

A agricultura orgânica tornou-se um dos setores mais promissores no Agronegócio Brasileiro e, nesse contexto, a produção de frangos de corte e aves de postura em sistema orgânico, torna-se uma excelente alternativa para a sustentabilidade da agricultura familiar e/ou de pequeno porte. Além do baixo custo da carne de frangos oferecidos ao consumidor, em relação às demais proteínas animais, trata-se de um alimento nutritivo e saboroso.

As carnes são compostas de quatro tipos básicos de tecidos: muscular, epitelial, nervoso e conjuntivo (Sgarbieri, 1996). O músculo é o principal componente da carne, e é composto de três classes de proteínas: sarcoplasmáticas, miofibrilares e estromáticas. As proteínas sarcoplasmáticas são solúveis em soluções de baixa força iônica e representam 30-35% da proteína total da musculatura esquelética. As miofibrilares se caracterizam por serem solúveis em soluções de alta força iônica e representam 52-56% de toda proteína muscular e as estromáticas são insolúveis em solventes aquosos e perfazem o total de 10-15% de toda proteína muscular (Sgarbieri, 1996).

Quando se caracteriza as proteínas quanto à sua função biológica, dentro dos nove grupos encontrados (estruturais, transporte, defesa, hormonais, fatores de crescimento, proteínas catalíticas, contráteis, receptoras e de transferência de elétrons), destaca-se que a miosina e a actina pertencem ao grupo das proteínas contráteis que compõem o tecido muscular.

Do ponto de vista nutricional, com raras exceções, as proteínas de origem animal apresentam um melhor equilíbrio de seus aminoácidos indispensáveis e um maior índice de digestibilidade do que as de origem vegetal (Sgarbieri, 1987).

A utilização de eletroforese para estudo de perfil protéico tem sido utilizada para caracterização de vários alimentos protéicos (Kaiser & Krause, 1985), desde a forma in natura (Kaiser & Krause, 1985) até a processada (Cheng & Parrish, 1979). Esta técnica também tem sido utilizada para identificação de espécies de peixes ou frutos do mar (Craig et al., 1995) o que a torna muito útil para aspectos relacionados com legislação.

Obtenção de Padrão de Identidade de Peito de Galinha Através de Eletroforese SDS-PAGE

Marilia Penteado Stephan¹
Maria da Graça Fichel do Nascimento²

Neste trabalho tem-se como objetivo final avaliar o efeito da adição de carvão vegetal na ração de galinha. Também faz parte de uma das atividades deste projeto de pesquisa verificar a presença de modificações na composição protéica-molecular na carne de galinhas orgânicas (peito), além de caracterizar um padrão de identificação da mesma. Como método de identificação foi utilizada a eletroforese, e através da separação do "pool" protéico presente no peito destas galinhas, pode-se futuramente avaliar o efeito da adição de carvão na dieta das galinhas, criadas dentro de um sistema orgânico de produção.

Eletroforese de Proteínas

Para o presente estudo foi utilizado o sistema de eletroforese da Biorad e a metodologia de preparação dos géis descrita por Laemmli (Laemmli, 1970). Para o gel de corrida foi utilizada acrilamida na concentração de 12% e no gel de aplicação da amostra, esta foi utilizada na concentração de 4%. A corrida foi realizada durante sete horas sob uma tensão de 100V. Os marcadores de alto peso molecular foram obtidos a partir dos seguintes padrões de proteínas (em kDa): 220-miosina; 170- α -macroglobulina; 116- β -galactosidase; 76-transferina; 53-glutamato desidrogenase. Os marcadores de baixo peso molecular foram obtidos a partir dos seguintes padrões de proteínas (em kDa): 97-fosforilase b; 66-albumina; 45-ovalbumina; 30-anidrase carbônica; 20,1-inibidor de tripsina; 14,4- α lactalbumina. As proteínas dos

¹Farmac., D.Sc., Pesquisadora da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Av. das Américas 29501, Guaratiba, CEP 23020-470. Rio de Janeiro, RJ. E-mail: stephan@ctaa.embrapa.br

²Méd. Vet., Ph.D., Pesquisadora da Embrapa Agroindústria de Alimentos. E-mail: graca@ctaa.embrapa.br

géis foram coradas com o reagente de cor "coomassie blue R250", durante uma noite, e descoradas com uma solução de metanol/ácido acético/H₂O (40: 10: 50), durante três horas.

Preparação da Amostra de Extrato Protéico de Peito de Galinha

As aves receberam as mesmas condições de manejo preconizadas para criação orgânica, e o experimento foi realizado na Fazendinha Agroecológica, localizada na Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ. As aves, com idade de 120 dias ao iniciar o experimento, foram pesadas, identificadas individualmente, e alocadas no sistema de criação orgânica. Para o estudo das proteínas extraídas do peito destas galinhas, as amostras foram microprocessadas em multiprocessador de uso doméstico. As 5g de peito de galinha microprocessado foram homogeneizadas em blender durante dois minutos, usando uma solução aquosa composta de tampão fosfato 20mM, acrescido de KCl na concentração de 0,45M. Teve-se com isto uma possibilidade de obtenção de um extrato composto tanto de proteína sarcoplasmática como miofibrilar. As 5g de peito de galinha microprocessada

foram homogeneizadas em "blender" durante dois minutos. Após centrifugação durante 20 min., a uma velocidade de 4000 rpm, o extrato foi aplicado em gel de poliácridamida em duas formas de diluição (1/2 e 1/4).

