

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

CARACTERIZAÇÃO ELETROFORÉTICA DE PROTEÍNAS
MUSCULARES DE AVES DE INTERESSE COMERCIAL

PAULO TADEU FIGUEIRA

BOTUCATU – SP

2011

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

CARACTERIZAÇÃO ELETROFORÉTICA DE PROTEÍNAS
MUSCULARES DE AVES DE INTERESSE COMERCIAL

PAULO TADEU FIGUEIRA

Dissertação apresentada junto ao
Programa de Pós-Graduação em
Medicina Veterinária para obtenção
do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Roberto de
Oliveira Roça
Co-orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto
Rodrigues Ramos

BOTUCATU – SP

2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO DE AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: **ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE**

Figueira, Paulo Tadeu.

Caracterização eletroforética de proteínas musculares de aves de interesse comercial / Paulo Tadeu Figueira. – Botucatu : [s.n.], 2011

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Roberto de Oliveira Roça

Coorientador: Paulo Roberto Rodrigues Ramos

Capes: 50505009

1. Ave doméstica – Criação. 2. Proteínas musculares. 3. Eletroforese.

Palavras-chave: Avestruzes; Densitometria; Frangos de corte; Perus; Proteinograma; SDS-PAGE.

Paulo Tadeu Figueira

CARACTERIZAÇÃO ELETROFORÉTICA DE PROTEÍNAS MUSCULARES DE
AVES DE INTERESSE COMERCIAL

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Adjunto Dr. Roberto de Oliveira Roça
Presidente e Orientador
Departamento de Gestão e Tecnologia Agroindustrial
FCA – UNESP - Botucatu

Prof. Titular Germano Francisco Biondi
Membro
Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública
FMVZ – UNESP – Botucatu

Prof. Assistente Dr. Nelson Massaru Fukumoto
Membro
Curso de Medicina Veterinária PUC/PR
Toledo - PR

Data da defesa: 7 de novembro de 2011

Dedico este trabalho aos meus filhos Isadora e Bernardo, por cada segundo de distância necessários e doloridos, para a concretização deste sonho! Amo vocês!

Dedico em especial a minha esposa, Berenice... você me faz querer ser um homem melhor!

"Mestre não é quem sempre ensina, mas quem de repente aprende." (João Guimarães Rosa)

AGRADECIMENTOS

A Deus por conceder forças e paz nos momentos em que mais precisei.

A minha mãe por ser apenas ela nos momentos mais difíceis, concedendo-me exemplo de como lutar para continuar, sem olhar para trás.

A Divo e Beatriz, meus sogros, ou “pais”, por serem pessoas muito especiais na minha vida e me ajudando a manter meu foco e ensinando-me em cada dia, como ser uma família.

Aos meus irmãos, Patrícia, Walter e Junior, por tudo que me fizeram, ensinaram e amaram na minha vida.

Agradeço de forma especial ao meu “pai”, Prof. Paulo Roberto Rodrigues Ramos pela experiência, paciência, amizade, enfim, por todo o carinho.

Ao meu orientador, Prof. Roberto de Oliveira Roça, por acreditar em minha capacidade e vontade, e por me ensinar um caminho de como e quem quero ser na minha carreira. Você é muito especial.

A todos os grandes mestres que tive na vida, Prof. José Paes, Prof. Germano Biondi, Prof. Hélio Langoni, Prof. Antonio Paes, Prof. Márcio Garcia, Prof. Stélio Pacca, Profa. Renne, Profa. Noeme (todos da Patologia) e em especial ao Prof. Ênio Bandarra (*in memoriam*).

Ao meu grande amigo Leandro Basile, por simplesmente estar próximo quando preciso.

Ao “irmão” Fernando Henrique Rodrigues Borin pelas incontáveis horas de apoio e ajuda.

À minha amiga Aurélia Pereira de Araújo, por ter me ajudado e apoiado em momentos de desespero.

À todos os amigos do Departamento de Física e Biofísica do Instituto de Biociências da UNESP, Botucatu, em especial a Cilene pelo apoio e conhecimento concedido nesses anos todos no laboratório.

À todos os meus amigos que fiz na faculdade e que sempre me trazem força quando preciso, em especial, Rogério (Cidinha), Jeison (Krueger), Fábio (3-Fronha), Juliano (Sorovar), José Roberto (Lango) e Eduardo (Sharon).

À todos os meus amigos da família da PUCPR, por me ajudarem trocando aulas, cobrindo meus horários e me apoiando sempre, em especial ao grande amigo Alfredo Richart, por mostrar força e luz em momentos em que eu procurava.

Por fim, a todos os que são especiais na minha vida, e que por motivo ou outro não mencionei, mas que tornaram esta conquista tão possível quanto especial, de forma direta ou indireta, obrigado por tudo!

"Não se pode ensinar tudo a alguém. Pode-se, apenas,
ajudá-lo a encontrar por si mesmo."

Galileu Galilei

"Não devemos ter medo dos confrontos. Até os planetas se chocam e do caos nascem às estrelas."

Charles Chaplin

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Soluções Utilizadas para preparação de Gel de poliacrilamida 14

Tabela 2 – Soluções Utilizadas para preparações de SDS-PAGE 10% 15

Tabela 3 - Estatística descritiva, medidas de tendência central e de posição das mobilidades relativas (rf) e valores densitométricos, das proteínas musculares hidrossolúveis de peito de frango de corte em eletroforese em gel de Agarose..... 19

Tabela 4 - Estatística descritiva, medidas de tendência central e de posição das mobilidades relativas (rf) e valores densitométricos das proteínas musculares hidrossolúveis de peito de frango de corte separadas por eletroforese em Gel de Poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação num sistema descontínuo de tampões alcalinos. 20

Tabela 5 - Estatística descritiva, medidas de tendência central e de posição das mobilidades relativas (rf) e valores densitométricos das proteínas musculares hidrossolúveis de peito de frango de corte separadas por eletroforese em Gel de Poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação em presença de Dodecil Sulfato de Sódio, não denaturante e não redutor, em um sistema descontínuo de tampões alcalinos. 22

Tabela 6 - Estatística descritiva, medidas de tendência central e de posição das mobilidades relativas (rf) e valores densitométricos das proteínas musculares hidrossolúveis de peito de frango de corte separadas por Isoeletrofocalização. 23

Tabela 7 - Estatística descritiva, medidas de tendência central e de posição das mobilidades relativas (rf) e valores densitométricos, das proteínas musculares hidrossolúveis de peito de peru em eletroforese em gel de Agarose..... 25

Tabela 8 - Estatística descritiva, medidas de tendência central e de posição das mobilidades relativas (rf) e valores densitométricos das proteínas musculares hidrossolúveis de peito de peru separadas por eletroforese em Gel

de Poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação num sistema descontínuo de tampões alcalinos. 27

Tabela 9 - Estatística descritiva, medidas de tendência central e de posição das mobilidades relativas (rf) e valores densitométricos das proteínas musculares hidrossolúveis de peito de peru separadas por eletroforese em Gel de Poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação em presença de Dodecil Sulfato de Sódio (SDS), não denaturante e não redutor, em um sistema descontínuo de tampões alcalinos 28

