



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ – UFPI
CAMPUS SENADOR HELVÍDIO NUNES DE BARROS
LICENCIATURA PLENA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

BRENDA LIMA CARVALHO

**POTENCIAL CITOTÓXICO, GENOTÓXICO E MUTAGÊNICO DE LEITES UHT DO
TIPO INTEGRAL.**

PICOS/2016

BRENDA LIMA CARVALHO

**POTENCIAL CITOTÓXICO, GENOTÓXICO E MUTAGÊNICO DE LEITES UHT DO
TIPO INTEGRAL.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Piauí, Campus Senador Helvídio Nunes de Barros, como requisito parcial para a obtenção do título de Graduado em Licenciatura em Ciências Biológicas.

Orientador (a): Prof^ª. Dra. Ana Paula Peron

PICOS/2016

FICHA CATALOGRÁFICA

Serviço de Processamento Técnico da Universidade Federal do Piauí

Biblioteca José Albano de Macêdo

C331p Carvalho, Brenda Lima.

Potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico de leites UHT do tipo integral / Brenda Lima Carvalho.– 2016.

CD-ROM : il.; 4 ¾ pol. (36 f.)

Monografia (Curso de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Piauí, Picos, 2016.

Orientador(A): Prof.^a Dra. Ana Paula Peron

1. Leite Ultrapasteurizado. 2. Distúrbios de Fuso Mitótico. 3. Tecido Maristemático. I. Título.

CDD 581.4

BRENDA LIMA CARVALHO

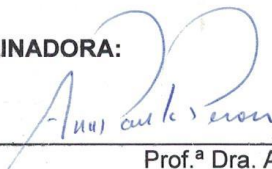
POTENCIAL CITOTÓXICO, GENOTÓXICO E MUTAGÊNICO DE LEITES UHT DO TIPO INTEGRAL.

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Piauí, Campus Senador Helvídio Nunes de Barros, como requisito parcial para a obtenção do título de Graduado em Licenciatura em Ciências Biológicas.

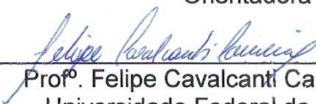
Orientador (a): Prof^ª. Dra. Ana Paula Peron

Aprovado em 26 / 07 / 2016

BANCA EXAMINADORA:



Prof.^a Dra. Ana Paula Peron
Universidade Federal do Piauí - UFPI
Orientadora



Prof.^o. Felipe Cavalcanti Carneiro da Silva
Universidade Federal do Piauí - UFPI
Membro



Prof.^a. Nilda Masciel Neiva Gonçalves
Universidade Federal do Piauí - UFPI
Membro

Agradeço a Deus, pois sem ele eu não teria forças para concluir essa etapa. És essencial em minha vida, meu guia e autor do meu destino.

AGRADECIMENTOS

O que seria de mim sem a fé em ti, Senhor? Obrigada pela saúde, força física e emocional para concluir este grande sonho. Tudo posso naquele que me fortalece, sempre!

Agradeço à minha mãe Iraides e ao meu pai Manoel, por nunca medirem esforços para que meus objetivos fossem alcançados, deixando várias vezes de pensar em si próprio para lutar pelo melhor das filhas. Pelo apoio constante em todas as etapas de minha vida, pela luta diária... Minha eterna gratidão e amor por vocês.

À minha princesa Nágela, pela motivação, companheirismo, irmandade e pela paz que sempre me trás.

Ao meu namorado Felipe, pela paciência, incentivo e carinho em todas as horas que precisei e que não foram poucas.

Aos meus avós, tios e primos que sempre me presentearam com palavras de encorajamento e de esperança que esse dia iria chegar.

A todos meus amigos de fé e irmãos de coração, pelos vários momentos de descontração e por estarem presentes sempre, inclusive na vitória.

Agradeço também a todos os professores que me acompanharam durante a graduação, em especial a Profa. Dra. Ana Paula Peron, que desde o primeiro dia de aula reconheci como sendo a minha fonte de inspiração como profissional e ser humano, responsável pela minha dedicação e entrega ao curso e pela realização deste trabalho.

Enfim, obrigada a todas as pessoas que contribuíram direto ou indiretamente para conclusão dessa etapa e para meu crescimento pessoal. Posso dizer, assim como Augusto Branco, que sou o resultado da confiança e da força de cada um de vocês. Amores, eu consegui!!!!

MUITO OBRIGADA, DE CORAÇÃO!

RESUMO

Objetivou-se na presente pesquisa avaliar a ação em nível celular de leites longa vida, do tipo integral, de seis 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, diretamente nos produtos lácteos comercializados. Com base nos resultados obtidos, verificou-se que todas as amostras de leite reduziram a proliferação celular dos meristemas de raízes, demonstrando, neste estudo, significativo efeito citotóxico. Ainda, a exposição aos leites induziu nas células meristemáticas frequência expressiva de alterações de fuso mitótico caracterizando estes alimentos, nas condições de estudo estabelecidas para esta avaliação, como genotóxicos e mutagênicos, respectivamente. Portanto, com base nos resultados obtidos, conclui-se que as amostras de leite longa vida analisadas causaram relevante instabilidade genética às células do tecido analisado. Os resultados aqui obtidos da ação tóxica em nível celular destes leites longa vida são de grande relevância em virtude de, até o momento, não existirem estudos de toxicidade publicados envolvendo tais alimentos, bem como dos aditivos alimentares presentes em sua composição.

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

ABSTRACT

The objective in the present study to evaluate the action at the cellular level of milk long life, full type, six of renowned companies operating in the Brazilian market of food, as well as other countries in South America. The evaluation took place in meristematic cells roots of *Allium cepa* L., in exposure times 24 and 48 hours, in milk products marketed directly. Based on these results, it was found that all the milk samples reduced cellular proliferation of root meristems, demonstrating, in this study, significant cytotoxic effect. Still, exposure to milk led to the significant frequency meristematic cell mitotic spindle changes characterizing these foods, in the conditions set for it, as genotoxic and mutagenic respectively. Therefore, based on these results, it is concluded that the samples of UHT milk caused significant genetic instability of the cells of the examined tissue. The results obtained from the toxic action at the cellular level of these long life milks are of great relevance because, to date, there are no published toxicity studies involving such foods and food additives present in the composition.

