

Técnicas analíticas tradicionais e alternativas para controle de qualidade e identificação de fraudes em leite

Palavras-Chave: Leite, Adulteração, Fraude.

Autoras:

Thainá Bianchi Mazzarella - UNICAMP

Prof^a. Dr^a. Juliana Azevedo Lima Pallone - UNICAMP

INTRODUÇÃO:

O leite é uma mistura complexa e sua composição pode variar devido a vários fatores, desde os relacionados ao próprio animal até as condições do ambiente a que este está exposto (VENTURI *et al.*, 2007). Nas últimas décadas, surgiram incentivos para o desenvolvimento de propriedades rurais de produção orgânica, em que o leite e seus derivados se destacaram diante do interesse comercial. Considera-se o leite orgânico aquele produzido no sistema com a ausência de agrotóxico sintético ou demais insumos artificiais tóxicos e organismos geneticamente modificados, visando produtos saudáveis e de elevado valor nutricional (BRASIL, 2003).

Uma vez que muitos aspectos da composição do leite são influenciados por diversos fatores, é possível supor a ocorrência de variação na constituição do leite, devido à diversidade nos sistemas de fazendas orgânicas e não orgânicas. Todavia, devido ao valor comercial destes produtos, estes são alvos de possíveis adulterações que visam a maximização do lucro. As fraudes em leite, orgânico ou convencional, representam um impasse para seus consumidores, pois gera a desconfiança daqueles que buscam um produto autêntico, de alta qualidade e com segurança (CARFORA *et al.*, 2019; CALLAO e RUISÁNCHEZ, 2018 apud CHUNG *et al.*, 2020).

Nas indústrias de laticínios, os principais prejuízos causados pelas fraudes ocorrem quando ingredientes lácteos de alto valor nutricional são substituídos por aditivos mais baratos e de qualidade inferior (BROOKS, 2021). Como consequência deste ato, ocorre a diminuição do valor nutricional, a alteração da qualidade do produto e o risco a saúde dos consumidores, uma vez que essas fraudes podem envolver a presença de diversas substâncias estranhas que podem causar mal à saúde, tais como agentes antimicrobianos e conservantes (peróxido de hidrogênio, formalina, dicromato de potássio, ácido benzóico, ácido salicílico), neutralizantes (bicarbonato de sódio e hidróxido de sódio), reconstituintes de densidade e crioscopia (sacarose, maltodextrina, amido), entre diversos outros compostos como água, uréia, sulfato de amônio, detergentes, óleos vegetais, proteína do soro, carbonatos e bicarbonatos que já foram relatados na literatura para manipular sua composição e mascarar o uso ou ausência de outro componente. (ROBSON *et al.*, 2021).

O impacto dos casos de fraudes em alimentos levou ao aumento da conscientização do consumidor e à introdução de melhorias legislativas e criação de padrões globais, com auxílio de metodologias analíticas que podem auxiliar a identificar as fraudes. Para garantir o controle de qualidade e autenticidade, a análise de alimentos por meio da implementação de técnicas analíticas e sistemas de rastreabilidade permite o estudo, isolamento, identificação e quantificação de compostos (BROOKS, 2021).

Acompanhando o crescimento do sistema de produção mundial do leite nos últimos anos, é notável que as adulterações e fraudes cresceram. Além disso, tendo em vista a importância do leite na alimentação

humana, é de suma importância garantir a qualidade e segurança alimentar aos consumidores. Por esse motivo, objetivou-se com este projeto de iniciação científica, produzir uma revisão da literatura sobre o uso de métodos de análise oficiais, tradicionais e alternativas empregadas para a caracterização físico-química e detecção de fraudes em leite (MARCONE, 2012 apud BROOKS *et al.*, 2021).