Tabela 10 - Estatística descritiva, medidas de tendência central e de posição das mobilidades relativas (rf) e valores densitométricos das proteínas musculares hidrossolúveis de peito de peru separadas por Isoeletrofocalização. 30

Tabela 11 - Estatística descritiva, medidas de tendência central e de posição das mobilidades relativas (rf) e valores densitométricos, das proteínas musculares hidrossolúveis de peito de avestruz em eletroforese em gel de Agarose..... 32

Tabela 12 - Estatística descritiva, medidas de tendência central e de posição das mobilidades relativas (rf) e valores densitométricos das proteínas musculares hidrossolúveis de peito de avestruz separadas por eletroforese em Gel de Poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação num sistema descontínuo de tampões alcalinos..... 33

Tabela 13 - Estatística descritiva, medidas de tendência central e de posição das mobilidades relativas (rf) e valores densitométricos das proteínas musculares hidrossolúveis de peito de peru separadas por eletroforese em Gel de Poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação em presença de Dodecil Sulfato de Sódio (SDS), não denaturante e não redutor, em um sistema descontínuo de tampões alcalinos 35

Tabela 14 - Estatística descritiva, medidas de tendência central e de posição das mobilidades relativas (rf) e valores densitométricos das proteínas musculares hidrossolúveis de peito de peru separadas por Isoeletrofocalização. 37

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Eletroforese em Gel de Agarose de Proteínas musculares hidrossolúveis de peito de frangos de corte.....	19
Figura 2 - Eletroforese de Proteínas musculares hidrossolúveis de peito de frangos de corte em Gel de Poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação num sistema descontínuo de tampões alcalinos..	21
Figura 3 - Eletroforese de Proteínas musculares hidrossolúveis de peito de frangos de corte em Gel de Poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação em presença de Dodecil Sulfato de Sódio (SDS), não denaturante e não redutor, num sistema descontínuo de tampões alcalinos.	22
Figura 4 - Isoeletrofocalização de Proteínas musculares hidrossolúveis de peito de frangos de corte.	24
Figura 5 - Eletroforese em Gel de Agarose de Proteínas musculares hidrossolúveis de peito de perus.....	25
Figura 6 - Eletroforese de Proteínas musculares hidrossolúveis de peito de peru em Gel de Poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação num sistema descontínuo de tampões alcalinos.....	27
Figura 7 - Eletroforese de Proteínas musculares hidrossolúveis de peito de peru em Gel de Poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação em presença de Dodecil Sulfato de Sódio (SDS), não denaturante e não redutor, em um sistema descontínuo de tampões alcalinos.....	29
Figura 8 - Isoeletrofocalização de Proteínas musculares hidrossolúveis de peito de peru..	30
Figura 9 - Eletroforese em Gel de Agarose de Proteínas musculares hidrossolúveis de peito de avestruz.	32

Figura 10 - Eletroforese de Proteínas musculares hidrossolúveis de peito de avestruz em Gel de Poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação num sistema descontínuo de tampões alcalinos..... 34

Figura 11 - Eletroforese de Proteínas musculares hidrossolúveis de peito de avestruz em Gel de Poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação em presença de Dodecil Sulfato de Sódio (SDS), não denaturante e não redutor, em um sistema descontínuo de tampões alcalinos 35

Figura 12 - Isoeletrofocalização de Proteínas musculares hidrossolúveis de peito de avestruz 38

Figura 13 - Eletroforese em Gel de Agarose de Proteínas musculares hidrossolúveis de peito de frangos de corte (A), perus (B) e avestruzes (C). .. 41

Figura 14 - Eletroforese de Proteínas musculares hidrossolúveis em gel de poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação num sistema descontínuo de tampões alcalinos de peito de frangos de corte (A), perus (B) e avestruzes (C)..... 42

Figura 15 - Eletroforese de Proteínas musculares hidrossolúveis de peito de frangos de corte (A), perus (B) e avestruzes (C) em Gel de Poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação em presença de Dodecil Sulfato de Sódio (SDS), não denaturante e não redutor, num sistema descontínuo de tampões alcalinos. 43

Figura 16 - Isoeletrofocalização de Proteínas musculares hidrossolúveis de peito de frangos de corte (A), perus (B) e avestruzes (C)..... 44

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

SDS-PAGE - Eletroforese em Gel de Poliacrilamida com Dodecil Sulfato de Sódio

PCR – Reação em cadeia da polimerase

UBABEF – União Brasileira de Avicultura

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

pH – Potencial de hidrogênio iônico

kda - QuiloDalton ($1,661 \times 10^{-21}$ g)

Mda – Mega dalton ($1,661 \times 10^{-24}$ g)

SDS – Dodecil Sulfato de Sódio

PAGE – Eletroforese em Gel de Poliacrilamida

IEF – Focalização Isoelétrica

pI – Ponto Isoelétrico

rf – Mobilidade relativa

cm - Centímetros

mg - miligrama

G – Rotações por minuto

TEMED - N,N',N,N'-tetrametiletenodiamina

v/v – volume por volume

ml - mililitro

°C – graus Celsius

V – Volts

X - Média

S – Desvio Padrão

CV% - Coeficiente de variação

IC – Intervalo de confiança

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	ix
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. Frango.....	4
2.2. Peru	5
2.3. Avestruz	6
2.4. Eletroforese de Proteínas	7
3. OBJETIVOS	10
4. MATERIAL E MÉTODOS	11
4.1. Local	11
4.2. Colheita das amostras	11
4.3. Preparo das amostras para as análises eletroforéticas	12
4.4. Eletroforese Nativa em Gel de Poliacrilamida, Eletroforese SDS-PAGE Não Denaturante, eletroforese CELM-GEL® (Filme de Agarose Geral) e Isoeletrofocalização em <i>Phast Gel</i>	13
4.5. Preparação para as corridas eletroforéticas	16
4.6. Coloração e descoloração	17
4.7. Análises das Imagens.....	17
4.8 Análise Estatística Descritiva	17
5. RESULTADOS	19
5.1. Frangos.....	19
5.2. Perus.....	25
5.3. Avestruzes	32
6. DISCUSSÃO	40
7. CONCLUSÃO.....	45

REFERÊNCIAS.....	46
8. ARTIGO CIENTÍFICO.....	51

FIGUEIRA, P. T. **Caracterização eletroforética de proteínas musculares de aves de interesse comercial**. Botucatu, 2011, p. 57. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

RESUMO

Na busca pela excelência sensorial de um produto, as características exigidas pelo consumidor são a maciez, a succulência e o odor, que estão diretamente ligadas a constituição proteica do produto, juntamente com os lipídeos e os carboidratos. Atualmente, o consumo de produtos cárneos no Brasil encontra-se em constante crescimento, sendo que os de origem avícola são os principais expoentes. Para a análise da qualidade dos produtos, a avaliação da origem das proteínas musculares é fator de grande importância e algumas das técnicas que podem ser citadas para sua avaliação e quantificação são as técnicas eletroforéticas e densitométricas, muito utilizadas hoje como padrão para diversas pesquisas em alimentos. Para realização deste trabalho, partiu-se de que as proteínas musculares de frangos, perus e avestruzes apresentam diferentes características estruturais devido à expressão gênica e suas estruturas primárias podem ser identificadas por técnicas eletroforéticas e, através da densitometria, quantificadas. Foram colhidos fragmentos de musculo peitoral de 10 aves de cada espécie abatidas em frigoríficos inspecionados. Realizou-se a extração proteica por maceração e centrifugação dos fragmentos, e posterior submissão a quatro técnicas eletroforéticas sendo elas a Eletroforese Nativa em Gel de Poliacrilamida, SDS-PAGE Não Denaturante, CELM-GEL® - Filme de Agarose Geral e Isoeletrofocalização em *Phast-Gel*. Os resultados obtidos demonstraram a obtenção de um padrão proteico para as espécies em estudo, podendo utilizá-las para diferenciação das espécies e com a densitometria demonstrou a ocorrência de variações quantitativas individuais que não comprometeram a padronização específica dos eletroferogramas.