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

LISTA DE TABELAS

Tabela1: Aditivos alimentares permitido no leite UHT com seus limites.....	16
Tabela 2: Requisitos básicos sobre características de qualidade a serem avaliadas em leite.....	19
Tabela 3: Resultados de proliferação celular em tecidos meristemáticos de raízes de <i>Allium cepa</i> expostos, por 24 e 48 horas a leites UHT ·	24
Tabela 4 - Número de alterações celulares em tecido meristemático de raízes de <i>Allium cepa</i> expostos, por 24 e 48 horas, a amostras de leite longa vida de seis empresas alimentícias – referidas como A, B, C, D, E, F. Em cada tratamento foram apresentados os valores significativos de χ^2	26

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1 COMPOSIÇÃO DO LEITE	14
2.2 DIFERENTES TIPOS DE LEITE	14
2.2.1 LEITE UHT OU DE LONGA VIDA	15
2.2.1.1 PROCESSAMENTO DO LEITE UHT	16
2.2.1.2 CONTROLE DE QUALIDADE	17
2.3 CONSEQUÊNCIAS DA UTILIZAÇÃO DO LEITE INDUSTRIALIZADO	19
3. MATERIAIS E MÉTODOS	22
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
5. CONCLUSÕES	29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

1. INTRODUÇÃO

O leite bovino é considerado básico na alimentação humana por conter naturalmente e em abundância, biomoléculas como água, glicídios, proteínas, lipídios insaturados e vitaminas, bem como sais minerais essenciais para o bom funcionamento do organismo (Taffarel et al., 2015).

Apesar da relevância nutricional, este alimento é altamente perecível por também se caracterizar como um excelente meio para a proliferação de microrganismos indesejáveis que, mediante a liberação de toxinas, ocasionam significativas alterações de sabor, odor, coloração e, conseqüentemente, de suas propriedades nutricionais (Aguilar et al., 2015).

Assim, no intuito de oferecer um produto lácteo saudável sem contaminantes, com tempo de validade estendido e sem adição de aditivos ou micro ingredientes conservantes, aromatizantes e corantes, as indústrias alimentícias desenvolveram eficazes métodos de controle de qualidade e conservação, como por exemplo, a técnica *Ultra High Temperature* (UHT), também denominada de ultra pasteurização (Domaresky et. al., 2010).

O leite cru submetido a este procedimento é comercialmente denominado de leite UHT ou leite longa vida, que com base na concentração de lipídios é classificado em integral, semidesnatado ou desnatado, e o tipo integral é o mais consumido pela população (Domaresky et al., 2010; Frata et al., 2014; Souza et al., 2014).

No Brasil, estes produtos lácteos são normatizados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, através do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos leites longa vida – Portaria nº 146, de 1996 (Brasil, 1996; Souza et al., 2014). Tal regulamento foi elaborado 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; Pflanzner et al., 2010).

Porém, apesar de não se atribuir aos leites longa vida os aditivos aromatizantes, corantes e conservantes, micro ingredientes 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 agudos de micro ingredientes 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).

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 ultrapasteurizadas.

Os meristemas de raízes de *Allium cepa* L. (cebola) 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; Bianchiet 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 (Tükoğlu, 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; Campus-Pereira et al., 2016).

Mediante o contexto abordado, objetivou-se no presente estudo avaliar, em células meristemáticas de raízes de *A. cepa*, o potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico de leites UHT, do tipo integral, de seis empresas de expressiva relevância no mercado de alimentos brasileiro, assim como de outros países da América do Sul.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

Tendo em vista a problemática a ser pesquisada, pretende-se fazer algumas reflexões que não se colocam como conceitos ou definições acabadas, mas possam ser uma possibilidade de ampliar e melhor entender os temas aqui tratados. Para tal pretensão, faz-se necessário fundamentar alguns termos da nossa pesquisa nos princípios da ANVISA, MAPA, análises realizadas pelo INMETRO e parcerias, para conhecermos sobre a fiscalização e controle dos Leites e suas principais definições.

Ao passar das décadas, observa-se uma nova forma de alimentar-se graças ao avanço da Tecnologia Industrial. Esse desenvolvimento vem fornecer uma forma conveniente de consumir esses alimentos, onde Fast foods, refeições prontas e de fácil acesso, estão adquirindo relevância. (SU, 2012). Considerando esse avanço e praticidade na forma de alimentação, observamos vários produtos que passam a ser mais utilizados, fabricados Industrialmente do que In natura, citamos, por exemplo, sucos, chás, leite e iogurtes.

O leite é apontado desde o nascimento como um importante alimento no ponto de vista nutricional, pois apresenta grande fonte de cálcio, onde a importância parte das funções que vão exercer no organismo do ser humano (TOMBINI et.al 2012) . Caracteriza-se também por ser um alimento versátil, tanto de acordo com a necessidade e com preferência do consumidor.

Reis (s/d) conceitua o leite como sendo a secreção proveniente das glândulas mamárias das mamíferas durante processo de lactação que ocorre na gestação, sendo ele um produto normal, fresco e integral, vindo da ordenha de vacas sadias. No Ano de 2012 o consumo, conseqüentemente a produção do leite alcançou no mundo a marca de 729,3 milhões de toneladas, sendo no Brasil encontrado os principais produtores, fechando ano com 33,054 bilhões de litros produzidos (ESTADÃO, 2013).

Por causa do aumento desse consumo, surgiu uma maior preocupação nas práticas adotadas para obtenção, transporte e conservação do leite, assim, existem processos que devem ser feitos ao leite para melhorar a sua qualidade e aumentar o tempo válido desse produto nas prateleiras (VENTURINI et al., 2007).

2.1 COMPOSIÇÃO DO LEITE

O leite possui na sua composição uma mistura de elementos que são proteínas, gordura, carboidratos, minerais e vitaminas dissolvidas na água, resultando em um produto de grande valor energético e essencial à manutenção do equilíbrio orgânico (REIS et. s/d).

