

AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE CARCINOGENICA DE TRÊS MARCAS COMERCIAIS DE LEITES INDUSTRIALIZADOS, PELO TESTE PARA DETECÇÃO DE TUMOR EPITELIAL EM *Drosophila melanogaster*

Nicolly Andrezza de Macedo Rocha¹

Francielle Aparecida de Sousa²

Cássio Resende de Moraes³

RESUMO: O leite é um alimento de alto valor nutritivo, fonte de proteínas, carboidratos, lipídios, vitaminas e sais minerais. No Brasil é uma constante preocupação de técnicos e autoridades ligadas às áreas de saúde e de laticínios, pois se sabe das possibilidades de fraudes na cadeia produtiva do leite, por meio da adição de compostos químicos, tais como peróxido de hidrogênio, formol e soda cáustica, podendo resultar em alterações de composição durante a industrialização, que podem ser prejudiciais ao organismo exposto. Tendo em vista o importante papel que o leite assume na alimentação humana, objetiva-se com este trabalho avaliar a capacidade carcinogênica de três marcas comerciais de leites industrializados, pelo Teste para Detecção de Tumor Epitelial em *Drosophila melanogaster*. Para avaliar o efeito de leites industrializados, larvas de 3º estágio descendentes do cruzamento entre fêmeas virgens *wts/TM3, sb¹* e machos *mwh/mwh* foram tratadas com leite obtido de três marcas comerciais (LT 1, LT2 e LT3) em diferentes concentrações (100% e 50%). A toxicidade foi mensurada por meio da taxa de moscas que sobreviveram a etapa de metamorfose após exposição. Os resultados revelaram efeito tóxico do leite LT3 na concentração de 100%. Não foi evidenciado efeito carcinogênico em nenhuma das concentrações testadas e em nenhuma das marcas comerciais de leite avaliadas.

PALAVRAS-CHAVE: Leite; toxicidade; câncer.

ASSESSMENT OF THE CARCINOGENIC CAPACITY OF THREE TRADEMARKS OF INDUSTRIALIZED MILK, BY THE TEST FOR DETECTION OF EPITHELIAL TUMOR IN *Drosophila melanogaster*

ABSTRACT: Milk is a food of high nutritional value, source of protein, carbohydrates, lipids, vitamins and minerals. In Brazil, it is a constant concern of technicians and authorities related to the health and dairy areas, as it is known about the possibilities of fraud in the milk production chain, through the addition of chemical compounds such as hydrogen peroxide, formaldehyde and caustic soda, and may result in changes in composition during industrialization, which may be harmful to the exposed organism. In view of the important role that milk plays in human nutrition, the aim of this work is to evaluate the carcinogenic capacity of three commercial brands of industrialized milks by the Epithelial Tumor Detection

¹ Licenciada em Ciências Biológicas pela Fundação Carmelitana Mário Palmério – FUCAMP.

² Mestre em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos pela Universidade de Uberaba – UNIUBE.

³ Mestre em Genética e Bioquímica pela Universidade Federal de Uberlândia – UFU.

Test in *Drosophila melanogaster*. In order to evaluate the effect of industrialized milks, descending 3rd stage larvae of the cross between virgin *wts* / TM3, *sb*¹ and *mwh/mwh* males were treated with milk obtained by the brands (LT1, LT2 and LT3) in different concentrations (100% and 50%). Toxicity was measured by the rate of flies that survived the metamorphosis stage after exposure. The results showed a toxic effect of LT3 milk at 100% concentration. No carcinogenic effect was demonstrated at any of the concentrations tested and in any of the milk trademarks evaluated.

KEYWORDS: Milk; Toxicity; Cancer.

1. INTRODUÇÃO

O agronegócio brasileiro tem favorecido o crescimento do Produto Interno Bruto (PIB) do país, sendo este, um dos grandes indicadores de crescimento econômico. É incontestável a importância da pecuária do leite no desempenho econômico e na geração de empregos no Brasil. Conforme descrito por Mezzadr (2014) e dados previstos pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), a União Europeia foi o maior produtor de leite em 2015, a Índia encontra-se em segundo lugar, os Estados Unidos na terceira posição, China em quarto lugar e Brasil situa-se na quinta posição com 33,3 bilhões de litros produzidos.