Palavras-Chave: SDS-PAGE, Densitometria, proteinograma, frangos de corte, perus, avestruzes

FIGUEIRA, P. T. **Electrophoretic characterization of muscle proteins of commercial poultry**. Botucatu, 2011, p. 57. Thesis (MA) - College of Veterinary Medicine, campus of Botucatu, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

ABSTRACT

In pursuit of a sensory product excellence, the characteristics required by consumers are tenderness, juiciness and smells, and all then linked directly to protein constitution of the product, along with lipids and carbohydrates. Currently, the consumption of meat products in Brazil is constantly growing, and the poultry origins are the main exponents. For the quality analysis of product, the evaluation of the origin of the proteins muscles is a factor of great importance and some of the techniques can be cited for their evaluation and quantification are the electrophoretic and densitometric techniques, widely used today as a standard for research on all food. For this study, we started with the muscle proteins of chickens, turkeys and ostriches have different characteristics due to structural gene expression and their primary structures be identified by electrophoretic techniques and by densitometry, it is quantified. Fragments from pectoral muscle were collected front of 10 birds of each species slaughtered in abattoirs inspected. The protein extraction was carried out by the maceration and centrifugation the fragments, and subsequent submission to four electrophoretic techniques with them: the Native Gel Electrophoresis, Polyacrylamide, SDS-PAGE not Denaturant, CELM-GEL® - Film Agarose General and IEF in Phast-gel. The results obtained demonstrate the attainment of a standard protein for the species under review and may use them for differentiation of species and densitometry demonstrated the occurrence of individual quantitative variations did not affect the specific standardization of electropherograms.

Key-words: SDS-PAGE, Densitometry, muscle protein, broilers, turkeys, ostriches

1. INTRODUÇÃO

Os hábitos alimentares durante a evolução humana adquiriram grande importância por interferir na forma de aquisição e produção das fontes essenciais de nutrientes naturais, elegendo as de fácil preparo e acesso como preferidas pela sociedade. Neste contexto, os alimentos de origem animal possuem uma visibilidade privilegiada por apresentarem além de grande fornecimento de proteínas de fácil degradação, devido ao equilíbrio de aminoácidos essenciais que atendem à exigência diária do metabolismo humano, uma melhor característica palatável em relação aos alimentos de origem vegetal. Com a crescente demanda destes alimentos por parte da população, nota-se que a carne de aves, em constante crescimento, é a mais consumida no mundo, ultrapassando a carne suína (UBABEF, 2010).

Neste sentido, à cadeia avícola brasileira gerou capitais de ordem de 6,8 bilhões de dólares, resultantes da exportação de mais de 3,8 milhões de toneladas de carne. Com este desempenho, o Brasil se aproxima da China, hoje o segundo maior produtor mundial, cuja produção de 2010 somou próximo a 12,6 milhões de toneladas, abaixo apenas dos Estados Unidos, com 16,648 milhões de toneladas (UBABEF, 2011).

A atividade não se destaca apenas pela rapidez de produção, mas também pela série de atividades que engloba, como a prestação de serviços das fábricas de rações, das empresas fornecedoras de equipamentos para granjas, dos incubatórios, da cadeia frigorífica, além dos aspectos ligados a sanidade, tanto do animal como do consumidor, como os laboratórios para elaboração de vacinas, medicamentos e a realização de análises físico-químicas e microbiológicas dos produtos finais disponibilizados ao consumidor (LANA, 2000).

Entre as características esperadas para o padrão de identificação dos produtos cárneos, as características sensoriais, a maciez, a suculência e o odor são as mais exigidas pelo consumidor, e estas estão diretamente ligadas a constituição proteica do produto (TATUM et al., 2000).

No entanto, mesmo o Brasil produzindo alimentos com padrões de excelência comparáveis aos demais produtores mundiais, ainda existem problemas que comprometem a qualidade sensorial destes produtos, como a

utilização de matérias primas de baixa qualidade proteica, assim como misturas de pedaços e/ou retalhos de mais de uma espécie animal para elaboração de derivados. Portanto, a busca por técnicas que identifiquem e previnam tais problemas é uma exigência deste mercado (FIGUEIREDO et al., 2001).

Para que este aprimoramento ocorra, novas técnicas de avaliação que apresentem maior acurácia e repetibilidade são necessárias. Com isto, podem ser apresentadas metodologias biomoleculares para a avaliação de qualidade das proteínas, como as técnicas eletroforéticas e densitométricas, que identificam e quantificam as proteínas musculares nas amostras, além de técnicas eletroforéticas de rápida detecção e técnicas de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), muito utilizadas hoje como padrão para diversas pesquisas em alimentos, como alternativas (MAFRA, et al., 2008).

Diante do exposto, considerando-se que a carne de ave possui grande aceitação no mercado e que diferentes espécies são produzidas comercialmente para consumo; também que as proteínas musculares de frangos, perus e avestruzes possuem diferentes mobilidades relativas e o consequente interesse tecnológico nas características proteicas das diferentes espécies que podem ser utilizadas na elaboração de subprodutos, foi notado a necessidade de suprir a deficiência de identificação e padronização dos perfis eletroforéticos padrões das proteínas musculares das aves de interesse comercial para posterior utilização para avaliação de qualidade de produtos alimentícios originários destes animais, assim como em derivados constituídos de suas misturas.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A demanda por alimentos qualitativamente melhores tem se elevado nos últimos anos exigindo a evolução e consequente melhoria dos setores de produção animal, industrial e comercial. No que se refere à produção de carnes, houve um ligeiro crescimento em produção de toneladas das três principais espécies comerciais carneas mais consumidas no mercado brasileiro (bovinos, suínos e frangos de corte) no primeiro trimestre de 2011, totalizando um percentual de 5% em relação ao mesmo trimestre de 2010 (um acréscimo de aproximadamente 230 mil toneladas) (IBGE, 2011).

Deve-se ressaltar uma queda na produção de carne bovina de 3% no período referido e aumento de aproximadamente 10% na produção de carne de frango. Neste sentido, a carne de frangos de corte se apresenta como a de maior produção, com mais de 1,0 milhão de toneladas em relação à carne bovina, segunda colocada (IBGE, 2011).

Assim, o aumento da popularidade do consumo de carnes também se deve aos novos processamentos que visam à praticidade e a variabilidade do cardápio das pessoas (COSTA, 2004). Os produtos carneos podem ser elaborados com diferentes espécies animais ou até associações das mesmas, conforme a necessidade e a característica desejada no produto final. Desta forma, os produtos carneos de maior aceitação são os hambúrgueres, linguças, empanados e alguns embutidos, sendo que a linguça do tipo frescal possui grande destaque por sua aceitação, comercialização e preço mais sugestivo (OLIVEIRA et al., 2005).

