



## DETECÇÃO DA ADULTERAÇÃO DO LEITE CAPRINO COM LEITE BOVINO PELO METODO DE GEL DE UREIA-POLIACRILAMIDA.

## DETECTION OF GOAT MILK ADULTERATION WITH BOVINE MILK USING METHOD OF UREA POLYACRYLAMIDE GEL.

Vaneida Maria MEURER<sup>1</sup>, Alessa Siqueira de Oliveira dos SANTOS<sup>2</sup>,  
Marissa Justi CANCELLA<sup>3</sup>, Cristiano Amancio Vieira BORGES<sup>4</sup>, Antonio Silvio DO  
EGITO<sup>5</sup>, Marco Antônio Moreira FURTADO<sup>6</sup>, Marta Fonseca MARTINS<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Estudante de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados - UFJF

<sup>2</sup>Estudante de Pós-Doutorado - Embrapa Gado de Leite/UFJF

<sup>3</sup>Estudante de Graduação em Farmácia - UFJF

<sup>4</sup>Analista da Embrapa Gado de Leite - MG

<sup>5</sup>Embrapa Caprinos e Ovinos- Sobral - CE

<sup>6</sup>Professor Associado - UFJF

<sup>7</sup>Pesquisador da Embrapa Gado de Leite - MG

Palavras-chave: Leite caprino; Adulteração; Análise de proteínas; uréia-PAGE;

### Introdução

A substituição do leite caprino pelo leite bovino é uma prática fraudulenta realizada pelo produtor e pela indústria de laticínios. As oscilações sazonais e a menor produção do leite caprino, em conjunto com o preço mais baixo do leite bovino são os principais motivos para esta adulteração. Assim determinar a qualidade do leite caprino tem grande importância, por razões econômica e de saúde pública, pois é utilizado em substituição ao leite de vaca por lactantes, crianças e idosos que apresentam problemas de digestibilidade e alergia (PESIC et al., 2011).

As caseínas representam cerca de 80% do nitrogênio total do leite e consiste em quatro frações  $\alpha_{s1}$ -caseína,  $\alpha_{s2}$ -caseína,  $\beta$ -caseína e  $\kappa$ -caseína. As soroproteínas representam cerca de 20% do nitrogênio total do leite sendo constituídas principalmente pela  $\alpha$ -lactalbumina,  $\beta$ -lactoglobulina, soroalbumina e imunoglobulinas em menores quantidades (SGARBIERI, 2005).

Nos últimos anos diferentes métodos de análise das frações proteicas (técnica eletroforéticas, imunológicas e reações de polimerase PCR) foram desenvolvidos e são utilizados para identificação de leites de diferentes espécies e produtos lácteos (VELOSO et al., 2002). Entre as técnicas eletroforéticas, o gel de poliacrilamida com ureia (uréia-PAGE) apresenta melhor mobilidade eletroforética das frações proteicas. A vantagem do método de uréia-PAGE comparado com outros métodos de gel de poliacrilamida é a nitidez da identificação da  $\alpha_{s1}$ -caseína bovina com migração mais rápida no leite bovino do que a  $\alpha_{s1}$ -caseína do leite caprino (EGITO et al., 2006).

Segundo a IN 37/2000-MAPA, a mistura do leite de espécies diferentes é um tipo de fraude/adulteração, por isso, o presente trabalho se propôs a avaliar por meio da técnica de uréia-PAGE a simulação de fraude em proporções crescentes (0; 2; 4; 6; 8; 10; 50 e 100% v/v) de adulteração de leite caprino com adição de leite bovino para avaliar o perfil eletroforético das proteínas do leite caprino e bovino.

### Materiais e métodos

O leite caprino foi coletado em um Capril de criação de raça Saanen localizado na Zona da Mata de Minas Gerais e o leite bovino no Complexo de Gado Puro do Campo Experimental José Henrique Bruschi da Embrapa Gado de Leite (Coronel Pacheco - MG). Foram preparadas simulações de fraude de leite caprino com

SP 6081  
P. 200

adição de leite bovino na proporção crescente de 0%; 2%; 4%; 6%; 8%; 10%; 50% e 100% v/v.