Segundo Valsechi (2001), as proteínas se apresentam na forma insolúvel ou também chamadas de caseínas. Responsáveis pela característica visual do leite e dos derivados dele. Já a gordura do leite é chamada de lipídeos e é composta por ácidos graxos, que apresentam industrialmente um grande valor, graças a sua utilização na confecção de vários produtos derivados do leite e conferindo a elas características organolépticas essenciais (MENDES, 2006).

Sendo o principal carboidrato encontrado nessa mistura, a lactose é utilizada para enriquecer leites modificados e são importantes para fornecimento de energia, contribui positivamente na ação sobre a flora láctica intestinal, mas também apresenta pontos negativos, sendo um deles a intolerância em pessoas com deficiência em lactase. (Valsechi, 2001).

Reis (s/d) destaca que o grupo dos sais minerais e vitaminas se apresentam em menor quantidade em comparação ao conteúdo total do leite, mas essa quantidade faz com que ele se torne uma grande fonte de cálcio, fósforo, ferro e sendo a vitamina A, a fonte mais fornecida.

2.2 DIFERENTES TIPOS DE LEITE

Como descrito por Stuppiello (2016) o mercado os leites se apresenta de diversas formas. As principais são o **Pasteurizado** que é quando o leite é levado a um tratamento térmico que envolve submetê-lo a uma temperatura de 72°C a 75°C graus por 15 a 20 segundos. **Leite UHT ou longa vida** que é homogeneizado e submetido a uma temperatura de 130 a 150°, entre 2 e 4 segundos, e imediatamente resfriado a uma temperatura inferior a 32°C. Esse choque térmico permite eliminar bactérias resistentes e assim as propriedades do leite são conservadas sem refrigeração. A embalagem, na qual esse leite fica armazenado, é asséptica.

Segundo SOUZA (2014), logo após aberta, recomenda-se o armazenamento na geladeira e consumo em até 3 dias (esse prazo varia de acordo com o fabricante).

Acrescenta-se também o **Leite fortificado** que passa por um tratamento feito com rápido resfriamento que ocasiona perda de alguns nutrientes, o **Leite em pó** que é o leite que passa por tratamentos de concentração e secagem. Esse leite é obtido por desidratação do leite de vaca. Cada diferente tipo de leite, pode se apresentar na forma de **Leites Integrais** (com mais vitaminas e sem passagem pelo processo de retirada da gordura natural), **Leite semidesnatado** (possui menos gorduras quando comparado ao integral. Versão com lipídios e mesmas quantidades de cálcio e proteínas) e **Leite desnatado** (redução considerada da quantidade de gordura).

2.2.1 LEITE UHT OU DE LONGA VIDA

Na visão de Porto (1997) o leite UHT (Ultra-Alta Temperatur, UAT) é um leite homogeneizado que passou por um aquecimento mediante um processo térmico de fluxo contínuo, imediatamente resfriado e envasado sob condições assépticas em embalagens estéreis e fechadas. Nesse processo ocorre eliminação de todos os patogênicos e da maioria dos deteriorantes (no processo não destrói esporos).

Esse tipo de leite, que encontramos nas prateleiras, de grande consumo e fácil transporte, deve seguir normas sobre quais produtos devem entrar na sua composição. A Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária é quem dita essas normas através do regulamento técnico que aprova o uso de aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos 01 – leite e produtos lácteos. (ANVISA, 2000). O regulamento destaca que só é permitido o acréscimo dos seguintes aditivos:

Tabela1: Aditivos alimentares permitido no leite UHT com seus limites

1.1.3. Leite Esterilizado e Leite UHT (UAT)		
	ESTABILIZANTE	
331 iii	Citrato de sódio, citrato trissódico	<i>quantum satis</i>
339 i	Fosfato monossódico, fosfato de sódio monobásico, monossódio dihidrogênio monofosfato	0,10 (como P ₂ O ₅)
339 ii	Fosfato dissódico, fosfato de sódio dibásico, dissódio hidrogênio monofosfato	0,10 (como P ₂ O ₅)
339 iii	Fosfato trissódico, fosfato de sódio tribásico, trissódio monofosfato	0,10 (como P ₂ O ₅)

Fonte: www.anvisa.gov.br

2.2.1.1 PROCESSAMENTO DO LEITE UHT

Na formação do leite industrializado é preciso seguir etapas para resultar no produto esperado. Tais etapas são: **Ordenha**, onde deve ocorrer a coleta do leite, mas antes disso, a lavagem das tetas e secagem com toalhas descartáveis são necessários. Esse leite deve ser coado em recipiente apropriado e refrigerado numa temperatura de 7°C em até 3 horas (VIEIRA, 2010).

A **Recepção** que é feita com o transporte do leite para o laticínio em caminhões dotados de paredes isotérmicas (SILVA *et al.*, 2012). Conforme Vieira (2010), amostras de leite são coletadas para análises e logo após transferidas para o tanque de expansão (ou tanque de resfriamento) onde é submetido a uma primeira filtração.

Uma próxima etapa é a **Padronização** do leite, com objetivo de obter um produto com composição química definida (VENTURI; SARCINELLI; SILVA, 2007). Esse leite vai em seguida Pasteurizar, ou seja, aquecer em uma determinada temperatura, visando eliminar patógenos e reduzir bactérias deterioradoras, e um resfriamento para aumentar a vida útil do leite. (CAMPANHOLA, 2005).

Passa também por processos de **Homogeneização** (redução do tamanho dos glóbulos graxos, evitando portando a separação da gordura (VENTURI;

SARCINELLI; SILVA, 2007)). E, por fim, **Envase e Armazenamento**, nesses processos, o leite deve ser refrigerado, embalado e estocado em câmaras refrigeradas (ZANOLA, 2009).

O MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento) é o órgão responsável pela fiscalização da fabricação dos produtos de origem animal, incluindo o leite, conforme disciplina a Lei n. 1283, de 18 de dezembro de 1950, em seus art. 1º e 3º. A fiscalização desses produtos no comércio é feita pela ANVISA e pelos órgãos de Vigilância Sanitária, conforme art. 3º e art. 4º da Lei 1283/50.

