

DETECÇÃO DA PRESENÇA DE LEITE DE VACA ADICIONADO A LEITE DE CABRA POR INTERMÉDIO DE ELETROFORESE “LAB-ON-A-CHIP”

Marco Antônio Moreira Furtado¹, Fabiano Freire Costa², Isabella Silvestre Barreto Pinto², Marta Fonseca Martins Guimarães², Maria Aparecida Vasconcelos Paiva e Brito², Igor Moura de Paiva³

¹Professor Associado da Faculdade de Farmácia da UFJF; ²Embrapa Gado de Leite;

³Faculdade de Farmácia/UFJF. marcoantoniofurtado@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

Segundo vários autores, o leite de cabra e o leite de vaca apresentam características físico-químicas e de composição bastante similares, o que dificulta a detecção de adulterações pela aplicação de métodos de rotina (GOMES et al., 1997, FURTADO & WOLFSCHOON-POMBO, 1978). Entretanto, algumas características específicas de frações protéicas e lipídicas podem ser exploradas para investigar uma eventual mistura. Seguindo esse caminho, diversas técnicas analíticas foram desenvolvidas, destacando-se aquelas baseadas nas análises das frações protéicas utilizando principalmente métodos cromatográficos, eletroforéticos, imunológicos e reação em cadeia da polimerase (PCR) (EGITO et al., 2006; PEREIRA et al., 2003).

Na legislação brasileira, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite de Cabra (BRASIL, 2000) descreve algumas características físico-químicas do leite de cabra e os métodos de análise recomendados para sua determinação. Entretanto, e apesar de citar que a adição de leite de outras espécies constitui fraude, não apresenta nenhum parâmetro de composição ou método analítico recomendado para esta determinação.

Segundo Molina et al. (1999), há necessidade de métodos rápidos e eficientes que possam ser usados para controle de rotina do leite recebido pela indústria para detectar possíveis adições de leite de vaca ao de cabra ou ovelha.

A eletroforese microfluídica, microchip ou “lab-on-a-chip” é uma nova tecnologia denominada que vem sendo empregada com sucesso na separação e quantificação de frações protéicas (WU et al., 2008). Trata-se de uma alternativa rápida e com diversas vantagens sobre os métodos atuais. A sua aplicabilidade em relação às proteínas lácteas foi recentemente demonstrada por Anema (2009), entretanto a mesma ainda não havia sido testada com propósito de detectar a presença de leite de vaca adicionado ao leite de cabra. O objetivo do trabalho foi testar esta nova tecnologia na identificação de fraude de leite de cabra pela adição de leite de vaca.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de leite cru de cabra e de vaca foram obtidas na fazenda Santa Clara e no rebanho experimental da Embrapa Gado de Leite (Coronel Pacheco, MG). Foram analisadas as amostras originais, e misturas preparadas em duplicatas, com níveis crescentes de adição de leite de vaca ao leite de cabra (2%, 5%, e 10%). Padrões de proteínas do leite de grau analítico foram adquiridas da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Para separação e quantificação das frações protéicas das amostras foi utilizado o equipamento Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, Waldbronn, Alemanha) no Laboratório de Genética Molecular da Embrapa Gado de Leite, e o Protein 80 kit (Agilent), seguindo a metodologia descrita por Anema (2009).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os eletroferomas é possível observar uma diferença no tempo de migração das moléculas de caseínas entre as amostras de leite bovino e caprino (**Figura**

