

## 047 - ANÁLISE ELETROFORÉTICA MICROFLUÍDICA "LAB-ON-A-CHIP" DAS PROTEÍNAS DO LEITE PARA DETECTAR ADULTERAÇÃO DE LEITE BOVINO ADICIONADO COM SORO<sup>1</sup>

### LAB-ON-A-CHIP MICROFLUIDIC ELECTROPHORETIC ANALYSIS OF MILK PROTEINS TO DETECT ADDITIONAL WHEY IN BOVINE MILK ADULTERATION

Alessa Siqueira de Oliveira dos Santos<sup>2</sup>

Vaneida Maria Meurer<sup>3</sup>

Isabella Silvestre Barreto Pinto<sup>4</sup>

Laís Stehling de Queiroz Nascimento<sup>5</sup>

Cristiano Amancio Vieira Borges<sup>6</sup>

Antônio Silvío do Egito<sup>7</sup>

Marco Antônio Moreira Furtado<sup>8</sup>

Marta Fonseca Martins<sup>9</sup>

**Introdução:** O consumo per capita de leite no ano de 2011 foi em torno de 128 litros no Brasil, incluindo seus derivados (leite em pó, queijos, requeijão, iogurte, leite fermentado e outros produtos lácteos). De acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, o queijo é o produto que apresenta maior volume de produção dentre os derivados. A fabricação de um quilo de queijo consome dez litros de leite e recupera-se de nove a dez litros de soro. Nesse contexto, surge um problema mundial da adulteração de leite fluido e em pó pela adição intencional de soro de leite. Isso ocorre em consequência do baixo valor comercial do soro, do reduzido aproveitamento em derivados e subprodutos lácteos e do alto custo para o seu descarte devido às exigências legais. A incorporação indevida do soro no leite de consumo, se não discriminada no rótulo, constitui fraude, uma vez que subtrai elementos no leite genuíno e em outros produtos. No presente trabalho o método "Lab-on-a-chip" foi utilizado para a detecção de fraude de leite fluido bovino pasteurizado, simulada pela adição de soro de leite em níveis crescentes de concentração. A técnica para a detecção foi baseada na quantificação das proteínas do leite (caseínas), e na análise estatística das áreas estimadas sob os picos dos eletroferogramas obtidos nas análises.

**Material e Métodos:** O leite bovino utilizado foi do tipo pasteurizado. O soro de queijo foi obtido por meio da precipitação enzimática com renina a partir do leite cru. A simulação de fraude foi realizada com adição de soro de queijo ao leite nas seguintes concentrações: 0; 1,0; 2,5; 5; 10; 20; 30; 50 e 100% (v/v) em amostras de leite pasteurizado. A eletroforese microfluídica foi realizada no equipamento Bioanalyzer 2100 da Agilent, utilizando o kit "Protein 80" sobre condições redutoras, conforme descrito pelo fabricante com adaptações de protocolo para separação de proteínas do leite. O Kit utilizado permite separar proteínas de massa molecular de 5 a 80 kDa, sendo, portanto, ideal para a separação da maioria das

<sup>1</sup>Auxílio de Pesquisa Convênio Embrapa/Monsanto

<sup>2</sup>Estudante de Pós-Doutorado - Embrapa Gado de Leite\*/Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF). \*Rua Eugênio do Nascimento, 610. Juiz de Fora-MG, Cep: 36038-330. E-mail: alessa.siqueira@gmail.com (correspondência)

<sup>3</sup>Estudante de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivado - UFJF/Embrapa Gado de Leite/EPAMIG. E-mail: vaneida.meurer@ufjf.edu.br

<sup>4</sup>Aluna de Doutorado em Ciências Biológicas - UFJF. E-mail: isabellasbp@gmail.com

<sup>5</sup>Bolsista PIBIC/FAPEMIG - Centro de Ensino Superior de Juiz de Fora. E-mail: lais.stehling@gmail.com

<sup>6</sup>Analista da Embrapa Gado de Leite - MG. E-mail: cristiano.borges@embrapa.br

<sup>7</sup>Pesquisador Embrapa Caprinos e Ovinos- Sobral - CE. E-mail: antoniosilvio.egito@embrapa.br

<sup>8</sup>Professor Associado - UFJF. E-mail: marcoantoniofurtado@yahoo.com.br

<sup>9</sup>Pesquisador da Embrapa Gado de Leite - MG. E-mail: marta.martins@embrapa.br

SP 6101 P. 201  
2013  
SP-PP-6101

SP 6101  
P. 201

proteínas do leite. A massa molecular das proteínas é automaticamente estimada pelo *software* baseado no tempo de eluição e em função do marcador interno (*ladder*).