Uma das leis de fiscalização desses produtos é a Lei nº 9.832, de 14 de setembro de 1999 da Anvisa, que ressalta o uso adequado das embalagens alimentícias. O referido alerta que o uso industrial de embalagens metálicas soldadas com liga de chumbo e estanho para acondicionamento de gêneros alimentícios, exceto para produtos secos ou desidratados é proibido.

2.2.1.2 CONTROLE DE QUALIDADE

Apesar de passar por um processo rigoroso na produção do leite UHT, este continua a ser um excelente local para o desenvolvimento de microrganismos, assim a qualidade em que é apresentado deve ser uma preocupação para a população (SANTOS et.al, 2013).

Para que seja então consumido, não só as boas condições de manejo e higiene fazem-se relevante. As características físico-químicas que vão conferir ao produto sabor, odor, textura e qualidade são imprescindíveis, bem como servir de indicador para serem analisadas as condições em que o leite foi extraído, processado ou comprovar alteração por fraude. Todos os parâmetros do controle de qualidade são encontrados na Instrução Normativa nº 62 (SILVA *et al.*, 2012).

As principais condições que devem ser verificadas são a **Acidez do leite** que de acordo com Fiemg (2010) no teste de acidez pode ser visualizada a elevada acidez do leite; índice de mastite do rebanho elevado; vacas próximas da secagem ou recém-paridas; e excesso de cálcio e magnésio em relação a fosfato e citrato.

O leite ácido demais não resiste a tratamentos térmicos utilizados por indústrias, sendo então uma importante característica a ser controlada, a acidez do leite varia de 14 a 18ºD (graus Dornic). A **Temperatura em que o leite é**

conservado que deve ser 4°C, podendo chegar no máximo até 7°C, dentro de duas horas depois da ordenha, e menor que 10°C, durante a adição de leite da ordenha consecutiva (SILVA; SILVA; FERREIRA, 2012).

Outra condição a ser verificada é o **Nível de gordura** é o limite de teor da matéria gorda g/100g é de no mínimo 3,0g e em porcentagem é 3,5%. Na determinação da gordura é possível verificar se o leite foi fraudado. Essa verificação é possível ser realizada através de testes químicos e eletrônicos (VENTURI; SARCINELLI; SILVA, 2007).

Somando a **Densidade**, que deve ser analisada através de um cálculo feito levando em consideração o peso e o seu volume, geralmente em uma temperatura de 15° C (VENTURI; SARCINELLI; SILVA, 2007). A verificação da densidade é muito utilizada em pesquisa de fraude por adição de água ou desnate na propriedade. (SILVA; SILVA; FERREIRA, 2012). E por fim o **Índice crioscópico** que relaciona-se à medição do ponto de congelamento ou da depressão do ponto de congelamento do leite em relação ao da água. O seu limite é de 0,5120°C. Uma das principais e mais frequentes falsificações que ocorrem no leite é a aguagem. (EIZENDEHER, s/d). A tabela a seguir demonstra outros requisitos básicos para testar a qualidade do leite:

Tabela 2: Requisitos básicos sobre características de qualidade a serem avaliadas em leite.

Requisitos	Leite Integral	Leite Semi ou Parcialmente Desnatado	Leite Desnatado	Métodos de Análises
Matéria Gorda % m/v	Mín. 3,0	0,6 a 2,9	Máx. de 0,5	FIL 1C: 1987
Acidez g ac. lático/100ml	0,14 a 0,18	0,14 a 0,18	0,14 a 0,18	AOAC 15 ^o ed. 947.05
Estabilidade ao etanol 68% (v/v)	Estável	Estável	Estável	FIL 48: 1969
Extrato seco desengordurado % (m/m)	Mín. 8.2	Mín. 8.3	Mín. 8.4	FIL 21B: 1987

FONTE: Ministério da agricultura e abastecimento. Disponível em <http://www.saocaetanoprojetos.com.br>

Avaliado as suas principais características, o leite UHT (*Ultra High Temperature*) deve ser colocado em materiais com condições previstas e aceitas de armazenamento e que garantem a qualidade da sua embalagem e uma proteção contra possíveis contaminações.

2.3 CONSEQUÊNCIAS DA UTILIZAÇÃO DO LEITE INDUSTRIALIZADO

Ao passo em que a indústria procura se assemelhar ao máximo as características gerais do leite in natura, existe estudos que comprovam grandes propriedades que só o leite industrializado pode apresentar. No dizer de Gil (2016), o leite que se encontra nas prateleiras é pasteurizado, homogeneizado e clareado. Logo após esse processo, resta apenas um líquido com enzimas desativadas, açúcar modificado e proteínas desnaturadas.

A referida autora fala que em relação as suas enzimas, quando o leite é pasteurizado, a enzima fosfatase é destruída. Esta ajuda no processo de absorção do cálcio e assim o industrializado impede com que o organismo absorva o cálcio. Já falando sobre o açúcar, em altas temperaturas a lactose é aquecida e transformada em beta-lactose (açúcar absorvido pelo organismo mais rapidamente que a lactose). Essa beta-lactose, nesse caso, funciona muito semelhante a sacarose elevando as taxas de glicose no sangue.

Durante esse processo, Gil (2016) aborda o tema Proteínas e fala que algumas delas presentes no leite têm sua estrutura original modificada e o nosso organismo passa a tratar essa proteína como substância estranha. Outro problema bastante pertinente é quanto a qualidade em que o leite chega às mesas. Como já abordado, o leite UHT deve passar por uma série de cuidados no processamento e estocagem dele.

Em uma reportagem que foi ao ar no programa Globo Repórter, da Rede Globo de Televisão, ouve a divulgação de uma pesquisa realizada pelo Programa de Qualidade Leite Brasil. Essa pesquisa demonstrou que em alguns estados como Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul e São Paulo, tinha problemas na temperatura de armazenamento. Cerca de 40% dos pontos que foram verificados encontraram anormalidades no armazenamento, onde estavam em temperaturas acima dos 10° C recomendados.

