

Métodos de detecção de fraude em leite por adição de soro de queijo (Detection methods of adulteration in milk by addition of cheese whey)

Bruna Mara Aparecida de Carvalho¹, Lorendane Millena de Carvalho², Lizzy Ayra Pereira Alcântara³, Renata Cristina Ferreira Bonomo⁴

¹ Mestranda do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa (UFV) – Viçosa/MG–Brasil. Contato por email: brunamara83@hotmail.com.

² Graduada em Medicina Veterinária na Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) – Alegre/ES- Brasil.

³ Graduada em Engenharia de Alimentos na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) – Itapetinga/BA, Brasil.

⁴ Professora Doutora do Departamento de Tecnologia Rural e Animal da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), Itapetinga/BA, Brasil

REDVET: 2007, Vol. VIII Nº 6

Recibido: 16 Abril 2007 / Referencia: 060704_RED VET / Aceptado: 30 Mayo 2007 / Publicado: 01 Junio 2007

Este artículo está disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n060607.html> concretamente en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n060607/060704.pdf>

REDVET® Revista Electrónica de Veterinaria está editada por Veterinaria Organización®.
Se autoriza la difusión y reenvío siempre que enlace con Veterinaria.org® <http://www.veterinaria.org> y con REDVET®
- <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>

Resumo

A legislação brasileira estabelece que o leite pasteurizado, esterilizado e o leite em pó não podem conter sólidos de soro de queijo. Porém, em decorrência do baixo custo do soro e por ser uma forma de aproveitamento desse resíduo da indústria queijeira, torna-se economicamente atrativa a adição do soro ao leite. Tornando assim a concorrência mercadológica desleal, prejudicando a

empresa idônea e o consumidor. A prática desse tipo de fraude é ainda difícil de ser controlada pelas autoridades competentes. Porém, diversos métodos têm sido estudados e propostos para a detecção dessa adulteração.

Palavras Chave: Leite, Soro de Queijo, Fraude.

Abstract

The Brazilian legislation, establishes that the pasteurized milk, sterilized and the powdered milk cannot contain solids of whey. However, in result of low cost of whey and it for being a form to exploitation of this residue of dairy products industry, the addition of the whey become attractive economically the addition of whey to milk. Thus becoming the marketing

competition disloyal, harming the idoneous company and the consumer. The practical one of this type of fraud is still difficult of being controlled for the competent authorities. However, diverse methods have been studied and considered for the detention of this adulteration.

Key Words: Milk, whey, Fraud.

1. INTRODUÇÃO

Há muito se faz necessário dispor de um método eficiente e prático para a detecção de soro de queijo no leite, porque essa prática é ileal e fraudulenta (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 1993). Essa adição, financeiramente atrativa, ainda é difícil de ser controlada, justamente pelo fato da inexistência de métodos de análise capazes de detectar a fraude de forma quantitativa (HEMMANTI e KEENEY, 1979).

A qualidade do leite consumido no país é uma constante preocupação de técnicos e autoridades ligadas à área de saúde e laticínios. A legislação brasileira, e também a de todos os países desenvolvidos, proíbe a adição de soro de queijo ao leite de consumo. Caso a adição seja feita, o produto final deverá chamar-se "bebida láctea" e não poderia ser considerado leite (tipo A, B, C, esterilizado, etc.) (DRACZ, 1996). A resolução 1725/79 do Mercado Comum Europeu (MCE) estabelece que o leite em pó não deve ser adicionado de soro, seja ele ácido ou derivado do tratamento com coalho. A legislação brasileira (BRASIL, 1952) considera fraude a adição de soro de queijo ao leite pasteurizado, esterilizado ou em pó. Entretanto, por estar quase sempre disponível, uma vez que é um subproduto da fabricação de queijos, de custo reduzido ou nulo, torna-se economicamente atrativa a adição de soro de queijo ao leite, prejudicando diretamente o consumidor e os concorrentes que obedecem à legislação, além de incorrer em diversos crimes previstos na legislação. Uma vez que a adição de soro de queijo ao leite compromete a sua qualidade, torna-se imprescindível o controle deste importante alimento distribuído aos consumidores, para sua utilização como se fosse leite puro.

