

COMPARAÇÃO DE DIFERENTES METODOLOGIAS PARA DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS EM LEITE CRU DO MUNICÍPIO DE DOM PEDRITO

BRUNA_POLETTI¹; ANGÉLICA TAROUCO MACHADO²; NAIANE TEIXEIRA DE ANDRADE²; CÍNTIA SAYDELLES DA ROSA²; CAROLINA VESCOVI POLTRONIERI²; TISA ECHEVARRIA LEITE³

¹Universidade Federal do Pampa Campus Dom Pedrito – brupoletti@hotmail.com

²Universidade Federal do Pampa Campus Dom Pedrito – angelicatmachado@hotmail.com
colonadaserra@hotmail.com; cintiasaydelles@hotmail.com; carol.poltronieri@hotmail.com

³Universidade Federal do Pampa Campus Dom Pedrito – tisael@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

As proteínas desempenham papel extremamente importantes, na maioria dos processos biológicos, atuando como enzimas, hormônios, neurotransmissores, transportadores através das membranas celulares e outros (ZAIA, 1998). O desenvolvimento de metodologias e estudos comparativos de metodologias espectrofotométricas para a determinação de proteínas totais sempre foram de grande interesse para diversos setores, tanto para a indústria de alimentos como para laboratórios e pesquisadores de diferentes áreas (SOUZA, 2003).

As proteínas do leite são de fácil digestão. Além disso, elas são de elevado valor biológico — contêm os aminoácidos essenciais em quantidade e proporção adequadas. Daí sua importância na alimentação, principalmente na fase de crescimento, pois é possível obter do leite boa parte das necessidades diárias de proteínas (CANGANI, 2009). Segundo o mesmo autor, os métodos para determinação da proteína total são muito variados, no entanto, as metodologias mais utilizadas são as espectrofotométricas no ultra- violeta(UV) e no visível (vis).

O método do Biureto se baseia na reação do reativo do biureto, constituído de uma mistura de cobre e hidróxido de sódio . O cobre em meio alcalino, reage com proteínas formando um complexo quadrado planar com a ligação peptídica (CANGANI, 2009). O produto de reação apresenta duas bandas de absorção, uma de 270 nm e outra em 540 nm, esta última sendo a mais utilizada para fins analíticos. Esta metodologia serve para determinar a concentração de proteínas totais em diversos meios por ser um processo rápido se comparado com outros métodos, por utilizar reagentes de baixo custo e por não apresentar grande variação da absorvidade específica para diferentes proteínas (CAMPOS, 2009). Este método não é muito sensível DIAS, ZAIA et al., (1998) todavia, recomenda-se ainda seu uso para a análise de leite.

Já o princípio do método de Bradford consiste na determinação de proteínas totais utilizando o corante de “Coomassie brilliant blue”BG-250. Este método se baseia na interação entre o corante e macromoléculas de proteínas que contem aminoácidos de cadeias laterais básicas ou aromáticas (NEVES, 2010). No pH de reação, a interação entre as proteínas de alto peso molecular e o corante provoca o deslocamento do equilíbrio do corante para a forma aniônica, que absorve fortemente em 595 nm (ZAIA, 1998).

O objetivo principal deste trabalho foi comparar a eficiência dos métodos Bradford e Biureto na análise do teor de proteína do leite bovino.

2. METODOLOGIA

Foram utilizadas 7 diferentes amostras de leite bovino, comercializadas de forma clandestina e provenientes de diversas localidades do município de Dom Pedrito. Para quantificação de proteínas através do método do Biureto diluiu-se 2,0mL de cada amostra de leite em 8,0mL de água destilada para determinar a concentração de proteína (mg/mL) no leite diluído e compará-la com a do leite padrão (solução de CASEÍNA- BSA- 5mg/mL), fazendo as correlações necessárias. Os resultados são expressos em gramas de proteína por 100 mL de leite (%).

Para a determinação das proteínas através do método de Bradford foi utilizado o reagente de Bradford, constituído de Coomassie Brilliant Blue G-250, etanol 95% e ácido fosfórico 85%. Uma solução-mãe de albumina bovina de concentração conhecida foi então preparada no tampão salino e, a partir desta solução-mãe, preparou-se cinco diluições com as seguintes concentrações: 0,44 µg/mL; 0,9 µg/mL; 1,3 µg/mL; 1,8 µg/mL e 2,2 µg/mL. Em seguida, as respectivas absorbâncias a 595nm foram determinadas em espectrofotômetro. A comparação dos resultados obtidos nas amostras de leite com a curva padrão permitiu a determinação da concentração de proteína nas amostras.

As comparações entre as porcentagens de proteínas nas amostras foram realizadas através do método Qui-quadrado com o Programa Estatístico SPSS®.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores de proteína das amostras estudadas estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Resultados Da Quantificação De Proteínas Nas Diferentes Amostras De Leite Expressos

AMOSTRA	BIURETO (g/100mL)	BRADFORD (g/100mL)
1	2,2220	2,0632
2	2,1974	2,1264
3	2,2859	1,2440
4	2,3199	2,0948
5	2,0599	2,1494
6	1,6789	1,5199
7	2,2369	2,7847

Fonte: O autor

Os valores médios de proteína nas amostras analisadas foi de 2,143±0,22 g/100mL pelo método de Biureto e de 1,997±0,495 g/100mL pelo método de Bradford. Não foi observada diferença significativa ($P>0,05$) entre os resultados dos dois métodos.

Segundo CAMPOS; ANDRADE (2001) e NETO et al. (2011) o teor médio de proteína presente no leite deve ser de 3% e dentre os requisitos físico-químicos estabelecidos pela IN-62 (BRASIL, 2011) para o leite cru refrigerado indicando para proteína o teor mínimo de 2,9 g/100g, superior a média geral de 2,070±0,376 g/100mL observada nas amostras analisadas.

4. CONCLUSÕES

Os dois métodos demonstraram a mesma eficiência na detecção do teor de proteína do leite bovino.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ZAIA, C.T.B.V.; LICHTIG, J. Determinação de Proteínas Totais Via Espectrofotometria: Vantagens e Desvantagens dos Métodos Existentes. **Química Nova**, São Paulo, v. 21, n 6, p. 18-23, 1998.

CANGANI, A.P.; CAMPOS, A.C.; BORBA, F.L. Fracionamento de Proteínas do Leite e Método de Biureto. In: Salão de Iniciação Científica da UEPG, Ponta Grossa: UEPG, 2009.

SOUZA, C.M., NICOLAU, E.S.; Padronização e Validação da Técnica de Espectrofotometria Pela Técnica CLAE Para Pesquisas em Leite Cru e Processado. In: CONGRESSO DE PESQUISA, ENSINO E EXTENSÃO DA UFG - CONPEEX, 2., 2005, Goiânia. Anais eletrônicos do XIII Seminário de Iniciação Científica, Goiânia: UFG, 2003. n.p.

LABTEST. **Guia Técnico- Bioquímica**. Labtest Digital, Lagoa Santa, 2009. Acessado em 23 julho 2014. Online. Disponível em: [file:///C:/Users/user/Downloads/Guia_Tecnico.unificado.Bioquimica.04022011%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/user/Downloads/Guia_Tecnico.unificado.Bioquimica.04022011%20(1).pdf)