Visando obter dados relativos ao teor de proteínas em uma faixa de concentração acima de 12 kDa, introduziu-se a etapa de diálise, usando uma membrana com peso molecular de exclusão de 12 kDa. Portanto, o extrato obtido na extração com tampão fosfato (20mM)-KCl (0,45M) foi aplicado no gel para a eletroforese nas seguintes formas: a) não dialisado b) dialisado em tampão fosfato (20mM)-KCl (0,45M), durante 48 horas. Na Tabela 1, pode-se visualizar os valores dos pesos moleculares obtidos nos extratos protéicos sem dialisar e naquele dialisado. Pôde-se verificar uma perfeita nitidez das bandas nos dois tratamentos (Figs. 1 e 2), o que indica que a etapa de diálise é dispensável. Na Tabela 1 pode-se verificar que nos dois tratamentos também são observadas bandas nítidas em igual número e pesos moleculares próximos tanto para o material dialisado como não dialisado.

Tabela 1. Peso molecular das proteínas presentes em extratos de peito de galinha orgânica dialisado e não dialisado

Número da banda	Peso Molecular (kDa)	
	Extrato não dialisado	Extrato dialisado
1	202,0	216,0
2	87,0	92,0
3	58,6	66,0
4	53,8	62,5
5	43,3	49,0
6	40,5	41,7
7	35,8	36,9
8	33,0	34,6
9	28,3	29,7
10	25,9	28,4
11	23,6	26,0

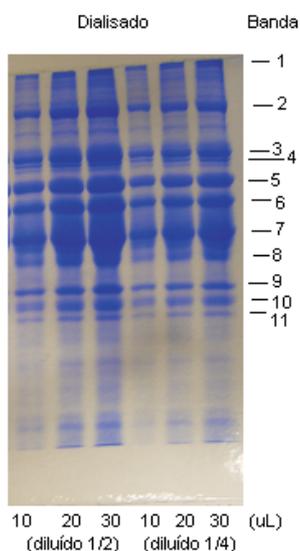


Fig. 1. Perfil de migração (SDS-PAGE) das proteínas extraídas de peito de galinha orgânica- material dialisado

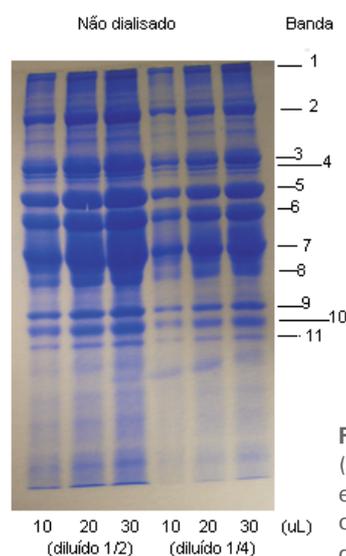


Fig. 2. Perfil de migração (SDS-PAGE) das proteínas extraídas de peito de galinha orgânica-material não dialisado

Considerações finais

O método se mostrou adequado ao tipo de matriz utilizada e também bastante preciso, e, com isto, pôde-se observar bandejamento típico da presença de proteínas miofibrilares majoritárias: subunidade de miosina (216 kDa) e actina (42 kDa). A obtenção destes padrões de identidade será útil para futuros trabalhos que visem o monitoramento de possíveis modificações das proteínas de peito de galinha em função da resposta a variações na formulação de rações.

Referências Bibliográficas

CHENG, C. S.; PARRISH JR., F. C. Heat-induced changes in myofibrillar proteins of bovine longissimus muscle. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 44, p. 22-24, 1979

CRAIG, A.; RITCHIE, H.; MACKIE, I. M. Determining the authenticity of raw reformed breaded scampi (*Nephrops norvegicus*) by electrophoretic techniques. **Food Chemistry**, Essex, v. 52, p. 451-454, 1995.

KAISER, K. K.; KRAUSE, I. Analytik von Proteinen in Lebensmitteln mit elektrophoretischen und chromatographischen Verfahren. **Zeitschrift Fur Lebensmittel-Untersuchung Und Forschung**, Berlin, v. 180, n. 3, p. 181-201, 1985.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage t4. **Nature**, London, v. 227, p. 680-685, 1970.

SGARBIERI, V.C. **Alimentação e nutrição**: fator de saúde e desenvolvimento. Campinas: Ed. UNICAMP; São Paulo: Almed, 1987

SGARBIERI, V.C. **Proteínas em alimentos protéicos**: propriedades, degradações, modificações. São Paulo: Livraria Varela, 1996.

Comunicado Técnico, 84

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Agroindústria de Alimentos
Endereço: Av. das Américas, 29.501 - Guaratiba
23020-470 - Rio de Janeiro - RJ
Fone: (0XX21) 2410-9500
Fax: (0XX21) 2410-1090 / 2410-9513
Home Page: <http://www.ctaa.embrapa.br>
E-mail: sac@ctaa.embrapa.br

1ª edição
1ª impressão (2005): versão on-line

Comitê de publicações

Presidente: Regina Isabel Nogueira
Membros: Maria da Graça Fichel do Nascimento,
Maria Ruth Martins Leão, Neide Botrel Gonçalves,
Ronoel Luiz de O. Godoy, Virginia Martins da Matta

Expediente

Supervisor editorial: Maria Ruth Martins Leão
Revisão de texto: Comitê de Publicações
Editoração eletrônica: André Luis do N. Gomes
André Guimarães de Souza