Durante os últimos tem-se dado especial atenção à pesquisa da detecção de fraude por adição de soro de queijo em leite. Existem importantes diferenças entre a composição dos sólidos não-gordurosos do soro de queijo e a dos sólidos não-gordurosos do leite, além dos aspectos nutricionais e presença de resíduos de determinados aditivos usados na fabricação de alguns tipos de queijo, como nitratos e nitritos, que comprometem a qualidade do leite quando este é adicionado de soro de queijo. Vários métodos foram desenvolvidos para a detecção desse tipo de fraude: determinação do ácido siálico; determinação do Glicomacropéptido, entre outros. A determinação do Glicomacropéptido (GMP), por se tratar de um componente específico do soro, e que deve estar ausente no leite, é um excelente indicador da presença de fraude. A aplicação de modernas técnicas analíticas, como a cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) e os métodos imunológicos, proporciona importante auxílio na pesquisa dessa adulteração em leite.

Em nossa revisão serão abordados alguns dos diversos métodos de detecção de fraude em leite por adição de soro. Será dada ênfase ao método referência, por quantificação do Glicomacropéptido, utilizado para pesquisa de soro de queijo em leite pelos laticínios.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O Leite

O leite pode ser definido como o fluido normalmente secretado pelas fêmeas dos mamíferos para a nutrição de suas crias. A intervenção na seleção e criação dos animais, como a vaca, tem aumentado tanto a qualidade como a capacidade produtiva do leite, tornando-o melhor para o consumo humano.

Devido à sua riqueza de nutrientes, o leite, é considerado um alimento quase completo para o homem, e, portanto amplamente comercializado e consumido pela população mundial. Na literatura, o termo leite é usado para indicar leite cru (*in natura*) produzido por vacas leiteiras. Para especificar uma outra origem do leite, o nome do animal produtor é adicionado.

Composto basicamente por 87,5% de água e 13% de sólidos totais (com exceção da gordura, são chamados de sólidos não gordurosos) que estão suspensos ou dissolvidos na água (Tabela 1), o leite contém quantidades variadas de lipídios, proteínas e carboidratos que são

sintetizados dentro da glândula mamária, bem como quantidades menores de minerais e outros componentes lipossolúveis e hidrossolúveis.

Tabela 1: Composição quantitativa do leite de vaca

Componente	Limites de variação (%)	Valor médio (%)
Água	85,5 – 89,5	87,5
Sólidos totais	10,5 – 14,5	13,0
Gordura	2,5 – 6,0	3,9
Proteínas	2,9 – 5,0	3,4
Lactose	3,6 – 5,5	4,8
Minerais	0,6 – 0,9	0,8

Fonte: ALFA LAVAL (1990)

2.2 O Soro

O soro constitui subproduto do processamento de queijos, da caseína e de outros produtos lácteos acidificados. Contém a metade do extrato seco do leite, e é composto por lactose, proteínas e sais. Do volume de leite destinado à fabricação de queijos, entre 75 e 85% resulta em soro (ZADOW, 1997).

O soro é composto, primordialmente, por água e nela estão presentes as substâncias solúveis, como a lactose, proteínas solúveis, sais minerais e traços de gordura.

Na Tabela 2 encontra-se a composição dos dois tipos de soros existentes, doce e ácido. No Brasil, a produção de soro é constituída quase que exclusivamente de soro doce, provindo da fabricação de queijos por coagulação enzimática (mussarella, prato, minas frescal, meia-cura e outros), que são os mais comercializados no país. Já o soro ácido, originário da manufatura de queijos de coagulação ácida, de consumo mais reduzido (ricota e requeijão) e da fabricação de caseína, praticamente inexistente no Brasil, pouco contribui no cômputo geral. De acordo com o Ministério da Agricultura (1989), a produção de soro vem aumentando anualmente como resultado do crescimento da indústria queijeira.

Tabela 2: Comparação da composição do soro doce e soro ácido

Componente	Soro doce (%)	Soro ácido (%)
Água	93 - 94	94 - 95
Sólidos totais	6 - 7	5 - 6
Lactose	4,5 - 5	3,8 – 4,2
Proteína (N x 6,38)	0,8 - 1	0,6 - 1
Nitrogênio não protéico (% do N Total)	22	27
Ácido láctico	0,1 – 0,2	0,7 – 0,8
Cinzas	0,5 – 0,7	0,7 – 0,8

Fonte: HARPER & SEIBERLING (1976)

2.3 A Fraude

A adição fraudulenta de soro ao leite é normalmente detectada e quantificada pela determinação do glicomacropéptido, que resulta da quebra da ligação peptídica da k-caseína entre os aminoácidos 105-106 Phe-Met. Desta cisão forma-se a *para-k*-caseína (1-105) que permanece nas micelas de caseína e o glicomacropéptido (106-169) que fica no soro.