1). Quando são comparados os sinais obtidos para as amostras em que houve a mistura de 2%, 5% e 10% do leite de vaca no de cabra, respectivamente é possível também observar variação no tempo de migração (**Figura 2**). De acordo com a porcentagem da mistura, foram detectados deslocamentos dos sinais de migração das proteínas em direção ao do leite de vaca. De maneira diferente dos padrões empregados, as moléculas de caseínas do leite não migraram separadamente. Assim, não foi observado correlação entre os sinais obtidos, para as amostras de leite de vaca e de cabra e de suas três amostras misturadas com os padrões analisados. Este fato pode ser explicado devido às necessidades de adequação da nova tecnologia por meio de protocolos diferenciados de acordo com a sua aplicação. Comparando os resultados apresentados com os encontrados por Anema (2009) verificou-se que é possível reproduzir com confiabilidade a separação e a quantificação dos padrões α -caseína, β -caseína, α -lactoalbumina e β -lactoglobulina presentes no leite (**Figura 3**). As frações foram separadas com alta resolução e quantificadas com boa reprodutibilidade entre os chips e desvio padrão aceitável ($\sim 10\%$).

CONCLUSÃO

Considerando a necessidade de detecção de fraude de leite de cabra pela adição de leite bovino, e a necessidade de obtenção de resultados rápidos e confiáveis para este tipo de problema, conclui-se que esta nova tecnologia vai ao encontro a esta necessidade. Os resultados aqui obtidos, ainda que de forma preliminar, demonstram o grande potencial da eletroforese em chip na detecção da adição de leite de vaca ao leite de cabra.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANEMA, S. G. The use of “lab-on-a-chip” microfluidic SDS electrophoresis technology for the separation and quantification of milk proteins. *International Dairy Journal*. v.19, p. 198–204, 2009.
- BRASIL. Leis, decretos, etc. Instrução Normativa N° 37, da Secretaria de Defesa Agropecuária, do Ministério da Agricultura e do Abastecimento: Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite de Cabra. (31/10/2000).
- EGITO, A.S. et al. Método eletroforético rápido para detecção da adulteração do leite caprino com leite bovino. *Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia*, Belo Horizonte, v. 58, n. 5, Oct. 2006.
- FURTADO, M. M.; WOLFSCHOON-POMBO, A. F. Leite de cabra: composição e industrialização. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, v.33, n.198, p.15-17, 1978.
- GOMES, M. I. F. V.; BONASSI, I. A.; ROÇA, R. O. Características químicas, microbiológicas e sensoriais de leite de cabra congelado. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.17, n.2, p.111-114, 1997.
- MOLINA, E.; MARTIN-ÁLVAREZ, P. J.; RAMOS, M. Analysis of cows', ewes' and goats' milk mixtures by capillary electrophoresis: quantification by multivariate regression analysis. *International Dairy Journal*, v. 9, p. 99-105, 1999.
- PEREIRA, D. B. C.; FURTADO, M. A. M.; ABREU, L.R. ; ARCURI, E. F.; Utilização de técnicas de eletroforese em gel de poliacrilamida na identificação da adição de leite de vaca ao leite de cabra. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora - MG*, v. 58, n. 333, p. 1-9, 2003.
- WU, D., QIN, J., LIN, B., Electrophoretic separations on microfluidic chips. *Journal of Chromatography A*. v.1184, p.542–559, 2008.

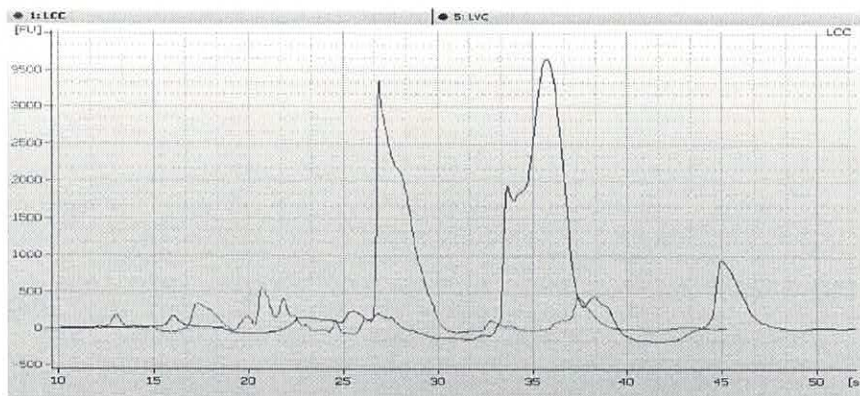


Figura 1. Eletroferogramas obtidos em função do tempo de corrida pela análise de leite de cabra (Gráfico A – linha vermelha) e leite bovino (Gráfico A – linha azul).