Para avaliação do perfil eletroforético pelo método ureia-PAGE das proteínas realizou a eletroforese em condições redutoras com ureia em sistema de eletroforese vertical (mod. Z352802-1EA Sigma-Aldrich St. Louis, MO, USA). O protocolo seguiu o modelo modificado por Pereira, 2003 com gel de empilhamento na concentração de 4% e gel de separação a 10%. Em seguida, 30  $\mu$ L das amostras foram dissolvidas em 1 mL do tampão contendo 0,75% de TRIS-HCl, 49% de ureia, 0,7% de  $\beta$ -mercaptoetanol, 0,15% de azul de bromofenol em água destilada seguidas de aquecimento e centrifugação. Foram aplicados 30  $\mu$ L de amostras no gel para análise. A fonte foi regulada para a corrida no gel de empilhamento em 250 V e no gel de separação em 280 V por 3 horas. Após a corrida, o gel foi corado em solução de 0,1% de azul de Comassie R-250 com 50% de etanol e 2% de ácido tricloroacético durante a noite e a descoloração foi feita em solução com 25% de metanol, 10% de ácido acético, 65% de água destilada. Os géis foram escaneados em escaner convencional e analisado no programa ImageQuant (GE Healthcare Life Science). Todas as amostras de simulações de fraudes foram aplicadas em triplicada com três repetições de géis. A análise estatística foi realizada pelo teste de Dunnett com nível de significância de 5%.

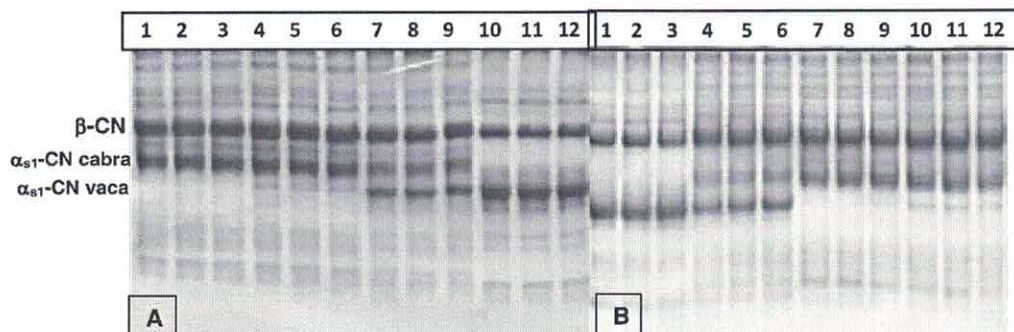
### Resultados e Discussão

Os géis obtidos pela técnica ureia-PAGE apresentaram resultados satisfatórios, sendo avaliados por comparação entre os géis de diferentes proporções de fraude. O perfil eletroforético das caseínas do leite de cabra foi diferente do perfil eletroforético das caseínas do leite de vaca ao analisarmos as imagens dos géis (Figuras 1 e 2). Foi possível observar uma diferença na migração eletroforética das  $\alpha_{s1}$ -caseínas da cabra e da vaca, onde a proteína do leite de cabra teve uma migração eletroforética mais lenta do que a proteína do leite de vaca. Egito et al. (2006) relataram que as caseínas do leite de cabra apresentam um perfil eletroforético mais complexo do que o leite humano, de vaca e de camela. A caseína do leite caprino apresenta menor intensidade de carga negativa que a bovina, o que pode justificar a diferença de mobilidade das caseínas caprinas em relação às bovinas no gel de eletroforese em condições alcalinas (PEREIRA, 2003).

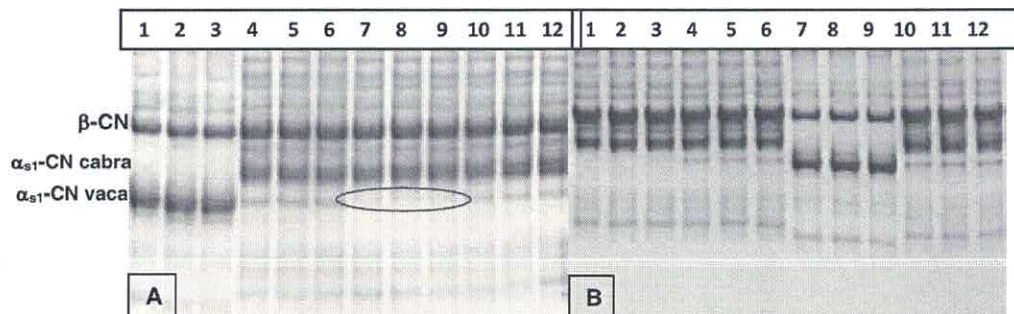
A identificação de fraude em amostras de misturas de leite fluido pode ser detectada a partir da adição de 2% de leite bovino (Figura 2A), quando apareceu uma banda com mobilidade eletroforética similar a  $\alpha_{s1}$ -caseína do leite de vaca puro (Figura 2A, círculo). Ao analisar o gel no programa específico o dado Rf referente a migração da banda foi Rf=0,34 para a  $\alpha_{s1}$ -caseína caprina e Rf=0,38 para a  $\alpha_{s1}$ -caseína bovina. VELOSO et al. (2002) utilizaram a metodologia de ureia-PAGE em misturas de leite ovino com bovino e evidenciou fraude em porcentagem igual e acima de 5% de adição, o mesmo aconteceu quando analisou misturas de leite caprino com leite bovino. Já EGITO et al. (2006), com a mesma técnica, evidenciaram resultados similares ao deste trabalho ao detectar a adição de 2,5% de leite bovino, mas em amostras de caseínas.

