

DETECÇÃO DE SORO BOVINO EM RICOTA DE BÚFALA POR MEIO DE ESTUDOS ELETROFORÉTICOS

Samara Silva Santos¹, Lenara Oliveira Pinheiro², Sibelli Passini Barbosa Ferrão³.

RESUMO

Um tipo muito comum de adulteração em produtos de origem animal é a adição de matéria-prima de outras espécies sem existir a presença da informação da mistura na embalagem dos produtos, o que consiste em fraude alimentar. O objetivo desse trabalho foi a realização da avaliação de ricotas produzidas por meio da eletroforese para detectar a presença de soro de leite de vaca em ricota de búfala. As amostras de ricotas foram produzidas exclusivamente com soro bubalino e soro bovino, com inclusões crescentes do soro bovino ao bubalino (10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% e 90%), em 10 repetições de cada formulação, totalizando 165 amostras de ricotas. Foi realizada eletroforese por SDS-Page. Os dados obtidos através da separação das proteínas foi comparado com o marcador para determinar a presença das proteínas do leite das espécies em estudo. A técnica SDS-PAGE mostrou-se eficiente na separação e identificação das frações proteicas das espécies em estudo. As amostras 100% soro de búfala T1 e 100% soro de vaca T11 foram utilizadas como referência pois possuem marcadores distintos, as fração de lactoferrina (Lf) e imunoglobulina (Ig) presente no tratamento T11 e ausente no T1 são visíveis a partir de 10% de concentração T2.

PALAVRAS-CHAVE: Adulteração, Fraude alimentar, SDS-PAGE.

DETECTION OF BOVINE SERUM IN BUFFALO RICOTTA BY MEANS OF ELECTROPHORETIC STUDIES

ABSTRACT

A very common type of adulteration in products of animal origin is the addition of raw materials from other species without information about the mixture on the product packaging, which constitutes food fraud. The objective of this work was to evaluate ricottas produced using electrophoresis to detect the presence of cow's milk whey in buffalo ricotta. Ricotta samples were produced exclusively with buffalo serum and bovine serum, with increasing inclusions of bovine and buffalo serum (10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% and 90%), in 10 repetitions of each formulation, totaling 165 ricotta

Apoio financeiro (FAPESB)

¹Graduanda em zootecnia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia,

Departamento de Tecnologia Rural e Animal - DTRA/UESB

²Doutoranda no Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos,

Departamento de Tecnologia Rural e Animal – DTRA;

³Docente na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia,

Departamento de Tecnologia Rural e Animal – DTRA.

samples. SDS-Page electrophoresis was performed. The data obtained through the separation of proteins was compared with the marker to determine the presence of milk proteins from the species under study. The SDS-PAGE technique proved to be efficient in separating and identifying the protein fractions of the species under study. The samples 100% T1 buffalo serum and 100% T11 cow serum were used as reference because they have different markers, the fraction of lactoferrin (Lf) and immunoglobulin (Ig) present in the T11 treatment and absent in T1 are visible from 10 % T2 concentration.

KEYWORDS: Adulteration, Food fraud, SDS-PAGE.

INTRODUÇÃO

A ricota é classificada como um queijo magro com teor de gordura entre 10 e 25% e umidade superior a 55% (BRASIL, 1996). A ricota é um queijo de massa mole, produzida através da albumina de soro de queijos e adicionado de até 20% do seu volume em leite, produzida por meio da coagulação das proteínas do leite que agora estão no soro pela acidificação através de um acidulante, como o ácido láctico (CAMINI et al., 2014). A adição fraudulenta de soro de leite bovino na fabricação da ricota bubalina é considerada como um meio pelo qual a indústria aumenta de forma inadequada seus lucros com o produto, visto que a adição de soro de leite bovino que é mais disponível no mercado e possui um menor custo reduz a utilização do soro bubalino que possui maior valor devido à escassez do mesmo (CERQUAGLIA et al., 2011).

O sistema eletroforético em SDS-PAGE tem sido utilizado mundialmente como ferramenta padrão para análise de proteínas em laboratórios, desde sua consolidação em 1970 por Laemmli (HAGIWARA, 2022). No decorrer dos anos, a poli(acrilamida) destacou-se como o material de escolha para ser usada como meio de suporte para a eletroforese de proteínas, devido a suas características fundamentais: clareza óptica, incluindo transparência ultravioleta (280 nm); neutralidade elétrica, devido à ausência de grupos carregados; e a disponibilidade em uma ampla variedade de tamanhos e poros (GUPTA, 2019).

De acordo com Gonçalves et al. (2016), os métodos eletroforéticos oferecem boas informações para estudos de proteínas do leite e são utilizados para diferenciar e identificar o leite de várias espécies, sendo a SDS-PAGE uma das técnicas mais utilizadas para este objetivo.