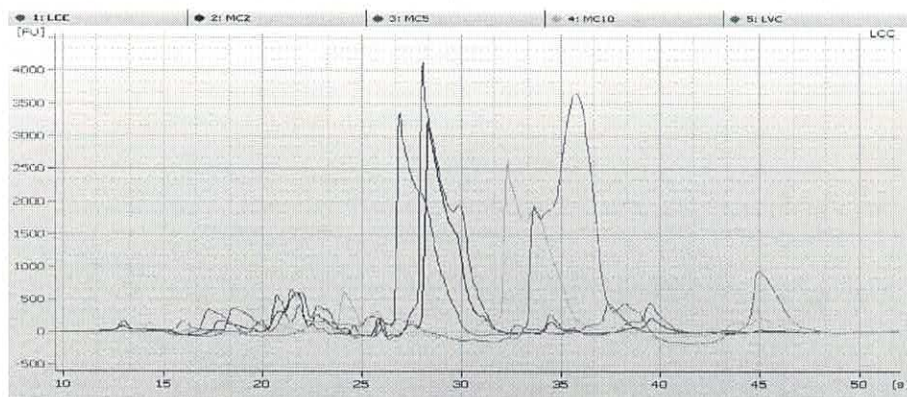


Figura 2. Eletroferogramas obtidos pela comparação entre os gráficos referentes a adição de 2%, 5% e 10% de leite bovino ao leite de cabra, respectivamente (linha vermelha = leite de cabra puro, linha azul escuro = 2% de leite bovino, linha verde = 5% de leite bovino, linha azul claro = 10% de leite bovino, linha rosa = leite bovino puro).

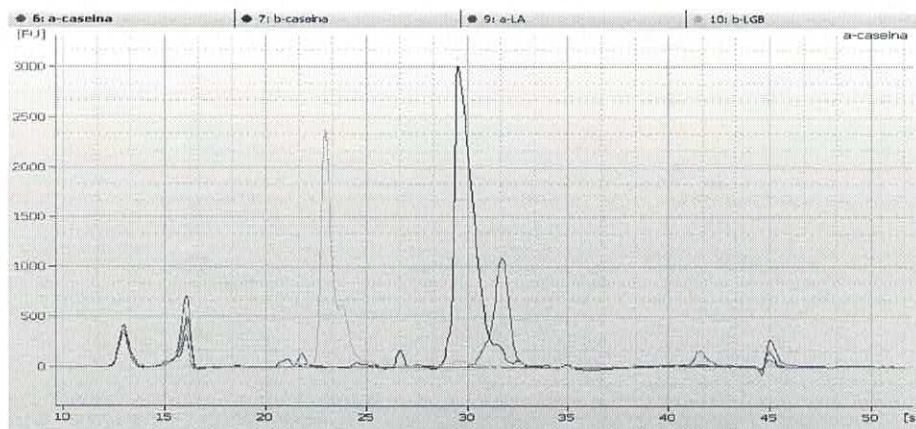


Figura 3. Eletroferogramas dos padrões de proteínas individuais do soro e caseínas do leite (Gráfico C – linha vermelha = α -caseína, linha azul escuro = β -caseína, linha verde = α -lactoalbumina e linha azul claro = β -lactoglobulina).

This document was created with Win2PDF available at <http://www.win2pdf.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.
This page will not be added after purchasing Win2PDF.



**IV CONGRESSO
BRASILEIRO DE
QUALIDADE DO LEITE**

22 a 24 de
Setembro 2010
Florianópolis - SC



PROMOÇÃO



REALIZAÇÃO



Centro de Ciências
Agroveterinárias
Campus III - Lages