

4611  
P. 154

# UTILIZAÇÃO DE ELETROFORESE “LAB-ON-A-CHIP” PARA DETECÇÃO DE ADULTERAÇÃO DE LEITE COM SORO DE QUEIJO

Marco Antônio Moreira Furtado<sup>1</sup>, Fabiano Freire Costa<sup>2</sup>, Isabella Silvestre Barreto Pinto<sup>2</sup>, Daniel Arantes Pereira<sup>3</sup>, Marta Fonseca Martins Guimarães<sup>2</sup>, Maria Aparecida Vasconcelos Paiva e Brito<sup>2</sup>, Igor Moura de Paiva<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Professor Associado da Faculdade de Farmácia da UFJF; <sup>2</sup>Embrapa Gado de Leite; <sup>3</sup>Epamig / ILCT; <sup>4</sup>Faculdade de Farmácia/UFJF. [marcoantoniofurtado@yahoo.com.br](mailto:marcoantoniofurtado@yahoo.com.br)

## INTRODUÇÃO

O leite sempre foi objeto de fraude, seja pela simples adição de água ou pela incorporação de conservadores, reconstituintes, alcalinos, antibióticos e diversas misturas pré-balanceadas envolvendo principalmente soro de queijo. O limite de detecção destas fraudes, cada vez mais elaboradas, tem sido um desafio para a comunidade científica. Devido sua origem, a composição do soro é bastante semelhante à do leite, fato que estimula sua incorporação ao leite. (FURTADO e VILELA, 1996).

A detecção e quantificação de caseínomacropeptídeo (CMP) é o método preconizado pela legislação brasileira (BRASIL, 2006) para a detecção desta fraude. Entretanto, a validade de seus resultados tem sido questionada frente a situações onde a presença do CMP em elevadas concentrações no leite não tem origem na fraude. Proteases termoestáveis produzidas por microrganismos psicrotróficos podem também ser responsáveis por este fenômeno, sendo este fato relatado em diversos trabalhos publicados no país e no exterior. Os recursos analíticos empregados incluem o método oficial (HPLC) ou outros mais sofisticados, especialmente eletroforese capilar e espectrometria de massas (RECIO et al., 1996 e 2000; MAGALHÃES, 2008 e OLIVEIRA, 2009).

A implementação da Instrução Normativa 51 (BRASIL, 2002), que visa à melhoria da qualidade do leite cru obtido no país, instrui sobre o resfriamento prévio do leite na fazenda anterior ao processamento. Esse processo, que facilita o crescimento da microbiota psicotrófica (que tem atividade proteolítica), aumentando a probabilidade de haver falhas na detecção da fraude.

Recentemente vem sendo aplicada uma nova metodologia para análise de proteínas, denominada eletroforese microfluídica, microchip ou “lab-on-a-chip”. Especificamente com relação às proteínas lácteas, esta poderosa ferramenta analítica pode ser considerada como uma alternativa rápida para a separação e quantificação das mesmas, já tendo sido demonstrado suas vantagens quando comparada à eletroforese convencional em gel de poliacrilamida (ANEMA, 2009) e também eletroforese capilar (BUTIKOFER et al., 2006). Entretanto, a mesma ainda não havia sido testada para o fim específico de detecção da fraude em leite de consumo com adição de soro de queijo.

## MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de leite pasteurizado e de soro de queijo e suas misturas (5%, 10%, 15% e 25%) foram preparadas (em duplicata) nas dependências (laboratórios) do ILCT/EPAMIG e da Faculdade de Farmácia da UFJF. Padrões de proteínas de leite purificadas, grau analítico adquiridas da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA), foram utilizadas como referência. Foi utilizado o equipamento Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany), disponível no Laboratório de Genética Molecular da Embrapa Gado de Leite, e os respectivos kits para identificação e quantificação de proteínas (Protein 80 kit) e a metodologia descrita por Anema (2009)