O que traz muita preocupação também quanto aos leites industrializados é a adulteração e utilização de conservantes que afetam a saúde dos consumidores. Mesmo os produtores afirmando que o leite não necessita de qualquer tipo de conservante, pois a tecnologia utilizada na produção e a estocagem adequada livram o leite de qualquer contaminação, existem alguns estudos que demonstram que a ocorrência de adulteração não é inviável.

Um Informe técnico de nº 53, Disponível em: (www.Anvisa.gov.br) esclarece os riscos à saúde que as substâncias ureia e formol podem trazer e sua adição ao leite. Nesse informe, destaca uma denúncia onde ocorreu adulteração de leite com essas substâncias e o início de uma operação para investigar o ocorrido no estado do Rio grande do Sul. A adulteração era caracterizada pela adição de ureia agrícola e o formaldeído. O objetivo era aumentar o volume do leite com água e manter os padrões do leite.

Além de adulteração com conservantes, os produtores podem acrescentar, nesses alimentos, aditivos de ação umectante e estabilizante, que têm a função de preservar características organolépticas, principalmente após estes alimentos serem abertos para consumo. (Aguiar et al., 2015; Taffarel et al., 2015).

Por esses motivos as agências de vigilância alimentar, como o *Codex Alimentarius* e a *European Food Safety Authority* (EFSA), ressaltam a necessidade de estudos toxicológicos em geral. Mas, em uma busca a literatura científica, verificou-se que não existem trabalhos de avaliação de toxicidade, em nível celular e sistêmico, de bebidas lácteas ultrapasteurizadas.

Para analisar os possíveis problemas que estes podem causar, utilizam-se 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 por apresentarem números cromossômicos reduzidos ($2n=16$), o que favorece a detecção de alterações cromossômicas e de fuso mitótico (Neves et al., 2014; Bianchiet al., 2015).

Além disso, esse sistema teste é aceito internacionalmente por agências de pesquisa como um instrumento de avaliação de apurada sensibilidade para análise da citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade de substância de interesse. (Tükoğlu, 2007; Herrero et al., 2011; Tabrez et al., 2011; Gomes et al., 2013; Oliveira et al., 2013; Campos; Marin-Morales, 2016; Lacerda et al., Sales, 2014; Moura et al., 2016, Santana et al., 2016; Campus-Pereira et al., 2016).

Com base no que foi abordado é importante que seja analisado o potencial citotóxico, que segundo o BCRJ (Banco de células do Rio de Janeiro) é a capacidade de um material promover alterações em nível metabólico nas células podendo resultar ou não na sua morte, o potencial genotóxico que Kolling et.al (2006) denomina como a capacidade que substâncias têm de provocar alterações no material genético. Essas alterações podem ser responsáveis pelo surgimento de algumas doenças como, por exemplo, o câncer e doenças hereditárias, e o potencial mutagênico, que é a capacidade de qualquer substância, material ou agente de aumentar ou até mesmo induzir o aparecimento de mutações no organismo, em leites UTH com grande procura no mercado por meio de células meristemáticas de raízes de *A. cepa*.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Como materiais, foram utilizadas amostras de leites UHT, as oriundas das companhias *Piracanjuba*[®], *Embaré*[®], *Goiaisminas*[®], *Parmalat*[®], *CBL Alimentos S/A*[®] e *LacelLaticínios*[®] - denominadas adiante de A, B, C, D, E, F, respectivamente. As amostras foram adquiridas em mercado varejista na cidade de Picos, Piauí, Brasil. Teve-se o cuidado de verificar se os produtos lácteos estavam dentro do prazo de validade e se suas embalagens não estavam violadas ou danificadas. As análises de toxicidade foram realizadas diretamente nos leites comercializado nas embalagens.

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. 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.

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 longa vida 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. 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.

Avaliou-se também a toxicidade das amostras de leite através da frequência de micronúcleos ou de efeitos clastogênicos e de metáfases colchícinicas, pontes anafásicas 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.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 3 são apresentados os resultados de proliferação celular em tecidos meristemáticos de raízes de *Allium cepa* expostos, por 24 e 48 horas, a leites UHT provenientes de seis diferentes empresas alimentícias – referidas como A, B, C, D, E, F. Em cada tratamento foram apresentados os valores significativos de χ^2 .

Tabela 3: Resultados de proliferação celular em tecidos meristemáticos de raízes de *Allium cepa* expostos, por 24 e 48 horas a leites UHT.

DADOS ÍNDICE MITÓTICO								
Empresa	TE	TCII	P	M	A	T	TCD	IM (%)
A	CO	3943	513	232	150	162	1057	21,4 ^a
	24 h	4749	150	40	29	32	251	5,0 ^b
	48 h	4955	42	03	00	00	47	0,9 ^b
B	CO	4363	198	200	186	53	637	12,7 ^a
	24 h	4859	49	29	32	31	141	2,8 ^b
	48 h	4967	29	04	00	00	33	0,7 ^c
C	CO	3702	1004	135	105	54	1298	26,0 ^a
	24 h	4492	304	91	94	19	508	10,2 ^b
	48 h	4819	152	29	00	00	181	3,6 ^c
D	CO	3901	841	109	78	71	1099	22,0 ^a
	24 h	4655	199	74	31	41	345	6,9 ^b
	48 h	4976	24	00	00	00	24	0,5 ^c
E	CO	4282	289	243	108	78	718	14,4 ^a
	24 h	4850	44	39	54	13	150	3,0 ^b
	48 h	4979	21	00	00	00	21	0,4 ^c
F	CO	3984	655	180	90	91	1014	20,3 ^a
	24 h	4816	81	41	53	09	184	3,7 ^b
	48 h	4973	27	00	00	00	27	0,5 ^c

FONTE: Dados da pesquisa realizada.

Piracanjuba®, *Embaré*®, *Goiaisminas*®, *Parmalat*®, *CBL Alimentos S/A*® e *LacelLaticínios*®; 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%.