O leite é um alimento de alto valor nutritivo, fonte de proteínas, carboidratos, lipídios, vitaminas e sais minerais. Contém em torno de 87,6% de água, 12,4% de sólidos totais, 4,52% de lactose, 3,61% de gordura e 3,28% de proteínas. A caseína é a principal proteína do leite, enquanto a lactose é o açúcar característico e o sólido predominante (ALMEIDA, 2013). Em relação ao aspecto e cor, o leite é um líquido branco, opalescente e homogêneo. Ele possui sabor e odor característicos, e deve ser isento de sabores e odores estranhos (BRASIL, 2011). Além de fonte destes nutrientes, o leite também é um excelente meio para o crescimento de vários grupos de microrganismos desejáveis e indesejáveis (SOUZA *et al.*, 1995).

Quanto às características organolépticas, o leite fresco possui um sabor levemente adocicado e agradável, devido essencialmente à alta quantidade de lactose, somado as proteínas insípidas e o teor de gordura que o torna mais saboroso. Possui odor suave, levemente ácido, que pode ser influenciado pelo meio ambiente, utensílios que entram em contato com o mesmo e microrganismos (VENTURINI *et al.*, 2007).

A coleta de leite com qualidade depende de procedimentos adequados de manejo, temperatura e local de armazenagem, transportes e outros, em resumo, das boas práticas na

obtenção do leite, que podem influenciar na composição físico-química, microbiológica e celular.

Para diminuir a carga microbiana indesejável do leite, usa-se o processo de ultrapasteurização – Sistema *Ultra High Temperature* (UHT). Tal técnica consiste em submeter o leite a elevadas temperaturas de 130°C a 150°C, por 2 a 4 segundos e imediatamente resfriado, destruindo todos os microrganismos. Já na pasteurização, a temperatura do processo é mais baixa: de 72°C a 76°C, e o tempo, menor, de 15 a 20 segundos. E é também resfriado em seguida, reduzindo o número total de bactérias, principalmente as patogênicas. As formas esporuladas e as toxinas não são eliminadas (Valsechi, 2001).

Após a pasteurização do leite, muitas empresas optam pela conservação por meio de conservantes, o que permite o aumento de vida útil do produto fabricado. Portanto, sabe-se que a qualidade do leite consumido no Brasil é uma constante preocupação de técnicos e autoridades ligadas às áreas de saúde e de laticínios, pois se sabe das possibilidades de fraudes na cadeia produtiva do leite, por meio da adição destes compostos químicos, tais como peróxido de hidrogênio, formol e soda cáustica, podendo resultar em alterações de composição durante a industrialização, que podem ser prejudiciais ao organismo exposto. Exemplo disso, Corrêa et al., (2015), relataram que o formol é carcinogênico e a água oxigenada pode ser tóxica e pode provocar alergia à mucosa.

Há algumas décadas, o estudo da genética tornou-se essencial para compreender a fisiopatogenia de doenças, visto que os conhecimentos genéticos fornecem base para a compreensão das funções biológicas celulares do organismo, controladas a partir da expressão de genes codificadores de proteínas e enzimas funcionais e para a compreensão da ação de produtos gênicos (Louro et al., 2002).

Por não ser uma molécula estática, o DNA de um organismo frequentemente apresenta suas bases expostas a agentes naturais ou artificiais, que provocam modificações na sua estrutura ou composição química. Essas lesões podem ser induzidas por agentes químicos, físicos ou biológicos que são prejudiciais às células, uma vez que afetam processos vitais como a duplicação e a transcrição gênica. As alterações podem também causar mutações e aberrações cromossômicas, fenômenos esses que podem levar a processos cancerosos e morte celular (Costa e Menk, 2000).