MÉTODO:

A fim de obter informações recentes para a revisão de literatura sobre a composição físico-química e técnicas analíticas tradicionais e alternativas para controle de qualidade e identificação de fraudes em leite, foram utilizadas bases de dados científicos incluindo *ScienceDirect*, SCIELO, *Google Acadêmico* e demais portais especializados, além de livros considerados fundamentais para o tema. Para isso, foram pesquisados e estudados uma série de artigos e trabalhos publicados até o presente momento, dando ênfase aos mais atuais, a fim de identificar estudos relevantes publicados, sendo posteriormente cada um deles analisado para construção desta revisão. Nas ferramentas de busca utilizou-se palavras-chave como “fraude”, “adulteração”, “leite”, “orgânico”, “metodologias analíticas”.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

O leite é uma mistura complexa, composta principalmente por proteínas, gordura, lipídios, lactose, sais, minerais e vitaminas. Essa composição pode variar devido a vários fatores, desde os relacionados ao próprio animal como genética, saúde, dieta e estágio de lactação até fatores do ambiente, como o manejo, sistema de produção e a sazonalidade. Dessa forma, a composição do leite e sua qualidade estão diretamente conectados, uma vez que os componentes e suas proporções irão definir suas propriedades organolépticas e industriais (VENTURI *et al.*, 2007).

Com o intuito de estudar a qualidade do leite e as técnicas tradicionais (oficiais) e alternativas para o controle dessa qualidade e a identificação de fraudes, foi realizado um compilado de estudos e pesquisas sobre sua composição físico-química, os principais tipos de fraudes e as técnicas utilizadas para identificá-las.

Segundo uma pesquisa da Food Standards Agency (FSA) em 2014, ao mesmo tempo que as demandas por produtos que são tendências de estilo de vida estão aumentando, fraudes relacionadas a alegações de valor agregado, também acompanham esse crescimento e os produtos orgânico impulsionam o risco de fraude alimentar (NSF Safety and Quality UK Ltd., 2014 apud BROOKS, 2021). No caso do leite, em especial o leite orgânico, devido ao seu preço maior (*premium*), este se torna alvo de adulterações e falsificações. Por esse motivo, se faz cada vez mais necessário o uso de metodologias analíticas que garantam a qualidade e origem orgânica do produto, para que assim o consumidor possa adquirir um produto com confiança. Para isso, existem métodos físico-químicos, que se baseiam em medições de diferentes grandezas físicas, para avaliar a composição química do leite e seus derivados (CHUNG *et al.*, 2020).

Apesar de existirem poucos dados disponíveis sobre leite orgânico na literatura, muitos indicam que este apresenta um maior potencial nutritivo, quando comparado ao convencional (BUTLER *et al.*, 2008; SLOTS *et al.*, 2009 e ŚREDNICKA-TOBER *et al.*, 2016 apud CHUNG *et al.*, 2018; JACINTO, 2014). Em contrapartida, TOLEDO *et al.* (2002), não encontraram diferenças na composição de leites convencionais e orgânicos. Para o controle de qualidade do leite orgânico, e para diferenciá-lo do leite convencional, além dos parâmetros já utilizados para o produto convencional, outros parâmetros como compostos fenólicos, antioxidantes, isótopos estáveis e o perfil de ácidos graxos podem ser levados em consideração durante as análises (WILLIAMS, 2002).

Os principais parâmetros, conforme recomendado pela Instrução Normativa N° 76 (MAPA, 2018A), utilizados pelos programas de qualidade industrial para avaliar amostras de leite líquido e em pó de origem orgânica e convencional são pH, acidez, sólidos totais, teores de proteína, carboidratos, lipídios, lactose, cinzas e a contagem de células somáticas (NORO *et al.*, 2006). Para as amostras de leite em pó os parâmetros avaliados são baseados na Instrução Normativa N° 53 (MAPA, 2018B) e incluem lipídeos, umidade,

proteínas e acidez titulável. Entretanto, os métodos tradicionais de análise de leite requerem o uso de reagentes químicos onerosos e elevado tempo de análise, e não atendem os requerimentos da indústria 4.0 que preconiza análises simples, de baixo custo e capazes de adquirir respostas em tempo real durante a sua cadeia de produção. Nesse contexto, existe uma alta demanda por métodos analíticos alternativos, simples e de baixo custo que possam prover resultados rápidos e exatos para análises de controle de qualidade e identificação de adulterações em amostras de leite na forma líquida e em pó (LIU et al., 2018).

Na revisão realizada foram abordadas diversas técnicas analíticas, entre elas algumas tradicionais e outras alternativas, em que foram estudados os princípios de cada uma, sua aplicabilidade, assim como as vantagens e desvantagens de cada uma, com foco na avaliação da qualidade e tipo do leite (convencional e orgânico) e identificação de fraude. Entre as técnicas estudadas, destacaram-se as técnicas analíticas baseadas em DNA como a reação em cadeia da polimerase (PCR) e o ensaio imunoenzimático (ELISA), a cromatografia e as técnicas espectrométricas/espectroscópicas.