A obtenção de proteína animal para os consumidores finais é caracterizada por um sistema complexo, que compreende desde a produção do animal ainda na fazenda, até a mesa do consumidor (MATHEUS et al., 2003). Neste sentido, Felício (2000) demonstrou que a qualidade da carne e seus derivados estão não só relacionados com as condições higiênico-sanitárias de produção, mas também ao seu valor nutritivo e das suas características sensoriais. Entretanto, valores de pH, cor, capacidade de retenção de água, perdas por cocção e maciez da carne também são considerados importantes, demonstrando a evolução da pesquisa físico-química destes produtos.

No mercado brasileiro é incomum encontrar produtos derivados de origem animal com padrões de identidade físico-químico, sejam eles de aves, suínos, bovinos ou outra espécie animal, o que representa uma grande variedade qualitativa no produto final (FERRÃO et al., 1999). A falta desta padronização ainda prejudica a comercialização destes produtos, apresentando-se de forma oportuna, pesquisas que permitam constatar a porcentagem de carne de cada espécie animal contida nos derivados disponíveis ao consumidor final, para além de formar o padrão, confirmar as informações contidas nos rótulos.

Entre as características esperadas para o padrão de identificação dos produtos cárneos, as características sensoriais, a maciez, a suculência e o odor são as mais exigidas pelo consumidor (TATUM et al., 2000). Estas características são basicamente apresentadas pela interação de três componentes principais, sendo eles a umidade, a gordura e a proteína. Esta última pode ser considerada como principal responsável pelas características funcionais das matérias primas cárneas (CAMPBELL-PLATT, 2009).

As características sensoriais, como sabor e aroma da carne de aves são provenientes do aquecimento, que promove a transformação de substâncias lipossolúveis e hidrossolúveis, entre elas as proteínas, além da volatilização de alguns compostos indesejáveis na carne. Outra característica, como a palatabilidade, está associada com a textura que pode ser afetada por fatores *ante-mortem*, como espécie, fatores genéticos, idade, estado de nutrição, estresse, além de outros fatores *post-mortem* como a estimulação elétrica, velocidade do resfriamento e pH (SARCINELLI et al., 2007a).

Segundo Gaya & Ferraz (2006), outra característica importante é a cor, resultado da absorção seletiva da luz pela mioglobina e por outros importantes componentes, como as fibras musculares e suas proteínas, sendo também influenciado pela quantidade de líquido livre presente na carne e, portanto, caracterizando a alteração visual promovida pelas proteínas.

2.1. Frango

Mundialmente, encontramos mais de 300 raças de galinhas domésticas, divididas em 3 categorias: aves de postura, aves de corte (aves pesadas, ditas frangos de corte) e com dupla aptidão (SARCINELLI et al., 2007b).

A produção de frangos de corte brasileira tem representado uma das mais importantes fontes de proteína animal para consumo humano. Uma série de fatores está relacionada com esta representação e sua evolução nos últimos anos ocorreu principalmente pela aquisição de novos conhecimentos específicos nas áreas de nutrição, genética, manejo e bem-estar das aves (DAMASCENO et al., 2010), além da avaliação dos índices proteicos que referem-se diretamente a produtividade.

O início desta cultura remete ao final da década de 50, principalmente nos estados do sudeste evoluindo na década de 70 com intensa reorganização do complexo de produção de proteínas animais, se deslocando para a região sul. Transcrevendo esta evolução em valores, vê-se que em 2001 as exportações ultrapassaram a casa dos bilhões de toneladas produzidas (GIROTTI; AVILA, 2003).

Segundo dados do IBGE (2011), no 1º trimestre de 2011, o abate de mais de 1,3 bilhão de frangos ultrapassou pela primeira vez este patamar desde o início da Pesquisa Trimestral do Abate de Animais em 1997. Realizando uma comparação com o correspondente trimestre de 2010, a variação é positiva em 8,2% e, na comparação com o 4º trimestre de 2010, há aumento de 3,4% no volume abatido. Analisando a série histórica produtiva desde 2006, nota-se um aumento de mais de 300 milhões de aves abatidas, em valores médios, o que a mantém como a carne de maior consumo no mercado nacional.

2.2. Peru

A produção de perus vem apresentando um crescimento acentuado no segmento avícola de corte brasileiro. Na década compreendida entre os anos 1993-2003, a produção em toneladas saltou em quase dez vezes, o que consolidou o Brasil como o terceiro maior produtor mundial (MENDES et al., 2005).

Segundo Pulici et al. (2008) foram abatidos 36,9 milhões de perus em 2005, representando um crescimento de 5,6% em relação a 2004, além do que, a produção atingiu quase 360 mil toneladas, o que representa um crescimento de 14,2%. Em 2010, as exportações totalizaram quase 160 mil toneladas de

carne, sendo quase 50% em industrializados, com o principal mercado consumidor sendo o europeu (UBABEF, 2011).

Neste período notou-se um acréscimo no consumo de subprodutos pelo mercado nacional, durante todo o ano, e não apenas em épocas de sazonalidade, como por exemplo nas festividades natalinas. Em relação à industrialização da carne de peru o aumento foi ainda mais significativo, uma vez que oferta de produtos atraentes e práticos além da maior participação na elaboração de produtos prontos, como as lasanhas, patês e pizzas, a tecnificação e busca por qualidade tornou-se consequência (MENDES et al., 2005), assim como a busca por técnicas de identificação de misturas de cárneos em produtos intensificou-se.

2.3. Avestruz

No Brasil a criação de avestruzes é uma cultura relativamente nova, com aproximadamente 16 anos de existência. Entre os anos de 2004 e 2005, o plantel brasileiro evoluiu mais de 90%, levando o total do plantel para quase 335 mil aves. Em 2006, a mudança embora menor, ainda foi significativa, com aumento de quase 30%, elevando o total para 426 mil animais, e em 2007, a marca de 450 mil animais foi superada (MUNIZ, 2007). O abate teve um pico em 2007, com quase 13,9 mil aves, com resultado superior a 150 toneladas produzidas, e em seguida apresentou queda, com o abate de 2010 atingindo próximo de 100 toneladas de carne (PATRÍCIA, 2010).

Segundo Gameiro; Suzan (2007), a cadeia produtiva do avestruz apresentou ampla expansão no país, apresentando como principal característica uma subdivisão em pelo menos três grandes nichos de mercado com elevado valor agregado, sendo eles as plumas, o couro e a carne. Esta, quando *in natura* é classificada e comercializada de acordo com seu tamanho, maciez e posição das peças na musculatura.

A principal característica sensorial, no ponto de vista do consumidor, é a cor, pois embora seja carne de ave, é fortemente avermelhada, podendo assumir colorações mais arroxeadas, dependendo da alimentação e do procedimento de abate. A tonalidade vermelha mais acentuada se deve ao fato

da mesma possuir um teor elevado de ferro em sua composição, mais até que a carne bovina (CARRER, et al., 2004).