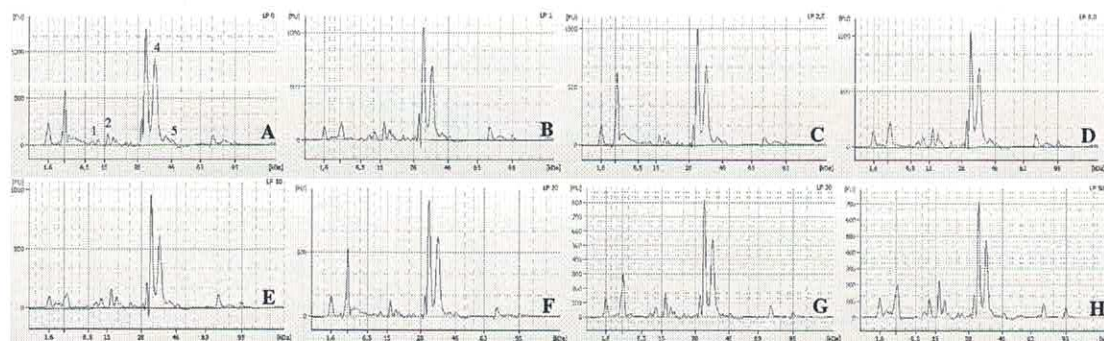
As amostras foram analisadas em triplicata e duas repetições por meio da ANOVA e do Teste de Dunnett, para comparar o nível 0% (controle) com os demais tratamentos (níveis de 1 a 50% de adição de soro). As análises estatísticas foram realizadas no *software* estatístico R.

### Resultados e Discussão:

A massa molecular estimada pela técnica de eletroforese microfluídica das proteínas do soro são mais próximas das estimadas pela técnica convencional de SDS-PAGE do que as estimativas obtidas para as caseínas (Tabela 1). A ordem de eluição no método “Lab-on-a-chip” das caseínas foi  $\beta$ -CN primeiro,  $\alpha_{s1}$ -CN em segundo e a  $\kappa$ -CN por último, por isso a massa molecular da  $\kappa$ -CN pela técnica de eletroforese microfluídica foi mais que o dobro da referenciada pela técnica convencional. No entanto esse feito é satisfatório, pois se a  $\kappa$ -CN apresentasse a massa molecular esperada de 19 kDa, isso poderia sobrepor com a  $\beta$ -LG. De um modo geral, todas as caseínas migraram com um peso molecular mais alto do que o observado na técnica convencional fato que pode ser 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.

**Tabela 1.** Leite de vaca. Estimativas da massa molecular das principais proteínas do soro e das caseínas obtidas pela técnica eletroforese microfluídica.

Picos	Proteínas	Massa molecular (kDa) microfluídica	Massa molecular (kDa) SDS-PAGE
1	$\alpha$ -LA	12 $\pm$ 1	14,2
2	$\beta$ -LG	18 $\pm$ 1	18,4
3	$\beta$ -CN	32 $\pm$ 1	24,1
4	$\alpha_{s1}$ -CN	37 $\pm$ 1	23,6
5	$\kappa$ -CN	46 $\pm$ 1	19,0



**Figura 1.** Eletroferogramas das caseínas e das proteínas do soro pelo método lab-on-a-chip das caseínas e das proteínas do soro. A. Leite puro: 1.  $\alpha$ -lactoalbumina, 2.  $\beta$ -lactoglobulina, 3.  $\beta$ -caseína, 4.  $\alpha_{s1}$ -caseína, 5.  $\kappa$ -caseína; B. Leite + 1% soro; C. leite + 2,5% soro; D. Leite + 5% soro; E. Leite + 10% soro; F. Leite + 20% soro; G. Leite + 30% soro; H. Leite + 50% soro

**Conclusões:** A análise estatística da variável “área sob o pico”, obtida a partir dos eletroferogramas construídos pela técnica de eletroforese microfluídica, foi eficaz na detecção de fraude do leite pela adição de soro de queijo. Pela análise das concentrações das caseínas  $\alpha$  e  $\beta$  do leite, foi possível a detecção de fraude a partir do menor nível de adulteração, da adição de 1% de soro. Na análise da  $\kappa$ -CN, a detecção foi possível a partir do nível de 20%.

# **Veterinária e Zootecnia**

**Suplemento: Anais do V Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite do Conselho Brasileiro de Qualidade do Leite – CBQL  
10 a 12 de Junho de 2013.**

**Vet e Zootec.**

**2013 junho; 20(2 Supl 1): 001-460**

**Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia**

**ISSN Impresso 0102 -5716**

**ISSN Eletrônico 2178-3764**

**Botucatu - SP – Brasil**

## Veterinária e Zootecnia

ISSN Impresso 0102 -5716

ISSN Eletrônico 2178-3764

VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
UNESP – Campus de Botucatu  
18618-970 – Dist. Rubião Jr. – Botucatu – SP – Brasil  
Portal: <http://www.fmvz.unesp.br/rvz>  
E-mail: [vetzootecnia@fmvz.unesp.br](mailto:vetzootecnia@fmvz.unesp.br)  
Tel. 55 14 3880 2094

Publicação trimestral  
Solicita-se permuta / *Exchange desired*  
Biblioteca do Campus de Botucatu  
18618-970 – Dist. Rubião Júnior – Botucatu – SP - Brasil

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: *ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE*

Veterinária e Zootecnia / Faculdade de Medicina Veterinária e  
Zootecnia. – Vol. 1, n. 1(1985)- . – Botucatu, SP : FMVZ, 1985

Trimestral  
Texto em português/inglês/espanhol  
Descrição baseada em: Vol. 20, n.1, mar. (2013)  
ISSN Impresso 0102 -5716  
ISSN Eletrônico 2178-3764

1. Medicina veterinária. 2. Zootecnia. I. Faculdade de Medicina Veterinária e  
Zootecnia de Botucatu.

Os artigos publicados na *Revista VETERINÁRIA E ZOOTECNIA* são indexados por:  
Lilacs, PERIÓDICA – Índice de Revistas Latinoamericanas em Ciências, Cambridge  
Scientific Abstracts, e CAB Abstracts.