MÉTODO

As ricotas foram elaboradas com inclusão crescente do soro bovino ao bubalino com 11 tratamentos. O tratamento 1 (T1) e o tratamento 11 (T11) são compostos respectivamente de 100% soro de leite de búfala (SLB) e de vaca (SLV), do T2 ao T10

houve inclusão crescente de soro bovino em detrimento ao bubalino (10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% e 90%), que foram analisadas com diferentes tempos de refrigeração (0, 15 e 30 dias).

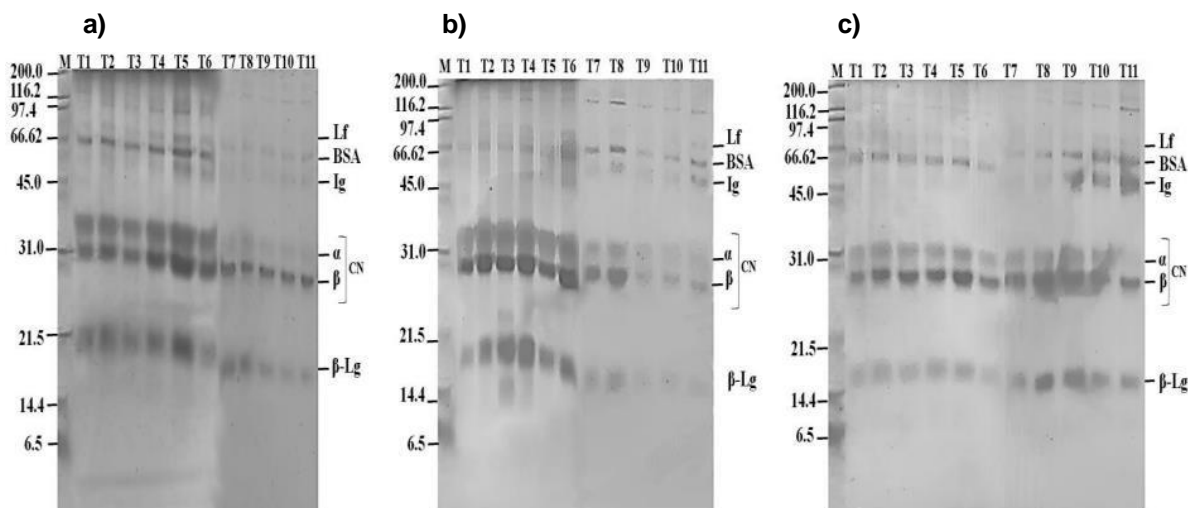
A fabricação da ricota foi realizada conforme as metodologias descritas por Kamel et al. (2013) e Hanna (2015). O processo iniciou-se com o aquecimento do soro a 65°C e correção da acidez com bicarbonato de sódio (Casalab, Belo Horizonte, Brasil). Posteriormente, adição de leite (18-20%) sob agitação lenta e constante até atingir 85°C, quando houve a acidificação com ácido láctico, na proporção de 1mL/L, com aquecimento sob agitação lenta até 90°C. A coalhada ficou em repouso por 10 – 20 min. para que ocorra floculação. Em seguida, ocorreu a retirada do floculo, que foram enformado e pesado. Ao final do processo, as amostras foram embaladas a vácuo e mantidas sob refrigeração a 4°C ± 2°C e retiradas nos tempos 0, 15 e 30 dias para análise. Sendo 10 repetições de cada formulação, totalizando 165 amostras de ricotas.

A caracterização eletroforética foi realizada segundo a metodologia de Egito et al. (2006), por meio da técnica em gel de poli(acrilamida em condições desnaturantes com adição de Dodecil Sulfato de Sódio (SDS). Foram produzidos géis de separação com 15% de poli(acrilamida (Sigma, St. Louis, MO, EUA) em 0,38 Mol·L⁻¹ de tampão Tris-HCl (Vetec, Duque de Caxias, RJ, Brasil), pH 8,8, contendo 0,1% (p/v) SDS (Cromoline, Diadema, SP, Brasil) e géis de concentração/empilhamento de 5% (p/v) poli(acrilamida em 125 mmol/L de tampão Tris-HCl, pH 6,8.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os padrões SDS-PAGE na presença de um agente redutor evidenciaram nas amostras produzidas a presença das proteínas típicas do soro de leite: lactoferrina (Lf), albumina sérica bovina (BSA), imunoglobulina (Ig) e β-lactoglobulina (β- Lg) (Figura 1). Também foi percebido a presença de caseínas, α-caseína e β-caseína, nas amostras de ricota, uma vez que é utilizado leite na sua produção.

Figura 1. Perfil eletroforético (SDS-PAGE) das amostras de ricotas produzidas com diferentes tratamentos T1-T11 (0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% e 100% SLV) em diferentes tempos de armazenamento (a) 0 dias; (b) 15 dias e (c) 30 dias. M: Padrão de peso molecular. α-CN = α-caseína; β-CN = β-caseína; κ-CN = κ-caseína; BSA= albumina do soro bovino; Ig: imunoglobulina; Lf= lacto e β-Lg= β-lactoglobulina.