O leite é considerado uma fonte de DNA e um fluido rico em células somáticas provenientes das glândulas mamárias do animal, o que pode explicar os estudos que indicaram o uso bem-sucedido de várias metodologias baseadas em DNA para autenticação e rastreabilidade do leite no setor de laticínios, demonstrando-se capaz de identificar adulterações como a mistura de leites de espécies diferentes (KAMAL e KAROUI, 2015). As metodologias baseadas em DNA se destacaram por apresentar uma alta sensibilidade, reprodutibilidade e relativamente simples. O PCR demonstrou uma detecção específica e sensível do leite, qualitativa e quantitativa de adulterantes de leite, incluindo leite de outras fontes e espécies diferentes, se mostrando útil também para a detecção de adição de proteínas exógenas no leite. Alguns estudos investigam a possibilidade de desenvolver dispositivos de PCR de fácil manuseio e de baixo custo, com precisão e estabilidade comparáveis às alternativas comerciais. Já o ELISA demonstrou potencial tanto para a detecção qualitativa quanto para uma detecção quantitativa de adulterantes no leite, se mostrando uma boa opção, em especial, para a detecção de práticas de adição fraudulenta de soro de leite no leite.

A cromatografia foi reconhecida como um dos métodos físico-químicos de separação mais utilizados, em função de sua alta eficiência na determinação de diferentes compostos, além de sua alta sensibilidade, seletividade e reprodutibilidade (FORGÁCS e CSERHÁTI, 2003). As pesquisas indicaram o seu grande potencial para análise de leites, quando combinada a diferentes sistemas de detecção. No entanto, elas ainda apresentam problemas pertinentes como o alto custo instrumental e procedimentos de pré-tratamento de amostra complicados.

A espectrometria de massas, por sua vez, demonstrou grande potencial quando acoplada a outras metodologias de análises, como a cromatografia líquida de alta eficiência e cromatografia a gás, ou como técnica direta, dada a sua alta reprodutibilidade, especificidade, e sensibilidade porém, apresenta alto custo (VALLETTA *et al.*, 2021). Em especial, a técnica de espectrometria de massas com foco em razão isotópica se destacou como uma boa metodologia alternativa para o estudo da rastreabilidade e identificação de leite e derivados. Alguns autores já relataram o uso da técnica para autenticação do leite orgânico e seus derivados (AONO, 2014).

As pesquisas apontaram que as técnicas espectroscópicas na região do ultravioleta (UV), visível (VIS) e infravermelho (IR) têm ganhado espaço e se tornado promissoras para determinar a autenticidade e detectar adulteração em alimentos. As principais vantagens dessas técnicas sobre as demais se dão em razão de sua rapidez, não destrutivas, baixo custo de aplicação, alta capacidade de detectar contaminantes em alimentos com boa precisão, e por isso, se mostraram metodologias alternativas ideais para substituir as de referência e tradicionais. Sendo as técnicas de infravermelho as que mais se destacaram diante das demais nas pesquisas (KAMAL e KAROUI, 2015).

Muitos estudos vêm sendo realizados comparando a eficiência de técnicas analíticas alternativas, como a espectroscopia no infravermelho, entre outras, com os métodos de referência, para avaliar a aplicabilidade destas técnicas como uma alternativa mais rápida para a análise de leite cru. Silveira et al. (2004) compararam as metodologias de referência com as técnicas de espectroscopia no infravermelho para determinação dos principais componentes do leite, como gordura, proteína, lactose e sólidos totais e

concluíram que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os valores das duas análises, indicando que a análise por infravermelho é possível, segura e confiável (DUARTE, 2018). Com base em muitas pesquisas, a espectroscopia no infravermelho se mostrou uma alternativa interessante e hoje já faz parte da rotina dos laboratórios de análise da qualidade do leite.