O glicomacropéptido é geralmente quantificado por métodos cromatográficos, particularmente a cromatografia de exclusão molecular, HPLC em fase reversa e cromatografia de troca iónica, quer catiónica, quer aniónica. A eletroforese capilar de zona com uma coluna hidrofílica de sílica fundida foi também utilizada com sucesso na detecção e quantificação do glicomacropéptido para detectar e quantificar o soro em leite.

Diversos métodos têm sido estudados e propostos para a detecção da adulteração de leite com soro de queijo, sejam baseados na quantificação do GMP ou de outros compostos.

2.3.1 Métodos Baseados na Quantificação de GMP na Detecção de fraude em Leite por adição de Soro de Queijo

A quantificação do GMP é o indicador atualmente mais recomendável para se detectar a adição de soro de queijo ao leite. Um dos métodos utilizados para a quantificação do GMP detecta a presença do ácido N-acetil-neuramínico (NANA, também denominado ácido siálico). Após reação com resorcinol, ele pode ser dosado quantitativamente por espectrofotometria, utilizando comprimento de onda de 549 nm (WARREN, 1959). Esse método foi modificado por WOLFCHOON-POMBO e PINTO (1985) por meio da substituição do agente complexante resorcinol pelo reagente de Erlich, e é o método de triagem utilizado para pesquisa de soro de queijo em leite pelos laticínios no Brasil. O método modificado permite detectar adulteração de leite fresco pasteurizado com, no mínimo, 2% de soro de queijo, porém demanda um tempo excessivo de análise. Outra desvantagem deste método é que pode ainda sofrer interferência causada por proteases oriundas de bactérias psicotróficas e de leite proveniente de animais com mamite.

HOODYDONK e OLIEMAN (1982) desenvolveram um método para acompanhar a ação da quimosina sobre o leite por cromatografia líquida de alto desempenho, utilizando filtração gélica (HPLC-GF). O método permite quantificar, no comprimento de onda de 205 nm, o GMP liberado. Posteriormente, OLIEMAN e BEDEM (1983) utilizaram o mesmo método para quantificar a adição de sólidos de soro de queijo ao leite em pó, sendo este método adotado como oficial pelo Mercado Comum Europeu (MCE).

BRANDÃO et al. (1988) empregaram o método de HPLC-GF para a análise de amostras de leite pasteurizado, tipo C, comercializado em alguns estados do Brasil. Constataram que parte destas amostras foram adicionadas de soro de queijo.

Em experimentos conduzidos por OLIEMAN e RIEL (1989), utilizou-se HPLC em coluna de fase reversa (HPLC-RP) para estudar o comportamento da proteólise extensa no leite, causada por bactérias psicotróficas. Em 1990, esse método foi considerado oficial para a detecção de soro de queijo em amostras de leite pelo MCE. Tal método, porém, requer investimentos mais elevados do que o de HPLC-filtração gélica, sendo também mais complexo e demorado.

ALVIN (1992) fez um estudo da influência da qualidade do leite nos resultados do método de HPLC-GF, quando utilizado para detectar soro de queijo adicionado neste produto, e concluiu que os resultados positivos, quanto a presença de GMP, podem ser interpretados como adição de soro ao leite, ou como provenientes da detecção de produtos de degradação proteica do leite de péssima qualidade. O ministério da Agricultura brasileiro adotou este método como oficial em 1991 (Portaria nº 124, de 23 de setembro de 1991, e republicada em 20 de novembro de 1991 no Diário Oficial da União, pág. 26245-26246). O quadro 1 mostra alguns métodos de investigação de Glicomacropéptido em produtos lácteos usando HPLC.

Outro método capaz de detectar a presença de GMP em leite pasteurizado e leite em pó foi desenvolvido por VILELA (1987), utilizando eletroforese em gel de poliacrilamida (PAGE) para realizar a separação e densitometria, para quantificação. Apesar da metodologia apresentar alta sensibilidade (0,5% de soro de queijo adicionado), o tempo total de análise pode ser considerado longo, quando comparado com a técnica de HPLC-GF, além de exigir condições especiais de análise.