Os resultados apresentados na Tabela 3 mostram que todas as amostras de leite longa vida causaram expressiva redução 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 de cada amostra, verificou-se inibição estatisticamente significativa da proliferação celular. Assim, considerando os resultados apresentados na Tabela 03, pode-se inferir que os leites longa vida avaliados, nas condições de análises estabelecidas, promoveram citotoxicidade significativa ao sistema teste utilizado, condição que se acentuou ainda mais e de forma significativa com o aumento do tempo de exposição.

O potencial citotóxico de compostos ou substâncias químicas 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), índice mitóticos inferiores ao controle negativo indicam a presença de agentes cuja ação tóxica compromete o crescimento e o desenvolvimento dos organismos expostos.

Complementando a ideias dos autores acima citados, Gomes et al. (2013), Marques et al. (2015), Sales et al. (2006) e Moura et al. (2016) declaram que a inibição da proliferação celular desencadeada por compostos citotóxicos em tecidos de intensa proliferação celular e com desempenho normal ou sem alterações celulares, como os utilizados nesta pesquisa para avaliação da toxicidade de leites UHT, é bastante prejudicial ao organismo, uma vez que possuía 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 04 são apresentados os resultados de alterações de fuso mitótico, representadas no presente estudo pelas metáfases colchínicas, pontes anafásicas e telofásicas, anáfases multipolares e micronúcleos, decorrentes da exposição de raízes de *Allium cepa* a amostras de leite longa vida de seis diferentes companhias alimentícias.

Tabela 4 - Número de alterações celulares em tecido meristemático de raízes de *Allium cepa* expostos, por 24 e 48 horas, a amostras de leite longa vida de seis empresas alimentícias – referidas como A, B, C, D, E, F. Em cada tratamento foram apresentados os valores significativos de χ^2 .

Empresa	TE	Metáfase colchícinicas	Pontes anafásicas/telofásicas	Anáfase Multipolar	Micronúcleo	TAC
A	CO	00	00	00	01	01 ^a
	24h	13	09	11	29	62 ^b
	48h	00	00	00	01	01 ^a
B	CO	00	01	00	00	01 ^a
	24h	08	09	14	13	44 ^b
	48h	00	00	02	00	02 ^a
C	CO	00	01	00	00	01 ^a
	24h	13	09	19	10	51 ^b
	48h	00	00	00	03	03 ^a
D	CO	01	00	00	00	01 ^a
	24h	04	11	11	13	39 ^b
	48h	00	00	00	01	01 ^a
E	CO	01	00	00	00	01 ^a
	24h	08	09	00	16	33 ^b
	48h	00	00	02	00	02 ^a
F	CO	01	00	00	00	01 ^a
	24h	13	07	10	09	39 ^b
	48h	00	00	00	01	01 ^a

FONTE: Dados da pesquisa realizada

Piracanjuba®, *Embaré*®, *Goiaisminas*®, *Parmalat*®, *CBL Alimentos S/A*® e *Lacellaticínios*®; CO – Controle; TE – Tempo de Exposição; TCA: 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 04, verifica-se que todas as amostras de leite longa vida analisadas, para o tempo de exposição 24 horas, induziram em número significativo alterações celulares no tecido meristemático das raízes.

Todavia, para todos os produtos lácteos analisados, o número de alterações observadas para o maior tempo de exposição foi estatisticamente menor aos resultados obtidos para os seus específicos tempo de exposição 24 horas. A redução das alterações celulares observada para o maior tempo de exposição corrobora aos resultados de proliferação celular apresentados na Tabela 03, uma

vez que, todas as amostras de leite reduziram drasticamente a divisão celular no tempo de exposição 48 horas.

Ainda, os produtos lácteos UHT analisados, no tempo de exposição 24 horas, induziram a formação de metáfases colchícinicas ou C-metáfases nas células dos meristemas, principalmente no tempo de exposição 24 horas (Tabela 02). A presença significativa de alteração de fuso mitótico demonstra que os alimentos avaliados foram genotóxicos a células das raízes. 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 assim o não alinhamento correto dos cromossomos na placa equatorial durante a mitose e impedindo que as células avançassem normalmente no ciclo celular.

Também foram observadas para o menor tempo de exposição anáfases com pontes, anáfases multipolares e telófases com pontes (Tabela 04). 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 decorrentes também do mau funcionamento do fuso ocasionado por agentes genotóxicos, que desencadeia uma distribuição irregular dos cromossomos durante a segregação das cromátides. Ademais, os leites ultrapasteurizados também induziram, em virtude das alterações de fuso mitóticos mencionadas, frequência expressiva de micronúcleos (Tabela 04). Fernandes et al. (2007) citam que tais alterações, caracterizadas pelas perdas de cromatina, são 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 a observada aqui pela ação dos leites longa vida são consideradas como um importante parâmetro de genotoxicidade e mutagenicidade de compostos ou substâncias de interesse. Assim, os dados obtidos por meio das células meristemáticas de raízes de *A. cepa* mostram que os alimentos

lácteos avaliados tem significativo potencial em ocasionar toxicidade em nível celular.

Este resultado indica que esses alimentos devam, com certa brevidade, ser avaliados em bioensaios fisiologicamente mais complexos, 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, quando observadas em frequência expressiva em tecidos animais tem grande 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 longa vida, assim como dos micro ingredientes adicionados a sua composição. No entanto, é importante mencionar que 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 (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 alimentos. 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 longa vida, o que não permite nem ao menos sugerir que os resultado obtidos na presente pesquisa ocorreram em decorrência das adulterações mencionadas.

5. CONCLUSÃO

Todas as amostras de leite analisadas causaram, de forma significativa, redução da divisão celular e alterações de fuso mitótico, caracterizando-se nesse estudo como citotóxicas, genotóxicas e mutagênicas, respectivamente.