A banda referente a  $\alpha_{s1}$ -caseína bovina aumentou a intensidade de cor com aumento da concentração de leite bovino adicionado ao leite caprino. Assim a identificação das misturas de leite de espécie bovino com caprina pode ser realizada pelo aparecimento ou não da banda com mobilidade eletroforética mais rápida, característica da  $\alpha_{s1}$ -caseína do leite de vaca. Através do teste de Dunnett por comparações múltiplas com nível de confiança de 90% para  $\alpha_{s1}$ -caseína caprina foi possível detectar uma diferença entre as médias de expressão das

proteínas totais (%) a partir do nível de 10%, enquanto que para a  $\alpha_{s1}$ -caseína bovina foi a partir do nível de 50%.



**Figura 1.** Eletroforese em gel de poliacrilamida ureia-PAGE comparando o perfil proteico do leite caprino com adição de leite bovino. **A.** 1,2,3 leite de cabra cru 0%; 4,5,6- adição de 6%, 7,8,9-adição de 50%; 10,11,12 leite de vaca cru 100%. **B.** 1,2,3 leite de vaca cru 100%, 4,5,6-adição de 50%; 7,8,9 leite de cabra cru 0%; 10,11,12- adição de 4%.



**Figura 2.** Eletroforese em gel de poliacrilamida ureia-PAGE comparando o perfil proteico do leite caprino com adição de leite bovino. **A.** 1,2,3 leite de vaca cru 100%; 4,5,6- adição de 10%, 7,8,9-adição de 2%; 10,11,12-adição de 6%. **B.** 1,2,3 leite de cabra cru 0%, 4,5,6-adição de 6%; 7,8,9 leite de vaca cru 100%; 10,11,12- adição de 10%.

#### Conclusão:

A partir dos resultados obtidos, a técnica de ureia-PAGE mostrou ser uma metodologia eficiente e precisa na detecção de adulteração de leite de cabra com adição de leite de vaca em amostras de fraude de leite fluido. Considerando que no Brasil a importância da autenticidade dos alimentos está cada vez mais relacionada com a saúde humana. A técnica demonstrou ser rápida, de baixo custo e segura e como não existe método oficial para detectar esse tipo de fraude, a mesma pode auxiliar órgãos fiscalizadores para análise de fraude de leites e derivados das espécies relacionadas.

### Referências Bibliográfica

BRASIL-Instrução Normativa Nº 37, de 31 de outubro de 2000, **MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E DO ABASTECIMENTO-MAPA**. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite de Cabra.

EGITO, A.S., ROSINHA, G.M.S., LAGUNA, L.E., MICLO, L., GIRARDETH, J.M., GAILLARD, J.L. **Método eletroforético rápido para detecção da adulteração do leite caprino com leite bovino**. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., 58, 932-939, 2006.

PEREIRA, D.B.C. **Utilização de técnicas de eletroforese em gel de poliacrilamida na identificação da adição de leite de vaca ao leite de cabra**. Tese para obtenção do grau de Mestre - Universidade Federal de Lavras, 2003.

PESIC, M., BARAC, W., VRVIC., RISTIC, N., MACEJ, O., STANOJEVI, S. **Qualitative and quantitative analysis of bovine milk adulteration in caprine/ovino and milks using native-PAGE**. Food Chemistry, 125, 1443-1349, 2011.

SGARBIERI, C.S. **Revisão: Propriedades Estruturais e Físico-Químicas das Proteínas do Leite**. Braz. J. Food Technol., 8, 43-56, 2005.

VELOSO, A.C.; TEIXEIRA, N.; FERREIRA, I.M.P.L.V.O.; FERREIRA, M.A. **Deteção de adulterações em produtos alimentares contendo leite e/ou proteínas lácteas**. Química Nova, 25, 609-615, 2002.

VELOSO, A.C.A.; TEIXEIRA, N.; FERREIRA, I.M.P.L.V.O. **Separation and quantification of the major casein fractions by reverse-phase high-performance liquid chromatography and urea-polyacrylamide gel electrophoresis. Detection of milk adulterations**. Journal of Chromatography A, 967, 209-218, 2002.