Neste sentido o uso de organismos modelo como ferramenta na detecção de potenciais carcinógenos pode oferecer valiosa informação sobre os efeitos proporcionados pela exposição a longo prazo a substâncias simples e misturas complexas (MORAIS et al., 2016).

Drosophila melanogaster é um inseto da ordem Diptera muito bem caracterizada morfológica e geneticamente. Possui prole numerosa, ciclo de vida curto, baixo custo e é de fácil manutenção em laboratório. Muitas propriedades biológicas, fisiológicas e neurológicas básicas são conservadas entre mamíferos e *D. melanogaster*. Aproximadamente 75% dos genes relacionados às doenças humanas possuem homólogos funcionais em *D. melanogaster*, o que tem conferido formidáveis vantagens quanto ao uso deste organismo como modelo experimental (GRAF et al., 1996; JENNINGS, 2011).

Nos últimos anos um número crescente de trabalhos voltados ao rastreio de potenciais carcinógenos têm sido observado, em especial por meio do Teste para Detecção de tumor epitelial em *D. melanogaster* (teste wts). O teste wts faz uso de uma linhagem de *D. melanogaster* que apresenta o gene supressor de tumor *warts*, que é homólogo ao gene humano LATS1, sendo este associado ao surgimento de tumores ovarianos e sarcomas em tecidos moles, quando expresso na condição alterada (NISHIYAMA et al., 1999).

Nesse sentido a perda da heterozigose do marcador wts leva a proliferação descontrolada de células com capacidade cancerígena.

Tendo em vista o importante papel que o leite assume na alimentação humana, objetiva-se com este trabalho avaliar a capacidade carcinogênica de três marcas comerciais de leites industrializados, pelo Teste para detecção de tumor epitelial em *Drosophila melanogaster*.

Rastrear os efeitos de possíveis conservantes no leite é de suma importância como princípio preventiva a doenças associadas a instabilidade genética.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Agentes químicos

Neste trabalho foram utilizados três marcas de leites industrializados, Cemil® (LT1), Piracanjuba® (LT2) e Quatá® (LT3). Quatá® (Lote: CBA569) foi produzido pela empresa Nova Mix Industrial e Comercial de Alimentos, LTDA, Usina de Beneficiamento, Campo Belo, Minas gerais Brasil. Cemil® (Lote: KMO1 L919) foi fabricado por Entrepasto Usina Cooperativa Central Mineira de Laticínios, Patos de Minas, Minas Gerais, Brasil.

ROCHA, N. A. M.; SOUSA, F. A.; MORAIS, C. S.

Piracanjuba® (Lote01:49B09) pelo Laticínio Bela Vista LTDA, Usina de Beneficiamento, Bela Vista, Minas Gerais, Brasil.

Mitomicina C (CAS 50-07-7) na formulação em pó liofilizado foi fabricado por Kyowa Hakko Kirin Co. Ltda. Shizuoka (Japão), embalado por Bristol-Myers Squibb S.r.l. Sermoneta-Latina-Itália e importado por Bristol-Myers Squibb Farmacêutica S.A.

2.2 Linhagens de estoque, cruzamento e tratamento.

Para a realização do teste foi utilizado duas linhagens de *Drosophila melanogaster*:

1) Linhagem “*multiple wing hairs*” (*mwh*) com constituição genética *y; mwh jv*. O marcador *mwh* é um gene recessivo mantido em homozigose na linhagem *mwh*, localizado no braço esquerdo do cromossomo 3, em uma região mais distal em relação ao centrômero (3-0,3).

2) Linhagem *Warts* (*wts/TM3, Sb¹*) com constituição genética: ST [1] in [1] *kni* [ri-1] p [p] *wts* [3-17]/TM3,S B [1]. O marcador *wts* é mantido em função de um balanceador cromossômico, que por sua vez expressa fenótipo de pelos no corpo da mosca em tamanho curto e formato espesso, o que difere do fenótipo selvagem (pelos longos e finos).

