxicity of Cheese and Cheddar Cheese food flavorings on *Allium cepa* L. root meristems. **Brazilian Journal of Biology**, [S. l.], v. 76, n. 2, p. 439-443, 2016. Doi: 10.1590/6484.20514

NEVES, E.S. et al. Action of aqueous extracts of *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae) leaves on meristematic root cells of *Allium cepa* L. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, [S. l.], v. 86, n. 3, p. 1131-1137, 2014. Doi: [10.12662/2317-3076jhbs.v1i1.14.p27.2013](https://doi.org/10.12662/2317-3076jhbs.v1i1.14.p27.2013)

NICOLINI, C. **Leite em pó**. 2008. 50f. Trabalho acadêmico. Bacharel em Química de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

OYELAKIN, O. et al. An investigation of the health hazards of some of the chemical content of powdered juice sold in the Gambia. **African Journal of Chemical Education**, [S. l.], v. 5, n. 1, p. 2-12, 2015.

PFLANZER, S. B. et al. Perfil sensorial e aceitação de bebida láctea achocolatada. **Food Science and Technology**, [S. l.], v. 30, n. 2, p. 391-398, 2010. Doi: [10.1590/S010120612010000200016](https://doi.org/10.1590/S010120612010000200016)

QUEIROZ, F.M. D. et al. Evaluation of (anti) genotoxic activities of *Phyllanthus niruri* L. in rat bone marrow using the micronucleus test. **Brazilian Journal Pharmaceutical Sciences**, [S. l.], v. 49, n. 1, p. 135-148, 2013. Doi: 10.1590/S1984-82502013000100015.

ROCHA, A. F.; BARROS, T. S. **Os Corantes Azóicos na Indústria Alimentícia e Seus Riscos a Saúde**. 2012, 28f. Trabalho Acadêmico. Universidade Federal do Piauí, Picos, 2012.

SALES, I. M. S.; et al. Toxicity at the cellular level of artificial synthetic flavorings. **Acta Scientiarum. Biological Sciences (Online)**, v. 38, p. 297-303, 2016

SALES, I. M. S. et al. Acute Toxicity of Grape, Plum and Orange Synthetic Food Flavourings Evaluated *in vivo* Test Systems. **Food Technology and Biotechnology**, Zagreb, v. 55, n. 551, 2017.

SILVA, L. S.; MENDES, F. C. Reasons for early weaning: a qualitative research. **Revista Baiana de Enfermagem**, Salvador, v. 25, n. 3, p. 259-267, 2011.

TABREZ, S.; et al. Genotoxicity testing and biomarker studies on surface water: an over view of the techniques and their efficacies. **Journal of Environmental Science and Health**, [S. l.], v. 29, n. 3, p. 250-275, 2011. DOI: 10.1080/10590501.2011.601849.

TAKAHASHI, H. et al. Toxicity studies of partially hydrolyzed guar gum. **Journal of the American College of Toxicology**, [S. l.], v. 13, n. 4, p. 273-278, 1994.

TEIXEIRA, R. O.; et al. Assessment of two medicinal plants, *Psidium guajava* L. and *Achillea millefolium* L., in *in vitro* and *in vivo* assays. **Genetics and Molecular Biology**, v. 26, n. 4, p. 551-555, 2003.

VALAVANIDIS, A.; et al. Pulmonary Oxidative Stress, Inflammation and Cancer: Respirable Particulate Matter, Fibrous Dusts and Ozone as Major Causes of Lung Carcinogenesis through Reactive Oxygen Species Mechanisms. **International Journal of Environmental Reserarsh and Public Health**. v. 10, n. 9, p. 3886-3907, 2013. Doi:10.3390/ijerph10093886.

VICENTINI, V. E. P. et al. *Averrhoa carambola* L., *Syzygium cumini* L. Skeels and *Cissampelos* L.: medicinal herbal tea effects on vegetal and test systems. **Acta Scientiarum**, v. 23, p. 593-598, 2001.

XU, Z.; GU, C.; WANG, K.; JU, J.; WANG, H.; RUAN, K.; FENG, Y. Arctigenic acid, the key substance responsible for the hypoglycemic activity of *Fructus Arctii*. **Phytomedicine**.v. 22, p.128-137, 2015. DOI: 10.1016/j.phymed.2014.11.006

ZAINEDDIN, A. K.; BUCK, K.; VRIELING, A.; HEINZ, J.; FLESCHE-JANYS, D.; LINSEISEN, J.; CHANG-CLAUDE, J. The Association Between Dietary Lignans, Phytoestrogen-Rich Foods, and Fiber Intake and Postmenopausal Breast Cancer Risk: A German Case-Control Study. **Nutrition and Cancer**.v. 64, n. 5, 2012.

ZILIFDAR, F.; et al. Genotoxic potentials and eukaryotic DNA topoisomerase I inhibitory effects of some benzoxazine derivatives. **Medicinal Chemistry Research**., v. 23, Issue 1, p. 480-486, 2014.



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

Identificação do Tipo de Documento

- () Tese
() Dissertação
 Monografia
() Artigo

Eu, Crêusa Fátima Sousa e Silva,
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
Toxicometria de leites industrializados, tipo em pó, pa-
ra lactentes: Screening da citogenética
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 30 de Julho de 2017.

Crêusa Fátima Sousa e Silva
Assinatura

Crêusa Fátima Sousa e Silva
Assinatura