Autor a ser contactado: Vaneida Maria Meurer, mestranda em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados-UFJF/Juiz de Fora-MG, e-mail: vaneida.meurer@uff.edu.br

# Higiene

março/abril 2013

Volume 27 - n° 218/219

ENCARTE ELETRÔNICO

ISSN (0101-9171)

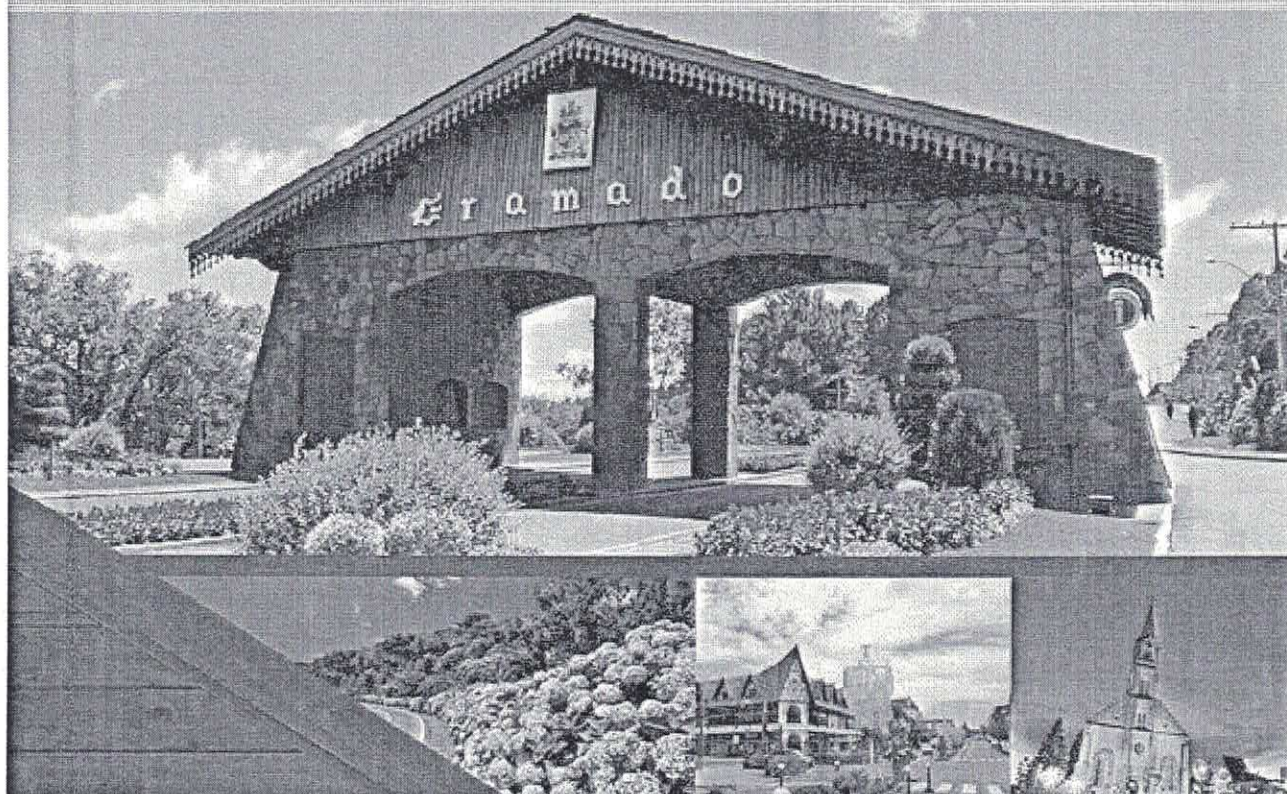


VI CONGRESSO LATINOAMERICANO  
E XII CONGRESSO BRASILEIRO DE  
**HIGIENISTAS  
DE ALIMENTOS**

II ENCONTRO NACIONAL DE VIGILÂNCIA DAS ZOOSESES  
IV ENCONTRO DO SISTEMA BRASILEIRO  
DE INSPEÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL

TRABALHOS APRESENTADOS  
GRAMADO, RS, BRASIL  
23 A 26 DE ABRIL DE 2013

OS ALIMENTOS SOB A ÓTICA DA SUSTENTABILIDADE:  
ENTRE A CONSCIÊNCIA E A PRÁTICA





VI CONGRESSO LATINOAMERICANO  
E XII CONGRESSO BRASILEIRO DE  
**HIGIENISTAS  
DE ALIMENTOS**

II ENCONTRO NACIONAL DE VIGILANCIA DAS ZOOSE

IV ENCONTRO DO SISTEMA BRASILEIRO  
DE INSPEÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL

**23 a 26**  
Abril de 2013

Hotel Serrano Resort  
Gramado - RS

**OS ALIMENTOS SOB A ÓTICA DA SUSTENTABILIDADE:  
ENTRE A CONSCIÊNCIA E A PRÁTICA**



Realização



Organização e  
Operadora de Turismo



Apoio



Ministério da  
Saúde

Ministério da  
Agricultura, Pecuária  
e Abastecimento



Patrocínio