2.4. Eletroforese de Proteínas

Proteínas constituem um dos tipos de macromoléculas biológicas mais abundantes, versáteis e complexas dos organismos vivos. Sua alta complexidade refere-se ao fato de que são constituídas por diferentes sequências de aminoácidos que podem ou não estar modificados, além de apresentarem uma ampla faixa de tamanho (variando de alguns poucos kDa a alguns MDa) e estruturas (NEVES, 2010).

Considerando este componente, algumas das técnicas que podem ser citadas para sua avaliação e quantificação são as técnicas eletroforéticas e densitométricas além de técnicas eletroforéticas de rápida detecção e técnicas de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) muito utilizadas hoje como padrão para diversas pesquisas em alimentos (MAFRA, et al., 2008).

A eletroforese em gel de poliacrilamida permite a obtenção de um perfil padrão e específico para diferentes espécies animais, sendo que este não é alterado pela idade, sistema de criação e metodologias de abate, no que se refere a grandes frações proteicas (DIERCKX et al., 2004).

De acordo com Canavessi et al. (2000) há um grande número de variáveis que influenciam o padrão eletroforético das proteínas, sendo uma delas a espécie animal. Segundo Freitas et al. (2002) a eletroforese em gel de poliacrilamida contendo SDS constitui um método eficaz de separação dos componentes moleculares em mistura protéica e sua utilização na detecção de fraudes em produtos cárneos é viável para identificação na mistura de carnes não citadas no rótulo. De acordo com Egito et al. (2006) é importante detectar a introdução no mercado de produtos rotulados de forma fraudulenta, entretanto, faltam-se metodologias eficientes para esta prática.

O princípio básico da técnica de eletroforese consiste na migração de partículas em um determinado gel durante a aplicação de uma diferença de potencial sob a influência de um campo elétrico. As moléculas são separadas de acordo com uma interação entre a carga líquida e o seu tamanho, pois as

de menor massa irão migrar mais rapidamente que as de maior massa. As moléculas com carga negativa migram para o pólo positivo (anodo) e moléculas com carga positiva migram para o pólo negativo (catodo) (CELMGEL, 1999). São necessários três componentes principais para realizar uma eletroforese, sendo eles: o campo elétrico, que é obtido através de uma fonte de corrente contínua, o suporte onde a molécula pode migrar e a própria molécula carregada (íon). A eletroforese tem sido utilizada como o método de referência para o fracionamento e posterior quantificação das frações proteicas através da densitometria (SILVA JUNIOR, 2001).

Na técnica eletroforética em gel de poliacrilamida, pode-se analisar a proteína em sua forma nativa ou desnaturada, o que dependerá das condições empregadas no processo de extração das mesmas. No sistema nativo ou não-dissociante (PAGE) as proteínas são separadas com base em sua carga, o que também ocorre no método de isoeletrofocalização (IEF). Neste sistema é formado um gradiente de pH onde as proteínas carregadas eletricamente irão mover-se até um pH específico, onde serão identificadas com carga efetiva nula. Esta posição é conhecida como o pI (Ponto Isoelétrico da proteína). Em sistemas denaturationes ou dissociantes as proteínas são solubilizadas em tampão contendo um reagente denaturante, sendo o SDS (dodecil sulfato de sódio) o mais empregado, entretanto, esta técnica pode mesmo apresentando o SDS, ser não denaturante, o que dependerá do gradiente de concentração deste composto na formulação do tampão. A função deste detergente aniônico (SDS) é interagir com as cadeias peptídicas, denaturando-as e concedendo-lhes cargas negativas. Assim, ocorrerá migração de todas as proteínas em direção ao eletrodo positivo, promovendo a separação apenas pelas diferenças relacionadas às suas massas molares. Neste caso, a técnica é conhecida como SDS-PAGE (HAMES & RICKWOOD, 1990).

O Gel de agarose é um polissacarídeo extraído de algas marinhas utilizado em concentrações de 0,5 à 2%, com grande facilidade de preparo, possuindo ampla capacidade de separação e baixa resolução, permitindo que proteínas de alto peso molecular se movam livremente de acordo com sua carga. É amplamente utilizado para separação de proteínas séricas e plasmáticas (CELMGEL, 1999).

A utilização destas técnicas para produtos alimentícios foi descrita por Souza et al. (2000) ao detectar e quantificar com sucesso amostras adicionadas de soro de leite em bebidas lácteas, identificando falhas produtivas, assim como Egito et al. (2006) utilizaram o método eletroforético para detecção da adulteração do leite caprino com leite bovino, concluindo que este método era muito eficiente na busca por adulterações.

Também foi descrito suas utilizações para identificação de fraudes em cortes e produtos cárneos, uma vez que a adição destes produtos de substâncias não cárneas e até misturas entre espécies têm-se tornado prática cada vez mais comum. Daguer et al. (2009) utilizaram a técnica de SDS-PAGE para identificar a adição de proteínas não cárneas em lombo suíno para apresentar um padrão eletroforético, e sua consequente utilização, uma vez que a legislação brasileira permite a adição desta proteína, mas há poucas técnicas para sua fiscalização.

Ainda as proteínas, foram avaliadas através de técnicas eletroforéticas, duas linhagens de tilápias, a Zanzibar e a do Nilo, onde foram constatadas diferenças claras entre os perfis proteicos das duas linhagens, além da identificação do híbrido entre elas, o que permitiu a identificação de subprodutos realizados com suas misturas (ORTIZ et al., 1994).

3. OBJETIVOS

Padronizar os perfis eletroforéticos das proteínas musculares de frangos, perus e avestruzes empregando diferentes técnicas de eletroforese em géis;

Avaliar a densitometria das frações proteicas, objetivando sua quantificação, com vistas a avaliar possíveis perdas nas frações encontradas.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Local

As análises para determinação do perfil eletroforético e a densitometria foram realizadas no Laboratório de Fracionamento de Proteínas, localizado no Departamento de Física e Biofísica do Instituto de Biociências, da Universidade Estadual Paulista, em Botucatu, São Paulo.

4.2. Colheita das amostras

Foram utilizadas 10 amostras do músculo peitoral de cada espécie (as proteínas musculares de frangos, perus e avestruzes apresentam diferentes características estruturais devido à expressão gênica, mas características semelhantes dentro da mesma espécie). As amostras de frangos de corte foram obtidas em frigorífico localizado na região centro-oeste do Paraná.

Colheram-se em sequência da linha de abate, no momento após a evisceração, com a separação manual completa do peito do animal, de mesmo lote e, portanto que tiveram o mesmo manejo durante a produção. Inseriu-se então em embalagens plásticas individuais, sendo transportadas até freezers com set point em -18°C para posterior congelamento em no máximo 45 minutos após o abate. Somente após congelamento total (quando as amostras atingiram o set point), poderiam ser transportadas para o laboratório de fracionamento em recipientes térmicos.

Da mesma forma, as amostras de perus, foram obtidas de frigorífico localizado no centro-sul do Paraná, realizando a retirada manual com a separação do peito completo do animal, sendo eles de mesmo lote e, portanto com o mesmo manejo durante a produção, e inseridas em embalagens plásticas individuais, sendo transportadas até freezers com set point em -18°C para posterior congelamento em no máximo 45 minutos após o abate. Após congelamento total, poderiam ser transportadas para o laboratório de fracionamento em recipientes térmicos.