Ademais, foram encontrados muitos estudos voltados para a determinação e autenticidade de leite cru, leite em pó, e derivados do leite que se baseiam na espectroscopia no infravermelho. As pesquisas indicaram a capacidade dessa técnica em determinar componentes químicos do leite e derivados, além de ser capaz de detectar a presença de adulterantes como o soro, uréia, peróxido de hidrogênio, água e melamina em leite em pó desnatado. Ainda, já foi aplicada em leite para determinação de caseína, proteína e lactose. Como vantagens apresenta a rapidez, não destruição das amostras, não necessita de pré-tratamento. Atualmente, a NIR (espectroscopia de infravermelho próximo) é uma das técnicas mais promissoras, sendo avaliada como uma técnica capaz de discriminar as amostras controle de leite, de potenciais adulterantes, permitindo a identificação de fraudes no leite, além de ser uma das técnicas mais promissoras para a avaliação da qualidade do leite orgânico em grande escala e capaz de atender às expectativas analíticas e demandas do mercado (FERRÃO, 2007; SANTOS *et al.*, 2013; CONCEIÇÃO, 2018).

Muitos estudos científicos foram publicados nos últimos anos demonstrando o potencial da quimiometria aplicada a dados gerados a partir de metodologias analíticas como a cromatografia, espectrometria de massa e, em especial, a espectroscopia, para a autenticação de produtos lácteos e identificação de fraudes. O uso dessas ferramentas permite potencializar a aplicação de métodos analíticos, se mostrando uma grande aliada para determinar adulterantes em leite (KAMAL e KAROUI, 2015).

CONCLUSÕES:

Através da revisão da literatura foi possível verificar as vantagens e desafios de algumas metodologias de análise para a avaliação da composição e identificação de adulterações no leite. Constatou-se que o leite é um grande alvo de adulterações e fraudes, quase sempre motivadas pelo ganho econômico e que essas representam um risco à saúde do consumidor. Seguindo as tendências mercadológicas, o leite orgânico, em especial, devido ao seu preço *premium*, também se tornou um grande foco de fraudes. A evolução dos tipos de fraude, que estão cada vez mais elaboradas e sofisticadas, dificulta a detecção de adulterações pelas metodologias tradicionais, neste contexto faz-se necessário o aperfeiçoamento das técnicas de detecção de fraudes para garantir a sua autenticidade. A revisão demonstrou o potencial das técnicas analíticas alternativas para substituir as oficiais e tradicionais. A espectroscopia de infravermelho se destacou como uma das técnicas alternativas com grande potencial para a análise da composição e identificação de adulterantes em leite cru e em leite em pó, além de atender os requerimentos da indústria 4.0 que preconiza análises simples, de baixo custo e capazes de adquirir respostas em tempo real durante a sua cadeia de produção.

BIBLIOGRAFIA

AONO, Natalia Mitiko. **Diferenciação do Leite Convencional e Orgânico por Análises de Isótopos Estáveis e de Compostos Antioxidantes**. Dissertação de Pós-graduação em Zootecnia na Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho” Faculdade De Medicina Veterinária E Zootecnia. Botucatu-SP. Novembro, 2014.

BRASIL. Lei n.10.831, de 23 de dezembro de 2003a. Dispõe sobre a agricultura orgânica. In: IBD CERTIFICAÇÕES. Diretrizes e Legislação. **Decreto da Lei 10.831 de Produtos Orgânicos**. Disponível em: http://www.ibd.com.br/Downloads/DirLeg/Legislacao/05-Lei_10831_2003.pdf Acesso em: 24 de Jun. 2021.

BROOKS, Christopher Brooks *et al.* **A review of food fraud and food authenticity across the food supply chain, with an examination of the impact of the COVID-19 pandemic and Brexit on food industry**. Food Control, Volume 130, December 2021.

BUTLER, G. *et al.* **Fatty acid and fat-soluble antioxidant concentrations in milk from high- and low-input conventional and organic systems: Seasonal variation**. Journal of the Science of Food And Agriculture, 88, pp. 1431-1441. 2008.