Foi realizado o cruzamento entre machos *mwh/mwh* e fêmeas virgens da linhagem *wts/TM3,Sb¹*. Duas progênie são geradas nesse cruzamento: trans-heterozigoto marcado (*mwh+/+wts*) (MH), e heterozigoto balanceado (*mwh+/+TM3, Sb¹*) (BH). No teste para detecção de tumor epitelial, apenas a progênie MH é analisada. A identificação da progênie é feita mediante a expressão do balanceador cromossômico TM3, *Sb¹*, que apresenta, como fenótipo, pelos curtos e espessos no corpo da mosca, o que difere da progênie MH, que apresenta pelos selvagens do tipo longos e finos

No teste para detecção de tumor epitelial em *D. melanogaster*, machos da linhagem *mwh* foram cruzados com fêmeas virgens *wts* em meio de cultura padrão a base de banana (1230 mL de água; 16,5 g de ágar; 234 g de banana; 37,5 g de fermento biológico e 1,5 g de nipagin em pó). O cruzamento foi feito durante 24 horas em condições laboratoriais controladas em estufa B.O.D (12 horas claro/escuro, 25°C e 65% de umidade relativa).

A coleta de ovos dos descendentes do cruzamento *mwh* x *wts* foi feito durante um período de 8 horas em frascos de 250 mL contendo 1/5 de uma base sólida de ágar (3% de ágar em água) e uma camada de fermento biológico suplementado com sacarose. Após 72 ± 4 horas, larvas de 3º estágio foram lavadas com água obtida por sistema de osmose reverse e

Avaliação da capacidade carcinogênica

coletadas com auxílio de uma peneira de malha fina. Em seguida, as larvas foram submetidas a tratamento crônico por 48 horas.

O tratamento foi conduzido em *vials* contendo 1,5 g de purê de batatas (Yoki® Alimentos S.A) hidratados com 5 mL dos leites LT1, LT2 e LT3 em duas diferentes concentrações (100% e 50%).

Mitomicina C (MMC) foi usado como controle positivo na concentração de 0,1 mM. Esta concentração foi baseada em estudos de recombinação mitótica em *D. melanogaster* (TSUDA e TAKEDA, 1987) e ensaios de carcinogênese (NEPOMUCENO, 2012; MORAIS et al., 2016).

Água obtida por sistema de osmose reverse foi usado como controle negativo e parâmetro de comparação com os grupos tratados com o leite.

2.3 Análise do material biológico

Após processo de metamorfose, imagos adultos foram fixados em etanol 70% e, posteriormente, analisados quanto a presença ou ausência de tumores. Para a análise das moscas foi utilizado lupa estereoscópica, pinças entomológicas e glicerina. A tabulação dos dados foi feita em um diagrama padrão, expressando a frequência de tumor nos diferentes apêndices da mosca (olho, cabeça, asa, corpo, perna, halteres) em cada grupo tratado.

2.4 Ensaio de sobrevivência

Para avaliar a presença ou ausência de efeitos tóxicos das marcas de leite analisadas neste trabalho, 20 larvas de *D. melanogaster* foram transferidas para *vials* contendo 1,5 g de purê de batatas (Yoki® Alimentos S.A) hidratados com 5 mL dos leites LT1, LT2 e LT3 em duas diferentes concentrações (100% e 50%). Decorrido 5 dias após o tratamento, foi contabilizado o número de imagos em cada grupo tratado.

2.5 Análise estatística

As frequências de tumores epiteliais observados nos indivíduos tratados com as diferentes concentrações de LT1, LT2 e LT3 e MMC foram comparadas estatisticamente com as frequências de tumores epiteliais observadas nas moscas todo controle negativo (água

obtida por osmose reverse) usando o teste *U*, não paramétrico, de Mann-Whitney, com nível de significância $p \leq 0,005$.

Comparações estatísticas referentes às taxas de sobrevivência foram realizadas por meio do teste do Chi-quadrado, para razões de amostras independentes.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente trabalho foi avaliado a toxicidade e a carcinogenicidade de quatro marcas de leite obtidos por processos industriais. As marcas de leite foram selecionadas devido sobretudo a grande produção em escala industrial e o giro comercial entre a população, principalmente no estado de Minas Gerais.