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

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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.; Hernandez, L.C.; Faria, A.F.; Mercadante, A.Z. y Antunes, L.M.G. Comparativestudyof β caroteneandmicroencapsulated β carotene:Evaluationoftheirgenotoxicandantigenotoxic effects. FoodChemToxicol. 50: 1418-1424, 2012. Doi: 10.1016/j.fct.2012.02.030

ANVISA. **Regulamento técnico que aprova o uso de aditivos alimentares, estabelecendo Suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos 01 – leite e Produtos lácteos**. Disponível em www.anvisa.gov.br. Acesso em: 09 de Mai. de 2016.

BATISTA, M.A.; Gama, L.L.A.; Almeida, L.P.D.; Ornellas, C.B.D.; Santos, L.C.D. y Silvestre, M.P.C. Development, characterizationandsensoryanalysisoffoodpreparations for childrencontainingwheyproteinsoralbumin. Braz J FoodTechn. 18(1): 31-41, 2015. Doi: 10.1590/1981-6723.3214

BIANCHI, J.; Mantovani, M.S. y Marin-Morales, M.A. AnalysisofthegenotoxicpotentialofflowconcentrationsofMalathionontheAllium cepa cellsandrathepatomatissuiculture. J EnvironSci. 36: 102-111, 2015. Doi: 10.1016/j.jes.2015.03.034

BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Regimento Interno da Secretaria, aprovado pela Portaria Ministerial nº 574, de 8 de dezembro de 2000. Disponível em: <http://www.engetecno.com.br> Acesso em 22 de Jun. 2016.

CAMPOS-VENTURA, B.; Marin-Morales, M.A. y Desk S. MicronucleiandchromosomeaberrationsderivedfromtheactionofAtrazineherbicide in Allium cepa meristematiccells. SDRPJ Earth SciEnvironStu. 1(1): s/n, 2016.

CAMPANHOLA, C. **Elementos de apoio para boas práticas agropecuárias na produção leiteira**. Ed. 2.Brasília: Campo Pas, 2005.

CARITÁ, R.; MARIN-MORALES, M.A. Inductionofchromosomeaberrations in theAllium cepa test system causedbytheexposureofseedsto industrial effluentscontaminatedwith azo dyes. Chemosphere, Oxford, v.72, n.5, p.722-725, 2008.

CORCUERA, L.A.; Vettorazzi, A.; Arbillaga, L.; Pérez, N.; Gil, A.G.; Azqueta, A., De Cerain AL. Genotoxicity of Aflatoxin B1 and Ochratoxin A after simultaneous application of the in vivo micronucleus and comet assay. *Food Chem Toxicol.* 76: 16-124., 2015 Doi: doi:10.1016/j.fct.2014.12.003

DOMARESKI, J. L., Bandiera, N. S., Sato, R. T., & Casale, A. A. L. (2010). **Avaliação físico-química e microbiológica do leite UHT comercializado em três países do Mercosul (Brasil, Argentina e Paraguai).** *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 60(3), 261.

EIZENDEHER, L, B. *Divisão de Produtos: Físico-Química de Alimentos.* Paraná: LACEN (s/d)

ESTADÃO, C. **País deve manter crescimento de 3% na produção de leite em 2013.** 2013 Disponível em: <http://revistagloborural.globo.com/> Acesso em 01 de Mai. de 2016

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.

FIEMG. **Análises de rotina do leite na indústria**, 2010. Disponível em: < <http://www.fiemg.org.br>>. Acesso em: 12 de abril de 2016.

GIL, B. **Leite? Só direto da vaca.** Disponível em: <http://www.belagil.com> Acesso em 05 de Maio de 2016.

GOMES, K.M.S.; Oliveira, M.V.G.A.; Carvalho, F.R.S.; Menezes, C.C. y Peron, A.P. Citotoxicity of food dyes sunset yellow (E-110), bordeaux red (E-123), and tartrazine yellow (E-102) on *Allium cepa* L. root meristematic cells. *Food Sci Technol.* 33(1): 218-223, 2013.

GUERRA, M. y Souza, M.J. **Como observar os cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana.** Ribeirão Preto, SP, FUNPEC. 304p. 2002.

HERRERO, O.; Martín, J.P.; Freire, P.F.; López, L.C.; Peropadre, A. y Hazen, M.J. Toxicological evaluation of three contaminants of emerging concern by use of *Allium cepa* test. *Mut Res.* 743: 24-34, 2011.

INFORME TÉCNICO DE Nº 53, Disponível em: < www.Anvisa.gov.br> Acesso em: 12 de abril de 2016.

KOLLING, Deise J. **Padronização In Vitro da Técnica do Micronúcleo em Células vero para detecção de genotoxicidade.** Anais da 58ª Reunião Anual da SBPC - Florianópolis, SC - Julho/2006.

LACERDA, L.P.; Malaquias, G. y Peron, A.P. Antiproliferative action of aqueous extracts of *Hymenaeastigonocarpa* Mart. (Fabaceae) on the cell cycle of *Allium cepa* L. *An Acad Bras Ciên.* 89(3): 1147-1150, 2014.

LAY-ANG, Giorgia. "**A importância do leite para a saúde**"; Brasil Escola. Disponível em <<http://brasilecola.uol.com.br/saude/a-importancia-leite-para-saude.htm>>. Acesso em 06 de junho de 2016

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

LIMA, F. M.; BRUNINI, M. A.; MACIEL JÚNIOR, V. A.; MORANDIN, C. de S.; RIBEIRO, C. T. **Qualidade de leite UHT integral e desnatado, comercializado na cidade de São Joaquim da Barra, SP.** *Nucleus Animalium*, v.1, n.1, maio, 2009.

MAPA. Disponível em: <http://www.saocaetanoprojetos.com.br/pdf/LeiteUHT.pdf>
Acesso em : 04 de maio de 2016

MENDES, C. G. **Análises de leite**, 2006. Mossóro: Universidade Federal Ufersa. Apresentação, 87 slides.