- CARFORA, V. *et al.* **Explaining consumer purchase behavior for organic milk: Including trust and green self-identity within the theory of planned behavior.** Food Quality and Preference, Volume 76, Pages 1-9. September 2019.
- CHUNG, Ill-Min *et al.* **Discrimination of organic milk by stable isotope ratio, vitamin E, and fatty acid profiling combined with multivariate analysis: A case study of monthly and seasonal variation in Korea for 2016–2017.** Food Chemistry. Volume 261, 30, Pages 112-123. September 2018.
- CHUNG, Ill-Min *et al.* **A case study for geographical indication of organic milk in Korea using stable isotope ratios-based chemometric analysis.** Food Control, volume 107. January 2020.
- CONCEIÇÃO, Daniele Gomes. **Utilização do FTIR Aliado a Análise Quimiométrica como Ferramenta de Triagem para Identificação de Adulterantes no Leite Cru.** Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Fevereiro de 2018.
- DUARTE, Erika Lopes. **Espectroscopia por Transformada de Fourier como Método de Triagem na Avaliação da Crioscopia de Leite.** Dissertação apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2018.
- FERRÃO, Marco F. *et al.* **LS-SVM: Uma Nova Ferramenta Quimiométrica para Regressão Multivariada. Comparação de Modelos de Regressão LS-SVM e PLS Na Quantificação De Adulterantes Em Leite Em Pó Empregando NIR.** Quim. Nova, Vol. 30, No. 4, 852-859. Campinas, 2007.
- FORGÁCS, E. e CSERHÁTI, T. **CHROMATOGRAPHY | Principles.** Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition), Academic Press, Pages 1259-1267, 2003.
- JACINTO, L.M.B., RODRIGUES, M.A.M. e GUIMARÃES, E.C. **Aspectos físico-químicos e microbiológicos de leite orgânico e leite convencional.** PUBVET, Londrina, V. 8, N. 9, Ed. 258, Art. 1711, Maio, 2014.
- KAMAL e KAROUI, 2015 **Analytical methods coupled with chemometric tools for determining the authenticity and detecting the adulteration of dairy products: A review.** Trends in Food Science & Technology, Volume 46, páginas 27-48. Novembro de 2015.
- LIU, Ningjing *et al.* **Evaluation of portable near-infrared spectroscopy for organic milk authentication.** Talanta, Volume 184, Pages 128-135. 2018.
- MAPA, A. **INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 76, DE 26 DE NOVEMBRO DE 2018.** Disponível em: https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/52750137/do1-2018-11-30-instrucao-normativa-n-76-de-26-de-novembro-de-2018-52749894IN%2076. Acesso em 20 de julho de 2021.
- MAPA, B. **INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 53, DE 1º DE OUTUBRO DE 2018.** Disponível em: https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/45374372/do1-2018-10-16-instrucao-normativa-n-53-de-1-de-outubro-de-2018-45374042. Acesso em 20 de julho de 2021.
- NORO, G., *et al.* **Fatores ambientais que afetam a produção e a composição do leite em rebanhos assistidos por cooperativas no Rio Grande do Sul.** Revista Brasileira de Zootecnia, v.35, p.1129- 1135, 2006.
- ROBSON, Kelsey *et al.* **A comprehensive review of food fraud terminologies and food fraud mitigation guides.** Food Control, Volume 120, February 2021.
- SANTOS, P. M.; PEREIRA-FILHO, E. R.; RODRIGUEZ-SAONA, L. E. **Rapid detection and quantification of milk adulteration using infrared microspectroscopy and chemometrics analysis.** Food Chemistry, v. 138, p. 19-24. London, 2013
- SILVEIRA, T. M. L. *et al.* **Comparação entre métodos de referência e a análise eletrônica na determinação da composição do leite bovino.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. v.56, n. 6, p.782-787, 2004.
- TOLEDO, P.; ANDRÉN, A.; BJÖRCK, L. **Composition of raw milk from sustainable production systems.** International Dairy Journal, v. 12, n. 1, p. 75-80, 2002.
- VALLETA ET AL, 2021. **Mass spectrometry-based protein and peptide profiling for food frauds, traceability and authenticity assessment.** Food Chemistry, Volume 365, 15 December 2021.
- VENTURINI, K. S.; SARCINELLI, M. F.; SILVA, L. C. da. **Características do leite.** Vitória: Universidade Federal do Espírito Santo/Pró-Reitoria de Extensão, Programa Institucional de Extensão, 2007.
- WILLIAMS C.M. **Nutritional quality of organic food: shades of grey or shades of green?** Proc Nutr Soc. 61:19-24. 2002.