As amostras de avestruz foram colhidas logo após o abate dos animais, após o processo de evisceração, ainda na linha frigorífica de frigorífico localizado no sul do estado de São Paulo, com retirada de porções de aproximadamente 5 cm², de 3 porções diferentes do peito de cada um dos 10 animais e inseridas em embalagens plásticas individuais, sendo transportadas até freezers com set point em -18°C para posterior congelamento em no máximo 45 minutos após o abate. Após congelamento total, poderiam ser transportadas para o laboratório de fracionamento em recipientes térmicos.

As alterações *post-mortem* dos fragmentos colhidos não foram levadas em consideração uma vez que as características proteicas avaliadas correspondem às grandes frações proteicas de grandes, pois segundo Dierckx et. al (2004) apenas as pequenas frações são perdidas durante o processo.

4.3. Preparo das amostras para as análises eletroforéticas

Para a extração das proteínas foram utilizadas amostras de 500 mg de músculo peitoral imersas em nitrogênio líquido. Após o congelamento, os músculos foram inicialmente fatiados, em finas camadas, e posteriormente macerados em almofariz com adição de 2 ml de água destilada deionizada formação de mistura homogênea e devidamente identificados em frascos tipo Eppendorf, segundo descrito por Lemos; Moraes (1992). As amostras resultantes foram centrifugadas em refrigeração à 4°C, em 7500 G por 15 minutos. O precipitado foi descartado e o sobrenadante diluído em solução de aplicação (constituída de tampão Tris-HCl pH 8,8 na quantidade de 100 ml, azul de bromofenol na quantidade de 50 mg e glicerol na proporção de 5% do volume final) na proporção 1:3 (v/v), e posteriormente armazenados em frascos tipo Eppendorf, devidamente identificados e congelados a -80°C, para diluição e utilização nas corridas eletroforéticas.

4.4. Eletroforese Nativa em Gel de Poliacrilamida, Eletroforese SDS-PAGE Não Denaturante, eletroforese CELM-GEL® (Filme de Agarose Geral) e Isoeletrofocalização em *Phast Gel*.

Para a determinação dos padrões eletroforéticos das amostras, foram utilizadas as técnicas de eletroforese Nativa em Gel de Poliacrilamida vertical alcalina (pH 8,3) em sistema de tampões descontínuos descrita por Hames; Rickwood (1990), com algumas alterações descritas por Ramos (1992). A técnica de eletroforese SDS-PAGE não denaturante foi realizada conforme descrita em Santos (2006) e a eletroforese CELM-GEL® (Filme de Agarose Geral) de acordo com protocolo do fabricante (CELM-GEL, 2003) com algumas alterações. Foram também empregados mini-géis em *PHASTSYSTEM* (GE *HEALTH-CARE*) para Isoeletrofocalização segundo instruções do fabricante.

Na eletroforese Nativa em Gel de Poliacrilamida Vertical alcalina foram utilizados géis de empilhamento na concentração de 4% e géis de separação na concentração de 10%, cujo preparo está descrito na Tabela 1. Quanto a SDS-PAGE não denaturante utilizou-se géis de empilhamento na concentração de 4% e géis de separação na concentração de 10% com adição de Dodecil Sulfato de Sódio (Tabela 2). Em relação à CELM-GEL® (Filme de Agarose Geral) e aos mini-géis da Isoeletrofocalização (gradiente de pH 3 - 9) foram empregados de acordo com as especificações dos fabricantes.

Tabela 1 – Soluções Utilizadas para preparação de PAGE 10%

Soluções	Volumes de soluções para dois géis	
	Gel de empilhamento a	Gel de separação a
	4%	10 %
Bis-Acrilamida		
(30:0,8)		
- Bis - 30g	665 µl	3,33 ml
- Acrilamida – 0,8g		
- H ₂ O deionizada -		
100 mL (q.s.p)		
Tris-HCl pH 6,8		
- Tris – 6,0g	500 µl	----
- HCl (1N) – 48mL		
- H ₂ O deionizada -		
100 mL (q.s.p)		
Tris-HCl pH 8,8		
- Tris – 36,3g	----	500 µl
- HCl (1N) – 48mL		
- H ₂ O deionizada -		
100 mL (q.s.p)		
Persulfato de amônio		
(PSA)		
- PSA – 1,5g	34 µl	67 µl
- H ₂ O deionizada -		
100 mL (q.s.p)		
TEMED	5 µl	10 µl
Uréia 6M	3,8 ml	5,6 ml
Volume final	5 ml	10 ml

Tabela 2 – Soluções Utilizadas para preparações de SDS-PAGE 10%

Soluções	Volumes de soluções para dois géis	
	Gel de empilhamento a 4%	Gel de separação a 10 %
Bis-Acrilamida (30:0,8) - Bis - 30g - Acrilamida – 0,8g - H ₂ O deionizada - 100 mL (q.s.p)	665 µl	3,33 ml
Tris-HCl pH 6,8 - Tris – 6,0g - HCl (1N) – 48mL - H ₂ O deionizada - 100 mL (q.s.p)	500 µl	----
Tris-HCl pH 8,8 - Tris – 36,3g - HCl (1N) – 48mL - H ₂ O deionizada - 100 mL (q.s.p)	----	500 µl
Persulfato de amônio (PSA) - PSA – 1,5g - H ₂ O deionizada - 100 mL (q.s.p)	34 µl	67 µl
TEMED	5 µl	10 µl
SDS	50µl	100 µl
Uréia 6M	3,8 ml	5,6 ml
Volume final	5 ml	10 ml

4.5. Preparação para as corridas eletroforéticas

Para a corrida eletroforética PAGE, utilizou-se o conjunto mini-PROTEAN 3 (BIORAD®) onde foram preparados e aplicados os géis na seguinte forma: 3,5 ml do gel separador através de seringa no conjunto de placas e cobertos com isopropanol até sua total polimerização. Após, foi removido o isopropanol através de capilaridade por papel filtro até total secagem. Posteriormente foi adicionado 1,0 ml de gel empilhador e em seguida o encaixe do molde tipo pente para formação dos poços de aplicação. Em cada poço, foi aplicada a alíquota de 13 µl de amostra. Finalizado a aplicação, a cuba foi conectada à fonte estabilizadora mantendo o seguinte protocolo: 100 V de corrente inicial por 10 minutos seguido de 300 V por 150 minutos, mantendo a amperagem livre.

Ainda no mesmo conjunto, para a técnica de eletroforese SDS-PAGE não denaturante foi seguido o mesmo protocolo anterior de preparação de gel, com a adição de SDS na preparação do gel separador, sendo que quantidades de amostras utilizadas assim como protocolo da fonte estabilizadora foram mantidas.

Para elaboração CELM-GEL® (Filme de Agarose Geral) foi empregado um filme de agarose pronto, com instruções do fabricante. Na cuba, foram adicionados 90 ml de tampão TRIS pH 9,5 refrigerado e 1 µl de amostra em cada poço pré-formado com o seguinte protocolo de fonte estabilizadora: 100V de corrente por 20 minutos, com amperagem livre.