A muito se sabe que os componentes existentes no leite, tais como vitaminas e sais minerais são indispensáveis, haja vista que exercem fundamental papel na homeostase (BRASIL, 2011; LEITE, 2016). No entanto, visando garantir uma maior durabilidade do leite, indústrias comumente podem recorrer a processos de conservação, podendo fazer uso de produtos fraudulentos proibidos para fins alimentícios, tais como peróxido de hidrogênio, água oxigenada, soda cáustica e formol, os quais podem contribuir com a quebra da homeostase (CORRÊA et al., 2015).

Nesta perspectiva, ensaios baseados na genética toxicológica são fundamentais no rastreio de xenobióticos com atividade genotóxica, mutagênica e/ou carcinogênica.

Como apresentado na **Figura 1** nenhuma das marcas comerciais de leite na concentração de 50% foram tóxicas para *D. melanogaster*. No entanto, LT3 na concentração de 100% reduziu 60% a taxa de sobrevivência, diferindo do controle negativo ($P < 0,05$), evidenciando por tanto, efeito tóxico.

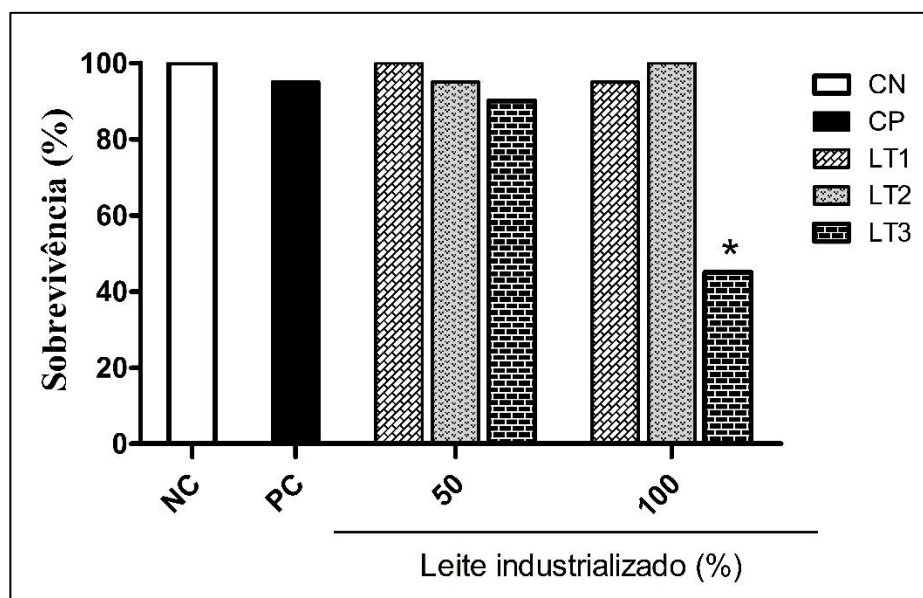


Figura 1. Taxas de sobrevivência dos descendentes de *Drosophila melanogaster* resultantes dos cruzamentos *mwh/mwh* e *wts/TM3, sb¹*, tratadas cronicamente como diferentes concentrações de leite industrial. NC = Controle negativo (Água); PC = Controle positivo (Mitomicina C, 0,1 mM).

*Diferença estatisticamente significativa ($P \leq 0,05$) de acordo com o teste do Chi- quadrado para razões de amostras independentes.

No presente trabalho, o efeito carcinogênico do leite processado industrialmente foi avaliado por meio do Teste para Detecção de Tumor Epitelial em *D. melanogaster*. Como apresentado na **Tabela 1** nenhuma das concentrações de leites comerciais diferiram do controle negativo, evidenciando por tanto ausência de efeito carcinogênico.