Mirtem, G.C.; Victora, C.G. y Costa, R.L. **Fatores associados com conhecimento e preferências alimentares em crianças de 3-9 anos na cidade de Pelotas, Brasil.** *J Health Biol Sci.* 2013;1(1):27. Doi: 10.12662/2317-3076jhbs.v1i1.14.p27.2013

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

NEVES, E.S.; Ferreira, P.M.P.; Lima, L.H. y Peron, A.P. Action of aqueous extract 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

OLIVEIRA, M.V.A.; Alves, D.D.L.; Lima, L.H.G.M.; Castro, J.M.C., Peron, A.P. Cytotoxicity of erythrosine (E-127), brilliant blue (E-133) and red 40 (E-129) food dyes plant test system. *Acta Scien Biol.* 5(4): 557-562, 2013. Doi: 10.4025/actascibiols.v35i4.18419

Oliveira, M.A.; Silva, P.H.S.; Gois, F.N.; Carvalho, M.F. y Oliveira, I.A.R.R. **A importância do controle das condições microbiológicas e higiênicas sanitárias na prevenção de doenças transmitidas por alimentos-uma revisão de literatura.** *REC* 1(1): s/n., 2016.

Oliveira, J. M.; Castro, I.R.R.D.; Silva, G.B.; Venancio, S.I. y Saldiva, S.R.D.M. Assessing complementary feeding practices in the first two years of life: a proposal for indicators and a monitoring tool. *Cad Saúde Pública* 31(2): 377-394, 2015.

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.** FoodSciTechnol. 30(2):391-398, 2010.

PORTO, Arlindo. **Ministério da agricultura e do abastecimento.** Gabinete do ministro. Portaria nº 370, de 04 de setembro de 1997.

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.

REIS, J.S et al. **Fabricação de derivados do leite como uma Alternativa de renda ao produtor rural.** Universidade Federal de Lavras. Lavras- MG (s/d)

ROCHA, P. C. A., Cunha, L. M. M., Machado, A. V., & de Oliveira Costa, R. (2015). **Análises Microbiológicas do Leite e Tipos de Adulterações.** Revista Brasileira de Agro tecnologia, 5(1), 01-06.

SALES, I.M.S.; Peron, A.P. Toxicity of synthetic flavorings, nature identical and artificial, to hematopoietic tissue cells of rodents. Braz. J. Biol. No prelo.

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 stigonocarp bark on dividing cells. Braz J Biol. 76(2): 520 – 525, 2016. Doi: 10.1111/1471-0307.12227

SANTOS, B. et al. **Processo de industrialização do leite pasteurizado.** VII encontro de engenharia de produção agroindustrial, 2013.

Sasaki, Y.F.; Kawaguchi, S.; Kamaya, A.; Ohshita, M.; Kabasawa, K.; Iwama, K.; Taniguchi, K. y Tsuda, S. The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. Mut Res. 519(2): 103-119, 2002. Doi: 10.1016/S1383-5718(02)00128-6

SILVA, G. et al. Produção alimentícia. Ed. 1. Recife: EDUFRPE, 2012

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, BRASIL.** Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável.

SOUZA, Líria Alves De. **"Composição do leite UHT"; Brasil Escola.** Disponível em <<http://brasilecola.uol.com.br>>. Acesso em 09 de maio de 2016.

STUPPIELLO, Bruna. **Leite: benefícios, nutrientes e importância de consumir.** Disponível em: <http://www.minhavidacom.br>. Acesso em: 02 de Maio de 2016.

SU, Fernando. **Comportamento estrutural de formulações de gelado comestível com variações da base gordurosa**. Dissertação para obtenção do grau de mestre na Universidade de São Paulo. Pág 18; São Paulo, 2012

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 EnvironSci Health* 29(3): 250-275, 2011. Doi: 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.

TOMBINI, H.; DALLACOSTA, M. C.; BLEIL, R. A. T.; ROMAN, J. A. **Consumo de leite de vaca entre agricultores**. *Alim. Nutr.*, Araraquara, v. 23, n. 2, p. 267-274, abr./jun 2012

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

Valavanidis, A.; Vlachogianni, A.; Fiotakis, K. y Loridas, S. *Pulmonary oxidative stress, inflammation and cancer: respirable particulate matter, fibrous dusts and ozone as major causes of lung carcinogenesis through reactive oxygen species mechanisms*. *Intern J Environ Res Publ Health* 10(9): 3886-3907, 2013.

VALSECHI, Octávio A. **O leite e seus derivados**. Universidade Federal de São Carlos- Centro de Ciências Agrárias. Araras-SP, 2001

Van Eyk, A.D. *The effect of five artificial sweeteners on Caco-2, HT-29 and HEK-293 cells*. *Drug Chem Toxicol.* 38(3): 318-327, 2015.

VENTURINI, K. S.; SARCINELLI, M. F.; SILVIA, L. C. **Processamento do leite**. Universidade Estadual do Espírito Santo, Espírito Santo, 2007.

VIEIRA, G. A. **Programa de higienização de granjas leiteiras**. União Metropolitana de Educação e Cultura, Bahia, 2010.

Zaineddin, A.K.; Buck, K.; Vrieling, A.; Geinz, J.; Flesch-Janys, D.; Linseisen, J. y Chang-Claude, J. *The association between dietary lignans, phytoestrogen-rich foods, and fiber intake and postmenopausal breast cancer risk: a German case-control study*. *Nut Cancer* 64(5): 652-665, 2012.

ZANOLA, M. *Processamento do leite*, 2009. Disponível em: <<http://qualittas.com.br/uploads/documentos/Processamento%20do%20Leite%20UHT%20-%20Mariana%20Zanola.pdf>>. Acesso em: 03 de maio de 2016.

Zilifdar, F.; Alper-Hayta, S.; Yilmaz, S.; Kaplan-Özen, Ç.; Foto, E.; Aydoğan, Z.; Yildiz, I.; Aki, E.; Yalçın, I. y Diril, N. *Genotoxic potentials and eukaryotic DNA topoisomerase I inhibitory effects of some benzoxazine derivatives*. *Med Chem Res.* 23(1): 480-486, 2014.



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

Identificação do Tipo de Documento

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

Eu, Bruna Leina Carvalho,
 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
Potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico de
leites UHT do tipo integral.
 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 09 de junho de 2017.

Bruna Leina Carvalho
 Assinatura

Bruna Leina Carvalho
 Assinatura