

032 - USO DA TECNOLOGIA DE ELETROFORESE MICROFLUÍDICA “LAB-ON-A-CHIP” PARA ANÁLISES DAS PROTEÍNAS DO LEITE EM FRAUDES DE LEITE CAPRINO COM LEITE BOVINO¹**THE USE OF LAB-ON-A-CHIP MICROFLUIDIC ELECTROPHORESIS TECHNOLOGY FOR MILK PROTEIN ANALYSIS FROM CAPRINE/BOVINE MILK MIXTURES ADULTERATIONS**Alessa Siqueira de Oliveira dos Santos²Vaneida Maria Meurer³Débora Cristina Jesus⁴Isabella Silvestre Barreto Pinto⁵Antônio Silvio do Egito⁶Marco Antônio Moreira Furtado⁷Marta Fonseca Martins⁸

Introdução: A substituição do leite caprino pelo leite bovino é uma prática fraudulenta quando não especificada para o consumidor. A fraude no leite de cabra pode causar grandes danos à saúde de crianças em tratamentos de alergia ao leite de vaca. Nos últimos anos diferentes métodos de análise das frações proteicas foram desenvolvidos e são utilizados para identificação de leite de diferentes espécies em produtos lácteos. O objetivo do trabalho foi avaliar a tecnologia da eletroforese microfluídica “lab-on-a-chip” para a detecção da fraude do leite de cabra pela adição de leite de vaca a partir do perfil eletroforético das proteínas do leite caprino e bovino. A vantagem deste método quando comparado a técnica convencional é a otimização das análises somado a não manipulação de reagentes tóxicos.

Material e Métodos: O leite caprino foi coletado no Capril de criação de raça Saanen e o leite bovino no Complexo de Gado Puro do Campo Experimental José Henrique Bruschi da Embrapa Gado de Leite (Coronel Pacheco - MG). As simulações de fraude de leite caprino com adição de leite bovino foram preparadas na proporção crescente de 0; 2; 4; 6; 8; 10; 12; 15; 20; 50 e 100 v/v. A eletroforese microfluídica foi realizada no equipamento da Agilent 2100 Bioanalyzer utilizando o kit “Protein 80”. A metodologia foi realizada sobre condições redutoras como descrito pelo fabricante com adaptações de protocolo para separação de proteínas do leite. Para essa análise utilizou-se amostras fraudadas de leite fluído cru.

Resultados e Discussão: Com base nos resultados evidenciados na Figura 1A e B, o método permitiu uma rápida separação das principais caseínas do leite caprino e bovino. O eletroferograma do leite caprino mostrou um padrão de proteínas diferente do leite bovino.

¹Auxílio de Pesquisa Convênio Embrapa/Monsanto

²Bolsista de Pós-Doutorado CAPES - Embrapa Gado de Leite/ Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF). E-mail: alessa.siqueira@gmail.com

³Estudante de Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivado - UFJF. E-mail: vaneida.meurer@ufjf.edu.br

⁴Aluna de Graduação em Zootecnia - Universidade Federal do Paraná. E-mail: deboradcj@zootecnista.com.br

⁵Aluna de Doutorado em Ciências Biológicas - UFJF. E-mail: isabellasbp@gmail.com

⁶Pesquisador Embrapa Caprinos e Ovinos- Sobral - CE. E-mail: antoniosilvio.egito@embrapa.br

⁷Professor Associado - UFJF. E-mail: marcoantoniofurtado@yahoo.com.br

⁸Pesquisador da Embrapa Gado de Leite - MG. E-mail: marta.martins@embrapa.br

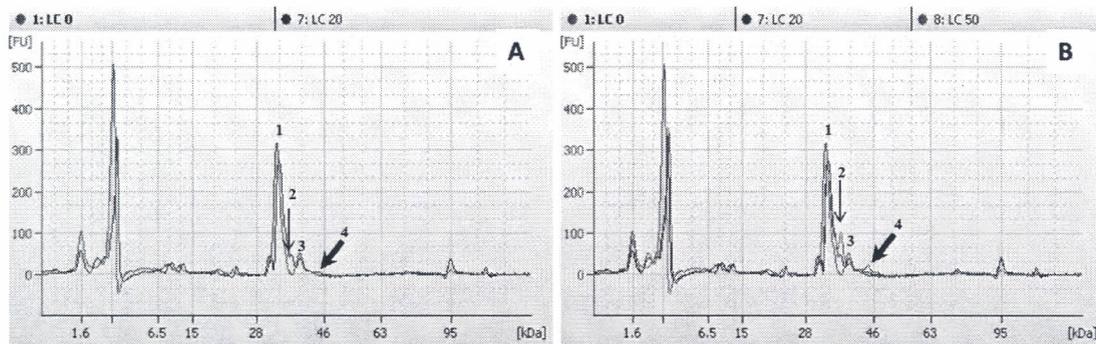


Figura 1. Eletroferogramas evidenciando o perfil densitométrico no método *lab-on-a-chip*. (A): leite caprino puro (vermelho), leite caprino com 20% de adição de leite bovino (azul) (B): Adição de 50% (verde) sobreposição da β -CN caprino com bovino; 2. α -CN bovina (seta fina); 3. α -CN bovina; 4. κ -CN bovino (seta grossa).

Na Fig.1A, a linha vermelha representa o leite de cabra puro e a linha azul representa o leite caprino adicionado de 20% de leite bovino, sendo que, o pico 1 que indica a sobreposição da β -CN caprina e bovina, maior proteína encontrada no leite caprino, a β -CN representa 1/3 do total das caseínas bovinas e 2/3 das caseínas caprinas, o pico 2 indica a α -CN bovina, o pico 3 a α -CN caprina e o pico 4 a κ -CN do leite bovino. Na Fig.1B, a linha verde representa o leite caprino adicionado de 50% de leite bovino. Analisando a sobreposição dos eletroferogramas nas fig.1A, B, a mistura de leite de diferentes espécies foi determinada pelo aparecimento do pico 2 (seta fina) que representa a α -CN do leite da vaca com 37,5 kDa, a qual migra primeiro que a α -CN do leite caprino com 39,2 kDa e o pico 4 (seta grossa) que evidencia a κ -CN do leite bovino, a qual apresentou massa molecular maior (Tabela 1) do que descrita pela técnica de eletroforese convencional que é relatada de 19-24 kDa. A κ -CN do leite caprino não foi demonstrada, fato que é explicado pelo fabricante diante da característica das caseínas de formarem agregados, ou ainda outras propriedades químicas como glicosilação, padrão de fosforilação ou hidrofobicidade que influencia na estrutura da proteína e na interação com o *gel matrix* durante a separação. A β -caseína do leite bovino e caprino migraram na mesma posição (sobreposição dos picos), por isso apresentaram massa molecular semelhante (Tabela 1).

Tabela 1. Leite de cabra e vaca puro. Massa molecular (kDa) e tempo de corrida (segundos) das caseínas determinados pela eletroforese microfluidica (Bioanalyzer)

Caseínas	Cabra (KDa)	Corrida (seg)	Vaca (kDa)	Corrida (seg)
β -CN	33,2	29,87	33,8	30,04
α -CN	39,2	31,81	37,5	31,25
κ -CN	---		44,8	33,62

Conclusões: A tecnologia de eletroforese microfluidica “lab-on-a-chip” identificou fraude a partir da adição de 20% de leite de vaca em leite caprino.