Para a Isoeletrofocalização foram utilizados kits de mini-géis (*PhastGel*® GE HEALTH-CARE com gradiente de pH 3 - 9). Após disposição dos géis no equipamento PHASTSYSTEM (*PhastGel*® GE HEALTH-CARE), foram aplicados 3 µl de amostra no suporte de aplicação para posterior utilização dos pentes (cada um com 12 posições, sendo que as posições laterais foram descartadas), os quais por capilaridade coletaram alíquotas de 0,3 µl. O protocolo do equipamento utilizado foi o seguinte: 100 V estabelecidos até que as amostras adentrem ao gel, com posterior diferença de potencial de 2000 V para a separação das frações proteicas, por 20 minutos.

4.6. Coloração e descoloração

Para as técnicas PAGE e SDS-PAGE, após a remoção das placas de vidro dos conjuntos, os géis foram imersos no corante Coomassie Brilliant Blue em solução de ácido acético conforme instruções do fabricante por 4 horas.

Após a coloração, cada um dos géis foram acondicionados em solução descolorante do Coomassie composta por água, metanol e ácido acético na proporção 1:3:6 em v/v, até a revelação das bandas proteicas. Para a Isoeletrofocalização, os kits de mini-géis foram submetidos à coloração e descoloração no próprio aparelho (PHASTSYSTEM) conforme recomendações do fabricante.

Para a técnica dos filmes de agarose, a coloração foi realizada empregando-se Negro de Amido à 0,1 % em solução com ácido acético à 5 % e o processo de descoloração em solução de ácido acético 5 % até revelação das bandas proteicas.

4.7. Análises das Imagens

A captação das imagens das bandas proteicas foi realizada por meio de equipamento de foto-documentação Image Máster VDS, da Pharmacia®. Para a identificação das mobilidades relativas (rf), pesos moleculares e pontos isoelétricos, bem como na quantificação destes valores, em géis PAGE, SDS-PAGE e filme de agarose, foi utilizado o software Image Máster VDS, versão VDS ELITE 1.0. Para os kits mini-géis, os pontos isoelétricos foram avaliados e calculados através do mesmo software. O referido software também foi empregado nas análises densitométricas para a avaliação quantitativa de cada banda proteica, separadas nas diferentes técnicas eletroforéticas.

4.8 Análise Estatística Descritiva

Para a análise estatística descritiva das variáveis identificadas como mobilidade relativa (rf) e densitometria (%) foi utilizado o programa Assistat

Statistical (SILVA; AZEVEDO, 2009) que reproduz a estatística descritiva dos dados calculando a média ($\bar{X}$), intervalos de confiança ao nível de 5% (IC) de confiança, desvio padrão (S) e coeficiente de variação (CV%) para a amostragem.

5. RESULTADOS

5.1. Frangos

Os resultados das análises eletroforéticas para proteínas hidrossolúveis de músculo de peito de frangos de corte são apresentados através das imagens realizadas dos diferentes géis assim como a estatística descritiva realizada. Para a análise da eletroforese em gel de agarose, foram analisados os dados da tabela 3 e da figura1.

Tabela 3 - Estatística descritiva, medidas de tendência central e de dispersão das mobilidades relativas (rf) e valores densitométricos, das proteínas musculares hidrossolúveis de peito de frango de corte em eletroforese em gel de Agarose

Banda	Mobilidade Relativa (rf)				Densitometria (%)			
	X	S	CV%	IC	X	S	CV%	IC
r1	0,110	$1,03 \times 10^{-02}$	$1,05 \times 10^{-04}$	$1,55 \times 10^{-03}$	30,255	5,00	25,01	0,75
r2	0,190	$1,03 \times 10^{-02}$	$1,05 \times 10^{-04}$	$1,55 \times 10^{-03}$	13,043	3,38	11,46	0,51
r3	0,260	$1,03 \times 10^{-02}$	$1,05 \times 10^{-04}$	$1,55 \times 10^{-03}$	5,720	1,65	2,71	0,25
r4	0,295	$5,13 \times 10^{-03}$	$2,63 \times 10^{-05}$	$7,74 \times 10^{-04}$	8,748	1,77	3,15	0,27
r5	0,345	$5,13 \times 10^{-03}$	$2,63 \times 10^{-05}$	$7,74 \times 10^{-04}$	2,240	0,69	0,48	0,10
r6	0,790	$1,03 \times 10^{-03}$	$1,05 \times 10^{-04}$	$1,55 \times 10^{-03}$	0,342	0,38	0,14	0,06

(X) Média; (S) Desvio Padrão; (CV%) Coeficiente de variação; (IC) Intervalo de confiança ao nível de 5% de confiança.

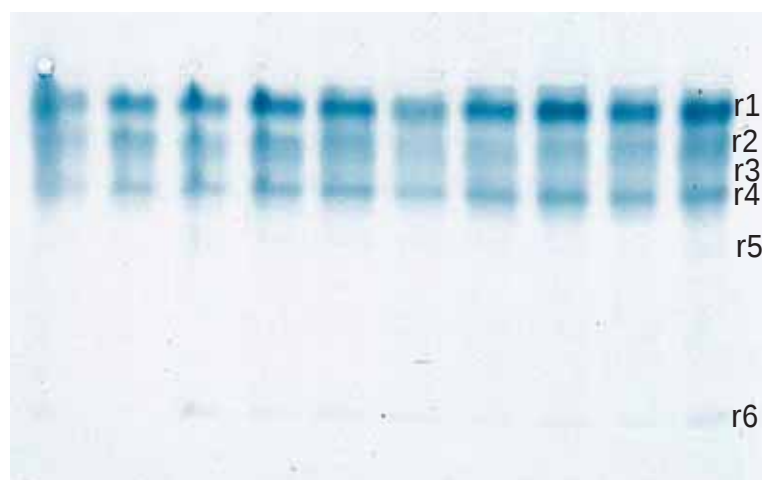


Figura 1 - Eletroforese em gel de Agarose de proteínas musculares hidrossolúveis de peito de frangos de corte. (r) bandas proteicas Fonte: FIGUEIRA, 2011.

Com a análise da figura 1, e observando os dados da tabela 3, foi possível encontrar um total de seis diferentes bandas proteicas com suas mobilidades relativas variando de 0,110 a 0,790. Ainda com relação a mobilidades relativas, tendo em vista a reduzida variação individual nas posições determinadas, notaram-se pequenas alterações nas médias em função do baixo desvio padrão.

Os resultados densitométricos apresentaram médias variando de 30,255 a 0,342, o que pode também ser representado pela intensidade da coloração das bandas na figura 1 na qual podem ser identificadas com maior intensidade de coloração as bandas r1, r2 e r4, sendo que as bandas r3 e r5 estão muito próximas a r4, e a r6 encontra-se mais distante e com intensidade de coloração muito baixa. Também em relação à densitometria, encontrou-se certa variabilidade, considerando-se as bandas proteicas detectadas, dado este facilmente avaliado pela Tabela 3.

Para análise da eletroforese de proteínas musculares hidrossolúveis de peito de frangos de corte em gel de Poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação num sistema descontínuo de tampões alcalinos, foram analisados os dados da tabela 4 e da figura 2.

Tabela 4 - Estatística descritiva, medidas de tendência central e de dispersão das mobilidades relativas (rf) e valores densitométricos das proteínas musculares hidrossolúveis de peito de frango de corte separadas por eletroforese em gel de Poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação num sistema descontínuo de tampões alcalinos.