A fidelidade do teste foi confirmada pela frequência de tumor epitelial observado nos grupos controles. Controle negativo (moscas tratadas com água obtida por sistema de osmose reversa) apresentou baixa frequência de tumor epitelial, os quais são gerados por eventos mutagênicos espontâneos. O controle positivo (moscas tratadas com 0,1 mM de mitomicina C) diferiram estatisticamente ($P < 0,05$) do controle negativo, quanto a frequência de tumor epitelial em todos os apêndices da mosca, totalizando 463 tumores em 130 moscas analisadas. Os resultados entram em concordância com outros trabalhos na literatura (MORAIS et al., 2016; MORAIS et al., 2017).

Mesmo apresentando ausência de efeito carcinogênico, os resultados de toxicidade são preocupantes do ponto de vista da segurança alimentar, haja vista que a marca comercial LT3

na concentração de 100% foi tóxico para *D. melanogaster*. Partindo da premissa que esta marca faz uso da mesma origem de leite das outras marcas comerciais, outrora avaliado neste trabalho (leite bovino), e que os processos industriais de pasteurização são similares, pressupõem que algum ou alguns componentes presentes no leite foram responsáveis pelo efeito tóxico.

Embora neste trabalho, não tenha sido feito análises físico químicas, muitos trabalhos já identificaram substâncias nocivas em diferentes marcas industriais de leite. Peróxido de hidrogênio por exemplo é considerado um potente agente conservante, visto que este evita a proliferação de microrganismos, aumentando a longevidade do produto (CORRÊA et al., 2015). Peróxido de Hidrogênio é um potente agente tóxico, levando a quebra da homeostase, resultando em quadros clínicos alérgicos, irritação nas mucosas, vômito, hematese e danos neurológicos (CORRÊA et al., 2015). Além disso, o peróxido de hidrogênio está diretamente associado a liberação de espécies reativas de oxigênio, as quais podem oxidar biomoléculas no organismo, como por exemplo, o DNA, podendo resultar em doenças associadas a instabilidade genética, como processos de tumorização (HUSSAIN et al., 1987).

Avaliação da capacidade carcinogênica

Tabela 1. Frequência de tumor epitelial observados em descendentes heterozigotos para o gene supressor de tumor *wts* de *D. melanogaster* tratados com diferentes concentrações leite industrial e Mitomicina-C (MMC)

Tratamento		Número de indivíduos	Número de tumores analisados (total de tumores)						Total
			olhos	cabeça	asas	corpo	pernas	halteres	
Controle negativo		200	0,005 (01)	0,000 (00)	0,015 (03)	0,085 (17)	0,000 (00)	0,000 (00)	0,105 (21)
MMC	0,1 mM	130	0,138 (18)*	0,115 (15)*	2,138 (278)*	0,823 (107)*	0,300 (39)*	0,046 (06)*	3,561 (463)*
LT1	100%	200	0,000 (00)	0,005 (01)	0,025 (05)	0,095 (19)	0,005 (01)	0,000 (00)	0,130 (26)
LT1	50%	200	0,005 (01)	0,005 (01)	0,025 (05)	0,055 (11)	0,005 (01)	0,000 (00)	0,095 (19)
LT2	100%	200	0,000 (00)	0,005 (01)	0,010 (02)	0,095 (19)	0,005 (01)	0,000 (00)	0,115 (23)
LT2	50%	200	0,005 (01)	0,010 (02)	0,005 (01)	0,100 (20)	0,000 (00)	0,000 (00)	0,120 (24)
LT3	100%	200	0,000 (00)	0,015 (03)	0,000 (00)	0,003 (06)*	0,010 (02)	0,000 (00)	0,055 (11)*
LT3	50%	200	0,010 (02)	0,005 (01)	0,005 (01)	0,080 (16)	0,000 (00)	0,005 (01)	0,105 (21)

Diagnóstico estatístico de acordo com o teste de Mann-Whitney. Nível de significância ($P \leq 0,05$).

* Valores considerados diferentes do controle negativo ($P \leq 0,05$). MMC, Mitomicina C.

Peróxido de Hidrogênio foram identificados e amostras de leite de vaca em escolas públicas de Garanhuns, PE (FREITAS FILHO et al., 2011). Campos et al. (2011) identificaram em 72 amostras de leite integral pasteurizados comercializados em cidades satélites de Brasília, 7 amostras contaminadas com peróxido de hidrogênio. Xavier e Barbosa (2012) identificaram na cidade de Ipatinga, MG, presença de peróxido de hidrogênio em marcas comerciais de leite.

