

**APLICAÇÃO DA ANÁLISE MULTIVARIADA COMO TESTE DE “SCREENING” NA
DETECÇÃO DA FRAUDE DE LEITE CRU POR ADIÇÃO DE SORO DE LEITE**

LUDMILA CARRIL FERNÁNDEZ¹, FLAVIO RODRIGUES DOMINGUES², EDUARDO
MENDES RAMOS³, ALCINEIA DE LEMOS SOUZA RAMOS⁴, RAIMUNDO ALBERTO GOMES
DA SILVA⁵

RESUMO

Este trabalho foi realizado com o objetivo de empregar a análise multivariada (MANOVA) para obter uma função discriminante que permita classificar, a partir de análises de rotina nos laticínios, amostras de leite cru em adulteradas ou não, quanto à adição de soro de leite. As amostras foram preparadas através da mistura do leite cru com diferentes concentrações de soro (0, 1, 2, 5, 10 e 20%) e posteriormente analisadas para índice crioscópico, densidade, gordura, acidez, sólidos totais e potencial hidrogeniônico (pH). A função discriminante linear obtida apresentou uma probabilidade de má classificação de 47,3%, sendo este erro mais freqüente nas amostras com pequena porcentagem de soro, especialmente aquelas com adição inferior a 5%, as quais são consideradas relativamente baixas para uma fraude. Apesar da dificuldade do método em identificar a adulteração por baixa quantidade de soro, estes resultados confirmam o potencial da aplicação da MANOVA, na análise e interpretação de dados de rotina nos laticínios.

Palavras-chave: MANOVA, Análise discriminante, Análises de rotina, Subproduto

INTRODUÇÃO

A adulteração de leite e produtos derivados através da adição intencional de soro de leite é um problema que vem preocupando as autoridades nacionais e internacionais. Isso ocorre em consequência do baixo valor comercial do soro, seu reduzido aproveitamento em derivados e subprodutos lácteos e do alto custo para seu descarte (SOARES et al., 2006). Segundo DOMINGUES et al. (2010), o limiar de detecção da fraude de leite pasteurizado por adição de soro de leite é de aproximadamente 20%, o que demonstra a considerável limitação sensorial humana para o reconhecimento deste tipo de fraude. Atualmente existem vários métodos para a detecção desta fraude, sendo que no Brasil as atenções têm-se voltado para a fraude por adição de soro ao leite *in natura*, devido a sua maior participação no mercado nacional (PEREIRA et al., 2001; SILVA et al., 2009a). A adição fraudulenta de soro ao leite é normalmente detectada e quantificada pela determinação da caseína macropeptídeo (CMP), um fragmento hidrofílico da *k*-caseína, liberado durante a coagulação enzimática e que permanece no soro (RECIO et al., 2000). A CMP é geralmente quantificada através de métodos cromatográficos (VELOSO et al., 2002), eletroforéticos (DE SOUZA et al., 2000) e espectrofotométricos (FUKUDA et al., 1996). No entanto, tais metodologias são morosas e requerem equipamentos específicos, de alto custo de implantação e que necessitam de mão de obra capacitada para realização das análises. Em estudos preliminares (SOARES et al., 2005 e 2006; SILVA et al., 2009a e 2009b; da SILVA et al., 2010), foi constatado o potencial de aplicação da estatística multivariada (MANOVA), especificamente da análise discriminante, na avaliação e interpretação de dados de rotina na indústria de alimentos. Tal método, apesar de simples, se apresentou eficiente, rápido e não acarreta no aumento de custos de análises.