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

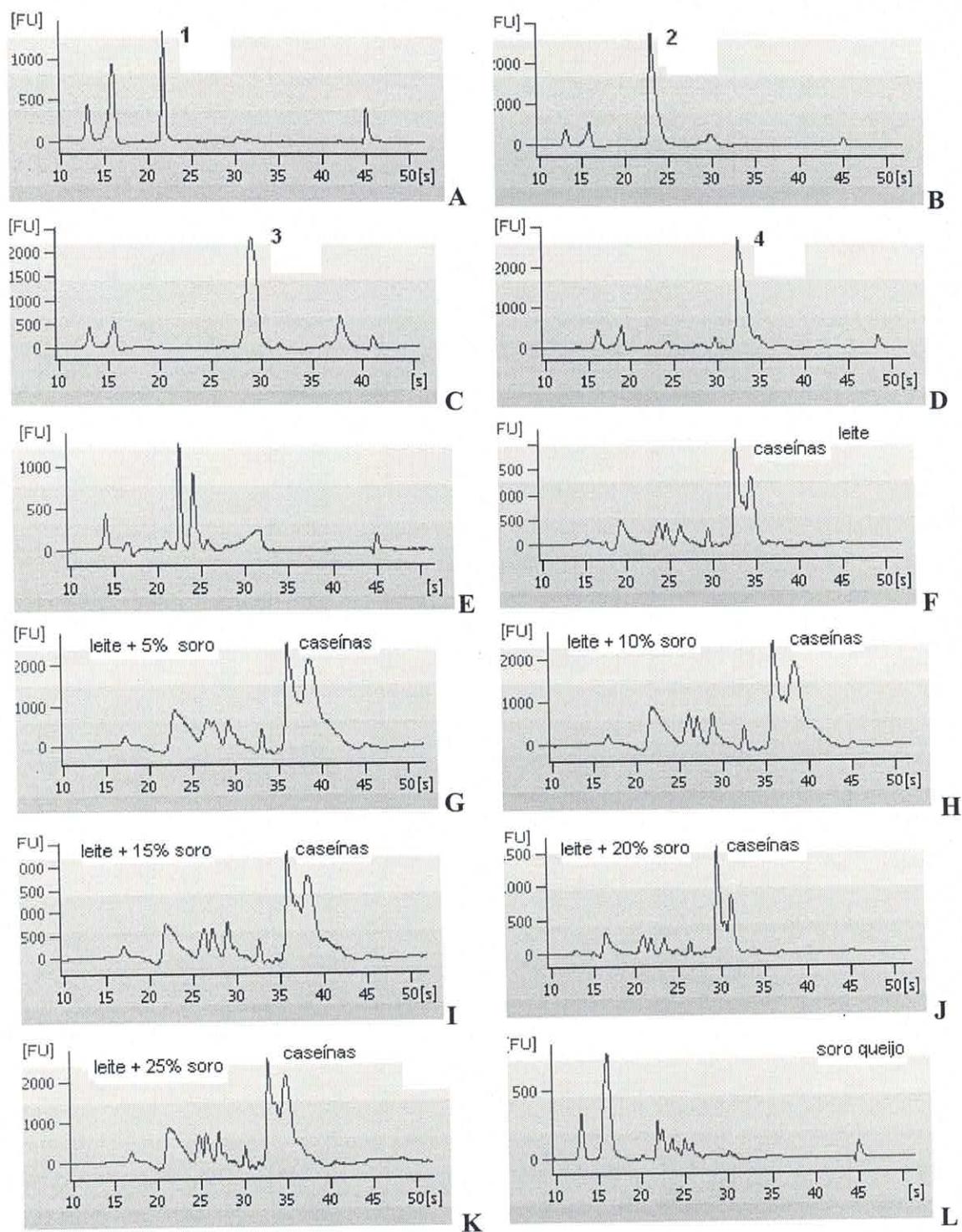
De acordo com os resultados é possível observar variação entre os eletroferogramas do leite puro e soro de leite (**Figura 1: F e L**, respectivamente). Esta variação encontrada nos eletroferogramas do leite puro e do soro de queijo se deve ao fato da ausência das caseínas no soro. Entretanto não foi observada variação considerável entre os valores de concentração e porcentagem nas amostras analisadas respectivos ao leite adicionado de 5, 10, 15, 20 e 25% de soro de leite (**Figura 1: G, H, I, J e K**). Pode-se observar também a presença de um pico característico do CMP (**Figura 1: E**) na amostra de soro (**Figura 1: L**) e também nas amostras fraudadas, embora não tenha ocorrido nenhuma modificação ou mesmo estabelecido nenhuma correlação com o nível de adição do soro de queijo.

## CONCLUSÃO

Os resultados sugerem que a técnica, apesar de detectar a presença do CMP nas amostras analisadas não permitiu determinar a sua concentração como indicativo de fraude no leite. Os eletroferogramas mostraram claramente a presença das caseínas nas amostras de leite e sua ausência nas de soro. Considerando que a concentração de caseína tenderá diminuir com a adição de soro, este poderia ser um parâmetro a ser considerado nas suspeitas de fraude do leite pela adição de soro. Novos estudos serão necessários para melhor avaliação da aplicação da metodologia lan-on-a-chip sobre fraude do leite cru pela adição de soro.

## 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. Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. Aprova os Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do Leite tipo B, do Leite tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. *Diário Oficial da União, Brasília, DF, 20 set. 2002, Seção 1, Página 13*.
- BRASIL. Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Oficializar os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários. *Diário Oficial da União, Brasília, DF, dez. 2006. Seção 1, p. 8-30*.
- BUTIKOFER, U., MEYER, J., REHBERGER, B. Determination of the percentage of alactalbumin and b-lactoglobulin of total milk protein in raw and heat treated skim milk. *Milchwissenschaft* v.61, p.263–266. 2006.
- FURTADO, M.A.M. e VILELA, M.A.P. Fraudes em leite de consumo: Limites de detecção *Revista Leite e Derivados*, n. 29. Julho/Agosto, 1996.
- MAGALHÃES, M.A. Determinação de fraude de leite com soro de leite pela análise de CMP e pseudo-CMP por cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa com detecção por espectrometria de massa. UFV, Viçosa, MG 2008. 74p. (Dissertação - Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos).
- OLIVEIRA, G. B. Detecção da Adição Fraudulenta de Soro de Queijo em Leite: Interferência da Atividade de Proteases Bacterianas. UFFRJ, Rio de Janeiro, RJ. 61p. 2009. (Dissertação - Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos).
- RECIO, I.; LÓPEZ-FANDIÑO, R. ; OLANO, A.; OLIEMAN C.; RAMOS, M. Study of the formation of caseinomacropetides in stored ultra-high-temperature treated milk by capillary electrophoresis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 44, p. 3845-3848, 1996.
- RECIO, I. ; GARCÍA-RISCO, M. R. ; RAMOS, M. ; LÓPEZ-FANDIÑO, R. Characterization of peptides produced by the action of psychrotrophic on  $\kappa$ -casein. *Journal of Dairy Research*, v.67, n.4, p.625-630, 2000.



**Figura 1.** Eletroferogramas obtidos em função do tempo de corrida pela análise de padrões de proteínas individuais do leite (A =  $\alpha$ -lactalbumina; B =  $\beta$ -lactoglobulina; C =  $\alpha$ -caseína; D =  $\beta$ -caseína e E = caseínomacropéptido/CMP) e as amostras analisadas (F, G, H, I, J, K e L).

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**