Vale destacar que nem sempre os processos fraudulentos acontecem devido a manipulação de operários no setor industrial. Proprietários rurais podem recorrer ao uso de peróxido de hidrogênio, visando manter a durabilidade do leite. Tal informação é sustentada pelo trabalho de Mattos et al (2010), os quais avaliaram o leite de 53 propriedades rurais de diferentes municípios e as análises revelaram peróxido de Hidrogênio em muitas das amostras das propriedades.

Outros compostos nocivos, tais como, soda cáustica e formol também foram encontrados no leite (CORRÊA; CAMPOS; PINTO, 2015).

Visando garantir uma segurança alimentar, o presente trabalho destaca a necessidade de monitoramento por meio análises físico químicas do leite, priorizando a análise de conservantes fraudulentos nocivos. E destaca também que ensaios biológicos, podem contribuir fortemente, por meio de uma resposta biológica que comprove a existência de compostos tóxicos em matrizes complexas.

4. CONCLUSÃO

Os resultados apresentados neste trabalho, permite concluir que em *D. melanogaster*, na concentração de 100% e nestas condições experimentais, o leite LT3 apresenta efeito tóxico. Mais trabalhos devem ser conduzidos com a marca comercial e um monitoramento sistemático de diferentes marcas de leites comercializados em escala industrial deve ser conduzido, visando garantir a segurança alimentar.

5. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Thamara Venâncio de. Parâmetros de qualidade do leite cru bovino: contagem bacteriana total e contagem de células somáticas. Universidade Federal de Goiás. Tese de Mestrado em Ciência Animal. 2013. Disponível em:

<https://ppgca.evz.ufg.br/up/67/o/2013_Thamara_Venancio_Seminario1corrig.pdf>. Acesso em: 15 nov. 2016.

ALVES, E.M.; NEPOMUCENO, J.C. Avaliação do efeito anticarcinogênico do látex do avelós (*Euphorbia tirucalli*), por meio do teste para detecção de clones de tumor (warts) em *Drosophila melanogaster*. *Perquirere*. 2:125-140, 2012.

BRASIL. Instrução Normativa nº 62 de 29 de dezembro de 2011. Aprova o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 30 dez. 2011. Seção 1, p.1-24.

CAMPOS, A.A.R; ROCHA, J.E.S; BORGIO, L.A; MENDONÇA, M.A. Avaliação físico-química e pesquisa de fraudes em leite pasteurizado tipo c produzido na região de Brasília, Distrito Federal. *Revista do Instituto de Laticínio Candido Toste, Juiz de Fora, Mg*, v. 66, n. 379, p.30-34, mar. 2011.

CORRÊA, F.T; CAMPOS, S.A.S; PINTO, S.M; Presença de antibióticos, conservantes e reconstituítes em leite UHT e pasteurizado. *Demetra*; v.1;n.1, p.289-298, 2015.

COSTA, R. M. A.; MENK, C. F. M. Biomonitoramento de mutagênese ambiental. *Biotechnologia: ciência e desenvolvimento*, v.3, n.12, 2000.

FREITAS, J.R; LIMA, V.A.M; LIMA, R.S; MELO, C.A.S, OLIVEIRA, D.S; NETO, J.R.F. Ensinando sobre adulteração do leite: relato de uma experiência utilizando materiais alternativos. *Revista Eletrônica de Extensão*, v. 8, n. 11, p.1-15, 7, 2011.

GRAF, U., WURGLER, F.E. The somatic white-ivory eye spot test does not detect the same spectrum of genotoxic events as the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, v. 27, p. 219-226, 1996.

HUSAIN, S. R.; CILLARD, J.; CILLARD, P.; *Phytochemistry* 1987, 26, 2489. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422006000100021>. Acesso em:19 nov 2016.

JENNINGS, B. H. *Drosophila* - a versatile model in biology e medicine. *Materials Today*, v. 14, p. 190-195, 2011.