As amostras 100% SLB (T1) e 100% SLV (T11) foram utilizadas como referências, pois possuem padrão eletroforético diferenciado para cada espécie, a exemplo da fração de lactoferrina (Lf) e imunoglobulina (Ig) presente no tratamento T11 (bovino) e ausente no T1 (búfala) (Figura 1). Então, à medida que se aumentou os percentuais de SLV para elaboração de ricota, ocorreram pequenas alterações na estrutura de Lf e Ig das amostras (Figura 1 a, b, c).

Estudos já demonstraram que o tratamento térmico promove a formação de aglomerados entre as proteínas do soro e entre estas e as caseínas (VASBINDER et al., 2004; QIAN et al., 2017). Essas interações levam à agregação irreversível de proteínas em complexos proteicos de tamanho molecular variável dependendo das condições de aquecimento e da composição proteica (SALVATORE et al., 2014). Nos géis foi possível observar bandas em torno de 116,2 kDa, indicando possivelmente a presença de agregados proteicos (Figura 1 a).

A α -La tem maior resistência à desnaturação térmica e sustenta até 95°C, no entanto, sua interação com a β -Lg aumenta a desnaturação. A α -La é capaz de realizar ligações para estabilizar sua conformação porém a redução dos cátions promove um aumento na sensibilidade da α -La a desnaturação térmica (TARHAN et al., 2021). Esses fatores podem explicar a ausência das bandas de α -La (~14 kDa) nos géis das ricotas produzidas (Figura 1 a, b e c).

CONCLUSÕES

A eletroforese por SDS-PAGE mostrou-se eficiente para diferenciar as frações proteicas entre bovinos e bubalinos, com a ocorrência de proteínas específicas para as espécies estudadas.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria N° 146, de 07 de março de 1996. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 11 de março de 1996, Seção 1, p. 3977-3986.

CAMINI, A.; MÜLLER, C. S.; BILDHAUER, D. C.; SOUZA, C. F. V. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE RICOTAS COMERCIALIZADAS NO VALE DO TAQUARI. **Revista Destaques Acadêmicos, Cetec/Univates**, v. 06, n. 04. 2014.

CERQUAGLIA, O., SOTTOCORNO, M., PELLEGRINO, L., & Ingi, M. Detection of cow's milk, fat or whey in ewe and buffalo ricotta by HPLC determination of [Beta]-carotene. **Italian Journal of Food Science**, v. 23, n. 4, p. 367, 2011.

EGITO, A. S.; ROSINHA, G. M. S.; LAGUNA, L. E.; MICLO, L.; GIRARDET, J. M.; GAILLARD, J. L. Método eletroforético rápido para detecção da adulteração do leite caprino com leite bovino. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 58, n. 5, p. 932-939, 2006.

GONÇALVES, B. H. R. F.; SILVA, G. J.; PONTES, S. F. O.; FONTAN, R. C. I.; EGITO, A. S.; FERRÃO, S. P. B. Evaluation of the peptide profile with a view to authenticating buffalo mozzarella cheese. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 51, n. 7, p. 1586-1593, 2016.

GUPTA, M. N. *Electrophoresis | Gel electrophoresis: Polyacrylamide gels*. 3. ed. Nova Delhi: Elsevier Inc., 2019. p. 396-407.

HAGIWARA, M. Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis and western blotting analyses via colored stacking gels. *Analytical Biochemistry*, v. 652, p. 114751, 2022.

HANNA, A. C. S. **Aproveitamento de soro de queijo para a produção de pasta de ricota sabor tucumã (*Astrocaryum maculeatum* MEYER)**. Manaus -AM: UFAM, 2015, 46 p. (Dissertação – Mestrado em Ciência de Alimentos).

KAMEL, B.; BOUBAKER, K.; ATTIA, H. Implementation of ricotta cheese production process in Tunisia. **International Food Research Journal**, v. 20, n.5, p. 2343-2348, 2013.

QIAN, F.; SUN, J.; CAO, D.; et al. Experimental and Modelling Study of the Denaturation of Milk Protein by Heat Treatment. *Korean journal for food science of animal resources*, v. 37, n. 1, p. 44-51, 2017.

SALVATORE, E.; PES, M.; FALCHI, G.; PAGNOZZI, D.; FURESI, S.; FIORI, M.; ROGGIO, T.; ADDIS, M. F.; PIRISI, A. Effect of whey concentration on protein recovery in fresh ovine ricotta cheese. *Journal of Dairy Science*, v. 97, n. 8, p. 4686-4694, 2014.

TARHAN, O.; KAYA, A. Investigation of the compositional and structural changes in the proteins of cow milk when processed to cheese. *LWT - Food Science and Technology*, v. 151, p. 112102, 2021.

VASBINDER, A. J.; VELDE, F.; KRUIF, C. G. Gelation of casein-whey protein mixtures. *Journal Dairy Science*, v. 87, p. 1167-1176, 2004.