¹ Graduanda em Engenharia de Alimentos, DCA/ UFLA, lud.fernandez@gmail.com

² Engenheiro de Alimentos, DCA/UFLA, flaviorodom85@hotmail.com

³ Professor Associado, DCA/UFLA, emramos@dca.ufla.br

⁴ Professora Associada, DCA/UFLA, alcineia@dca.ufla.br

⁵ Bolsista PRODOC CAPES/DCA/UFLA, ralberto@dca.ufla.br

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Controle de Qualidade do Laticínio Verde Campo, na cidade de Lavras-MG, no período de abril de 2009 a abril de 2010. As amostras de leite analisadas foram preparadas através da mistura do leite cru com diferentes concentrações de soro (0, 1, 2, 5, 10 e 20%), obtido através de coagulação enzimática do leite. Imediatamente após o preparo, as amostras foram analisadas para: Índice Crioscópico (IC), em crioscópio digital (ITR-MK540), expresso pela depressão do ponto de congelamento; Densidade (D), em termolactodensímetro, expressa em graus lactodensimétricos; Gordura (G), em determinador semi-automático (ITR MK 2.5), expressa em percentual; Acidez (A), pelo método da AOAC (1996), expressa em graus Dornic; Sólidos Totais (ST), através da leitura direta em disco de Ackermann, expresso em percentual; e Potencial Hidrogeniônico (pH), determinado em potenciômetro digital. As análises foram conduzidas em 49 repetições para leite puro e 245 repetições para leite fraudado com diferentes concentrações de soro. Os dados obtidos foram submetidos à análise multivariada (MANOVA) e à análise discriminante, sendo classificadas em “não fraudadas” ou “fraudadas” e estimada a probabilidade de má classificação, segundo procedimentos descritos por (SOARES et al. 2006).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi observada diferença significativa ($P < 0,05$) entre as duas populações (leite fraudado e autêntico), sendo obtida a função discriminante linear amostral representada na equação 1.

$$D(x) = -0,1043.IC - 9,5877.D - 55,0244.G + 0,4347.A + 51,4820.ST + 6,1292.PH \quad (1)$$

A separação das duas populações, através da função discriminante obtida, também foi significativa ($P < 0,01$), sendo as amostras que apresentarem valor $D(x) < 121,93$ classificadas como “leite adulterado”. Valores iguais ou superiores a este indicam “leite não fraudado”. A função discriminante obtida apresentou uma probabilidade de má classificação de 47,3%, sendo este erro mais frequente nas amostras com pequena porcentagem de soro, especialmente aquelas com adição inferior a 5% (Tabela 1), o que pode ser considerado relativamente baixo para uma fraude, visto que o método oficial da detecção do ácido siálico pelo uso da ninidrina (BRASIL, 2006) é sensível para leites fraudados com quantidades acima de 2% de soro de leite.

Tabela 1. Percentual de má classificação das amostras de leite adicionadas de diferentes concentrações de soro, obtido através da discriminante linear amostral

	Soro adicionado (%)					
	0	1	2	5	10	20
Acertos	40	9	10	19	31	46
Erros	9	40	39	30	18	3
Má classificação (%)	18,37	81,63	79,59	61,22	36,73	6,12

A margem de erro observada neste experimento foi bem superior aos 2,4% relatado por (SOARES et al. 2005), devido ao fato destes autores avaliarem a fraude de leite em até 50% de adição de soro, o que aumenta a eficiência do método. Em trabalho preliminar, realizado com os dados deste experimento, coletados no período de março a maio de 2009 (21 repetições para leite puro e 105 repetições para leite fraudado), (SILVA et al. 2009b) obtiveram uma margem de erro de 36,0%. Já (Da SILVA et al. 2010), trabalhando com amostras coletadas em Viçosa, MG, no período de junho de 2009 a março de 2010, obtiveram uma margem de erro de 30,3%. As discrepâncias observadas nas margens de erro obtidas possivelmente são oriundas das diferenças nas condições de criação dos animais, tais como estação do ano, raça, alimentação, etc., que pode interferir diretamente nos parâmetros físico-químicos dos leites (SILVA et al., 2009a). Os dados aplicados neste experimento e no trabalho de SILVA et al. (2009b) são oriundos de animais criados na Zona das Vertendes, enquanto os trabalhos de Da SILVA et al. (2010) são de animais criados na Zona da Mata. Isto permite postular a necessidade de se criar diferentes funções discriminantes, para diferentes regiões e, possivelmente,

diferentes estações do ano (épocas de seca e de chuva), de forma a se otimizar a detecção e permitir uma redução nas margens de erro. A margem de erro deste experimento, bem como dos demais que utilizaram a MANOVA como ferramenta (SILVA et al., 2009a e 2009b; da SILVA et al., 2010), ficou acima dos valores de 20% de erro reportados por FUKUDA et al. (1996), utilizando a metodologia da ninidrina ácida para determinação do ácido siálico. No entanto, o método utilizado por estes autores demanda um tempo relativamente alto, necessita de equipamentos onerosos e específicos e implica no aumento do número de análises utilizadas para controle de qualidade deste produto. Apesar da dificuldade do método em identificar a adulteração por baixa quantidade de soro, estes resultados confirmam o potencial da aplicação da MANOVA, na análise e interpretação de dados de rotina nos laticínios. O emprego da função discriminante como indicativo (teste de *screening*) da adição de soro ao leite *in natura* permitiria a redução dos custos de análise na fiscalização do produto, uma vez que apenas as amostras suspeitas (classificadas como “adulteradas”) seriam encaminhadas para análises específicas que são demoradas e onerosas.