LEITE, Patrícia. 16 Benefícios do Leite – Para Que Serve e Propriedades. Disponível em: <<http://www.mundoboaforma.com.br/16-beneficios-do-leite-para-que-serve-e-propriedades/>>. Acesso em:19 nov 2016.

LOURO, I. D; LLERENA Jr., J.C.; MELO, M. S. V.; ASHTON-PROLLA, P.; CNFORTI, N. F. *Genética Molecular do Câncer*. 2.ed. São Paulo: MSG Produção Editorial, 2002.

MATTOS, R.M; BELOTI, V; TAMANINI, R; MAGNANI, D.F; NERO, L.A; BARROS, M.A.F; PIRES, E.M.F; PAQUEREAU, B.P.D. Qualidade do leite cru produzido

ROCHA, N. A. M.; SOUSA, F. A.; MORAIS, C. S.

na região do agreste de Pernambuco, Brasil. Semina: Ciências Agrárias, v. 31, n. 1, p.173-182, 2010.

MEZZADRI, F. P., 2014. ANÁLISE DA CONJUNTURA AGROPECUÁRIA LEITE - ANO 2014. Disponível em: < http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/bovinocultura_leite_14_15.pdf> Acesso em: 09 nov 2016.

MORAIS, C.R., VIEIRA, T.C., BORGES, R.M., GUIMARÃES, L.M.M., BARCELOS, L.A., SOUZA, F.C., PIMENTEL, L.S., SILVA, J.C., Vasconcelos, M.A., Rodrigues, T.S., Sousa, F.A., Rezende, A.A.A., Spanó, M., Bonetti, A.M. Assessment of carcinogenic potential of soft drinks of cola, diet cola, orange and lemon, produced in the city of Uberlândia, Minas gerais state, Brazil. *Bioscience Journal*. V. 32, p. 1025-1039, 2016.

MORAIS, C.R, CARVALHO, S.M., NAVES, M.P.C., ARAÚJO, G., REZENDE, A.A.A., BONETTI, A.M., SPANÓ, M.A. Mutagenic, recombinogenic and carcinogenic potential of thiametoxam insecticide and formulated product in somatic cells or *Drosophila melanogaster*. *Chemosphere*, v. 187, p. 163-172, 2017.

NISHIYAMA, Y., HIROTA, T., MORISAKI, T., HARA, T., MARUMOTO, T., IADA, S., MAKINO, K., YAMAMOTO, H., HIRAOKA, T., KITAMURA, N., SAYA, H.,. A human homolog *Drosophila* warts supressor, h-warts, localized to mitotic apparatus and specifically phosphorylated during mitosis. *Febs Letters*, v.459, p. 159-165, 1999.

SOUZA, M. R., RODRIGUES, R., FONSECA, L. M., CERQUEIRA, M. M. O. P. Pasteurização do leite. Caderno Técnico da Escola de Veterinária UFMG, n. 13, p.85-93, 1995.

TSUDA, K., TAKEDA, N. Effect of tumor promoter TPA on spontaneous and Mitomycin C induced mitotic recombination in *Drosophila melanogaster*. *Mutation Research*, v. 189, p. 375-379, 1987.

VALSECHI, O.A; O leite e seus derivados. Tecnologia de produtos agrícolas de origem animal; v.1; n.1, p.1-36, 2001.

VENTURINI, K.S; SARCINELLI, M.F; SILVA, L.C; Características do leite. Boletim técnico; v.1; n.1, P 1-6, 2007.

XAVIER, P.M.A; BARBOSA, J.U. Desenvolvendo uma atividade investigativa com estudantes do em: a qualidade do leite em foco. Divisão de Ensino de Química da Sociedade Brasileira de Química (ed/sbq) Ufba, Uesb, Uesc e Uneb: XVI Encontro Nacional de Ensino de Química (XVI ENEQ) e X Encontro de Educação Química da Bahia (X EDUQUI), Salvador, Ba, v. 1, n. 1, p.1-9, 17, 2012.