Quadro 1 – Exemplos do Uso de Cromatografia Líquida de Alto Desempenho (HPLC) na Análise de GMP em Produtos Lácteos

Técnica cromatográfica	Amostra	Preparação da amostra	Objetivo
Exclusão Molecular	Leite em pó	Precipitação das proteínas com TCA 8%	Detectar a adição de soro
Exclusão Molecular	Leite cru	Precipitação das proteínas com RC 8%	Determinar proteólise
Exclusão Molecular	κ -caseína tratada com coalho	Precipitação das proteínas com TCA 3, 7 E 12 %	Determinar a cinética da reação
Fase Reversa	Leite e caseínatos tratados com coalho	Precipitação das proteínas com TCA 8%	Caracterização do GMP
Fase Reversa	Leite em pó	Precipitação das proteínas com TCA 8%	Detectar a adição de soro
Fase Reversa	Caseinato tratado com coalho	Precipitação com TCA 12% (análise da fração insolúvel)	Fracionamento do GMP livre de açúcares
Troca Catiônica (FPLC)	Leite tratado com coalho	Inativação da enzima e precipitação a pH =4,6	Estudar a ação do coalho

FPLC = Fast Performance Liquid Chromatography

Fonte: LÓPEZ-FANDINO e RAMOS (1993)

2.3.2 Métodos Baseados em Outros Compostos que não GMP na Detecção de fraude em Leite por adição de Soro de Queijo

Diversos métodos têm sido estudados e propostos para a detecção da adulteração do leite com soro de queijo, como mostra o Quadro 2. Esses métodos exigem excessivo trabalho laboratorial, longo tempo de análise e apresentam baixa sensibilidade.

AUTOR	PRINCÍPIO DO MÉTODO
HILL e LEARY (1968)	Proporção cisteína/ cistina
KONING e ROOIJEN (1971)	Proporção cisteína/cistina
KALAB (1980)	Microscopia eletrônica
HILL et al (1988)	Teor total de sulfidrina
GREENBERG e DOMER (1986)	Comparação da composição de amino ácidos
WALSH e BROWN (1988)	Comparação da composição de amino ácidos
CASTANEDA et al (1987)	Crioscopia
FURTADO e WOLFSCHOON-POMBO (1988)	Determinação da relação fósforo caseínico/nitrogênio protéico

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar dos vários estudos feitos para detecção de fraude em leite por adição de soro de queijo, ainda se faz necessário o desenvolvimento de um método "on line", rápido, barato e seguro que não necessite de mão de obra especializada para a verificação da adequação, do leite comercializado, quanto as normas de legislação vigente no país. Protegendo assim o consumidor e as Indústrias que seguem a legislação.

Bibliografia

1. ALFA-LAVAL, 1990. **Manual de indústrias lácteas**. Segunda Edición. AMV Ediciones Mundi Prensa.
2. ALVIN, T.C. Efeito da qualidade do leite na detecção do soro lácteo por cromatografia líquida de alto desempenho filtração gélida (GF-HPLC). Viçosa, MG, UFV, 1992. 63 p. (Tese M.S.).
3. BRANDÃO, S.C.C.; PARREIRA, J.F.M.; ALVIN, T.C. Detecção da adição de soro de queijo ao leite. **In:** Anais do X Congresso Nacional de Laticínios, 1988. 41 p.
4. BRASIL, Leis e Decretos, etc... Decreto nº30691 (29-03-1952), alterado pelo Decreto nº1255 (25-06-1962), cria o **Regulamento de Inspeção Industrial Sanitária de Produtos de Origem Animal** D.O.U., Rio de Janeiro, 07-07-1952, (não paginado).
5. CASTANEDA, R.; FERNANDEZ, G.; CALO, M.; PASQUALINI, A. Cryoscopic method for detection and estimation of rennet whey total solids in whole and skim milk powders. **Neth. Milk Dairy J.**, 41(1):69-79, 1987.
6. DRACZ, S. Desenvolvimento de um método imunoenzimático para análise de queijo em leite. Viçosa, MG, UFV, 1996. 57p. (Tese M.S.).