CONCLUSÃO

O emprego da análise multivariada, através da função discriminante, permitiu detectar a fraude por adição de soro ao leite cru a partir dos resultados obtidos na análise de rotina, sem a necessidade de aumentar o número de análises e, conseqüentemente, sem elevar o custo. No entanto, a margem de erro pode ser melhorada a partir da elaboração das funções discriminantes por região de criação dos animais e, ou, estação do ano.

REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

AOAC INTERNATIONAL. **Official Methods of Analysis**. 16 ed. Washington: Association of Official Analytic Chemists, 1996.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA). Instrução Normativa no. 68, de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários. **Diário Oficial da União**, Seção 1, p.8, de 14 de dezembro de 2006.

Da SILVA, T.D., FONTES, E.A.F., PINTO, T.F., RAMOS, A.L.S., SILVA, R.A.G. Aplicação da análise multivariada para obtenção de uma função discriminante para detecção de adição de soro de leite em leite. In: XXVII CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 12 a 15 de julho de 2010, Juiz de Fora, MG. **Anais...**, 2010.

DE SOUZA, E.M.T., ARRUDA, S.F., BRANDÃO, P.O., SIQUEIRA, M.A. Electrophoretic analysis to detect and quantify additional whey in milk and dairy beverages. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.20, n.3, p.314-317, 2000.

DOMINGUES, F.R., FERNANDEZ, L.C., SILVA, R.A.G., RAMOS, E.M., MARQUEZ, A.C., RAMOS, A.L.S. Detecção sensorial de fraude em leite integral adulterado por adição de soro de leite. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFLA (CIUFLA), 13, 2010. **Resumos...**, Lavras: SBPC, 2010. (submetido)

FUKUDA, S.P., ROIG, S.M., PRATA, L.F. Aplicação do método da ninidrina ácida como teste de “screening” de plataforma para detecção da adição de soro ao leite. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.16, n.1, p.52-56, 1996.

PEREIRA, D. B. C., et al. **Físico Química do Leite e Derivados**: Métodos analíticos, 2.ed. Juiz de Fora: EPAMIG, 2001. 234p.

RECIO, I., GARCIA-RISCO, M.R., LÓPEZ-FANDIÑO, R., OLANO, A., RAMOS, M. Detection of rennet whey solids in UHT milk by capillary electrophoresis. **International Dairy Journal**, v.10, p.333-338, 2000.

XIX CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA
27 de setembro a 01 de outubro de 2010

SILVA, R.A.G., DOMINGUES, F.R., REZENDE, L.C.G., RAMOS, E.M., RAMOS, A.L.S. Características Físico-Químicas de Leite Cru Fraudado com Diferentes Concentrações de Soro de Leite. In: XVI ENCONTRO NACIONAL DE ANALISTAS DE ALIMENTOS (ENAAL), 19 a 23 de julho de 2009, Belo Horizonte, MG. **Anais...**, 2009a. CD-ROM. 3p.

SILVA, R.A.G., RAMOS, E.M., RAMOS, A.L.S., DOMINGUES, F.R., REZENDE, L.C.G. Detecção da Adição de Soro ao Leite Cru através da Análise Estatística Multivariada. In: XVI ENCONTRO NACIONAL DE ANALISTAS DE ALIMENTOS (ENAAL), 19 a 23 de julho de 2009, Belo Horizonte, MG. **Anais...**, 2009b. CD-ROM. 3p.

SOARES, E.C., BITTENCOURT, J.N., RAMOS, A.L.S., RAMOS, E.M. Análise estatística multivariada como teste para detecção de adição de soro ao leite pasteurizado. **Revista do Instituto “Candido Tostes”**, n.351, v.61, p.37-42, jul/Ago, 2006.

SOARES, E.C., RAMOS, A.L.S., RAMOS, E.M. Detecção de fraude de leite através de análise multivariada. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DOS ALIMENTOS (SLACA), 6, 2005. **Resumos...**, Campinas: SBCTA, 2005a. CD-ROM

VELOSO, A.C.A., TEIXEIRA, N., FERREIRA, I.M.P.L.V.O., FERREIRA, M.A. Detecção de adulterações em produtos alimentares contendo leite e/ou proteínas lácteas. **Química Nova**, v.25, n.4, p.609-615, 2002.