7. FURTADO, M.A.M. & WOLFSCHOON-POMBO. Quantificação de soro de queijo adicionado ao leite pasteurizado através da determinação do número de caseína. **Rev. do Inst. de Latic. Candido Tostes**, 42(260):3-11, 1988.
8. GREENBERG, R. & DOWER, H.J. Detection of added whey protein concentrate in non fat dry milk by amino acids analysis. **J. Agric. and Food Chemistry**, 34(1):30-32, 1986.
9. HARPER, A. H.; MURRAY, R. K.; GRAMMER, D. K.; MAYES, P. A.; RODWELL, V. W. **Bioquímica**. 8. ed. São Paulo: Athemueu, 1998.
10. HILL, R.D. & LAERY, J. A method for estimating the approximate content of whey protein in co-precipitate. **Aust. J. Dairy Tech.**, 23(4):160-161, 1968)
11. HILL, S.D.; RICHTER, R.L.; DILL, C.W. Sulfur basead method to detect adulteration of nonfat dry milk whey. **Cultured Dairy Product J.**, 23(1):14-18, 1988.
12. HOOYDONK, A.C.M. & OLIEMAN, C. A rapid and sensitive high-performance liquid chromatography method of following the action of chymosin in milk. **Neth. Milk Dairy J.**, 36:153-158, 1982.
13. KALAB, M. Possibilities of an electron microscopic detection of butter milk made from sweet cream in adulterated skim milk. **Scanning Electron Microscopy** 3:645-652, 1980.
14. KONING, P. J. & ROOIJEN, P. J. van. Estimation of whey protein in casein co-precipitate or in mixtures of milk powder by the use of a modified ninhydrin reaction. **Milchwissenschaft**, 26(1):1-6, 1971.
15. LÓPEZ-FANDINO, R & RMOS, M. Revisión: El caseinomacropéptido bovino. II. Detection de la presencia de suero de queseria en produtos lácteos. **Ver. Esp. Cienc. Tecnol. Aliment.**, 33(1): 1-12, 1993.
16. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Serviço de Inspeção Federal. Anuário Estatístico. **Matérias primas de origem animal**. Brasília, DF, Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária, 1989. 328 p.
17. OLIEMAN, C. & BEDEM, J.W. VAN DEN. A sensitive HPLC method of detecting and estimating rennet whey total solids in skim milk powder. **Neth. Milk Dairy J.**, 37:27-36, 1983.
18. OLIEMAN, C.; VAN RIEL, J.A.M. Detection of rennet whey solids in skin milk and buttermilk powder with reversed-phase HPLC. **Netherlands Milk and Dairy Journal**, 43, 171-184, 1989
19. VILELA, S. C. Detection de suero de queseria agragado a leche pasteurizada y leche en polvo, por determinacion del glicomacropéptido por eletroforesis. Valdivia, Chile. Universidad Austral de Chile, 81p., 1987, (Tese M.S.).
20. WALSH, M.K. & BROWN, R.J. Detection of added casein or whey protein in nonfat dry milk and goat's milk in whole cow's milk. **J. Dairy Sci.**, 71(suppl. 1): 96, 1988.
21. WARREN, L. The thiobarbituric acid assay of sialic acid. **J. Biol. Chem.**, 234:1971, 1959.
22. WOLFSCHOON-POMBO, A.F. & PINTO, A.P.E. DE F. A qualitative method for the detection of rennet whey in milk. **Ciência e Tec. de Alimentos**, 5(2):111-115, 1985.
23. ZADOW, J.G., Modern dairy technology: advances in milk processing. London: **Elsevier** 1997. V. 2.

REDVET® Revista Electrónica de Veterinaria (ISSN nº 1695-7504) es medio oficial de comunicación científico, técnico y profesional de la Comunidad Virtual Veterinaria, se edita en Internet ininterrumpidamente desde 1996. Es una revista científica veterinaria referenciada, arbitrada, online, mensual y con acceso a los artículos íntegros. Publica trabajos científicos, de investigación, de revisión, tesinas, tesis doctorales, casos clínicos, artículos divulgativos, de opinión, técnicos u otros de cualquier especialidad en el campo de las **Ciencias Veterinarias** o relacionadas a nivel internacional.

Se puede acceder vía web a través del portal **Veterinaria.org®** <http://www.veterinaria.org> o en **REDVET®** <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> Se dispone de la posibilidad de recibir el Sumario de cada número por **correo electrónico** solicitándolo a redvet@veterinaria.org Si deseas postular tu artículo para ser publicado en **REDVET®** contacta con redvet@veterinaria.org después de leer las Normas de Publicación en <http://www.veterinaria.org/normas.html>

Se autoriza la difusión y reenvío de esta publicación electrónica siempre que se cite la fuente, enlace con **Veterinaria.org®**. <http://www.veterinaria.org> y **REDVET®** <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>
Veterinaria Organización S.L.® - (Copyright) 1996-2007- E_mail: info@veterinaria.org