Banda	Mobilidade Relativa (rf)				Densitometria (%)			
	X	S	CV%	IC	X	S	CV%	IC
r1	0,036	$1,13 \times 10^{-2}$	$1,27 \times 10^{-4}$	$1,70 \times 10^{-3}$	8,608	3,17	10,04	0,48
r2	0,310	$1,03 \times 10^{-2}$	$1,05 \times 10^{-4}$	$1,55 \times 10^{-3}$	3,837	0,72	0,52	0,11
r3	0,525	$1,54 \times 10^{-2}$	$2,37 \times 10^{-4}$	$2,32 \times 10^{-3}$	10,438	1,74	3,03	0,26
r4	0,860	$3,08 \times 10^{-2}$	$9,47 \times 10^{-4}$	$4,64 \times 10^{-3}$	4,538	0,94	0,89	0,14
r5	0,905	$2,56 \times 10^{-2}$	$6,58 \times 10^{-4}$	$3,87 \times 10^{-3}$	4,405	0,86	0,74	0,13
r6	0,945	$2,56 \times 10^{-2}$	$6,58 \times 10^{-4}$	$3,87 \times 10^{-3}$	3,511	1,04	1,08	0,16

(X) Média; (S) Desvio Padrão; (CV%) Coeficiente de variação; (IC) Intervalo de confiança ao nível de 5% de confiança.

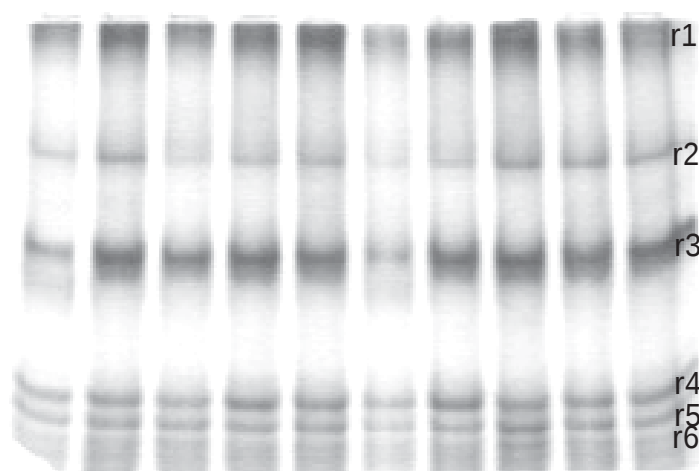


Figura 2 - Eletroforese de proteínas musculares hidrossolúveis de peito de frangos de corte em gel de Poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação num sistema descontínuo de tampões alcalinos. (r) bandas proteicas. Fonte: FIGUEIRA, 2011.

Com a análise da figura 2, e observando os dados da tabela 4, foi possível encontrar um total de seis diferentes bandas proteicas com suas mobilidades relativas variando de 0,036 a 0,945. As médias de r_f de r1 e r2 foram relativamente menores que as demais, e médias de r4, r5 e r6 muito próximas, o que resultou do fato da proximidade entre as bandas na figura 2.

Ainda com relação a mobilidades relativas, tendo em vista a reduzida variabilidade individual nas posições determinadas, notaram-se grandes variações entre as bandas, mas que não interferiram na identificação das mesmas. Os resultados densitométricos apresentaram médias variando de 8,608 a 3,511, o que pode também explicar a intensidade de coloração das bandas na figura 2.

Pela análise da figura 2, podem ser identificadas com maior intensidade de coloração as bandas r1 e r2, sendo que as bandas r3 a r6 apresentaram-se próximas e de difícil distinção. As bandas r4, r5 e r6 apresentaram-se com uma intensidade de coloração menor e com certa difusão. Também em relação à densitometria, encontrou-se certa variabilidade, considerando-se as bandas proteicas detectadas, dado este facilmente avaliado pela Tabela 4.

Para análise da eletroforese de proteínas musculares hidrossolúveis de peito de frangos de corte em gel de Poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação em presença de Dodecil Sulfato de Sódio (SDS), não

denaturante e não redutor, em um sistema descontínuo de tampões alcalinos, foram analisados os dados da tabela 5 e da figura 3.

Tabela 5 - Estatística descritiva, medidas de tendência central e de dispersão das mobilidades relativas (rf) e valores densitométricos das proteínas musculares hidrossolúveis de peito de frango de corte separadas por eletroforese em Gel de Poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação em presença de Dodecil Sulfato de Sódio, não denaturante e não redutor, em um sistema descontínuo de tampões alcalinos.

Banda	Mobilidade Relativa (rf)				Densitometria (%)			
	X	S	CV%	IC	X	S	CV%	IC
r1	0,320	~0	~0	~0	12,667	2,53	6,38	0,57
r2	0,540	~0	~0	~0	4,893	0,88	0,78	0,20
r3	0,570	~0	~0	~0	1,847	0,35	0,12	0,08

(X) Média; (S) Desvio Padrão; (CV%) Coeficiente de variação; (IC) Intervalo de confiança ao nível de 5% de confiança.

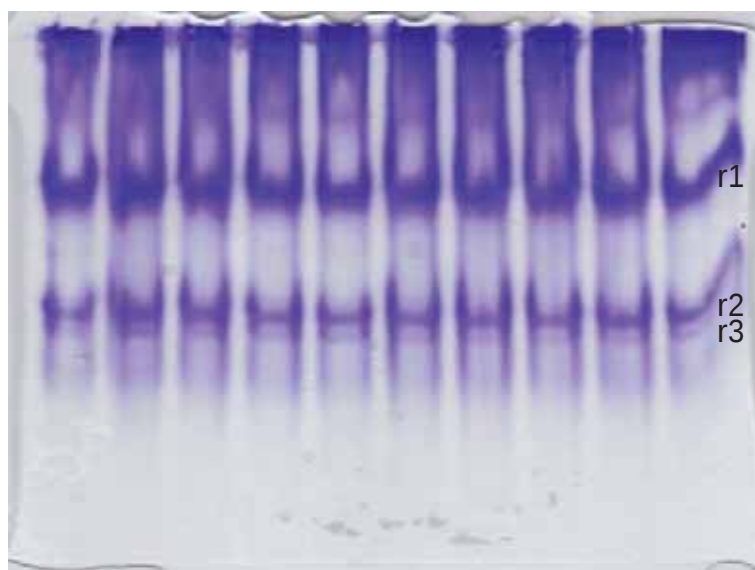


Figura 3 - Eletroforese de proteínas musculares hidrossolúveis de peito de frangos de corte em Gel de Poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação em presença de Dodecil Sulfato de Sódio (SDS), não denaturante e não redutor, num sistema descontínuo de tampões alcalinos. (r) bandas proteicas. Fonte: FIGUEIRA, 2011.

Com a análise da figura 3, e observando os dados da tabela 5, foi possível encontrar um total de três diferentes bandas proteicas com suas mobilidades relativas variando de 0,320 a 0,570. Na análise da tabela, se notou

uma média rf de r1 relativamente menor que as demais, e médias de r2 e r3 muito próximas, o que resultou na proximidade entre as bandas na figura 3.

Como não houve variação individual nas posições determinadas, as medidas de desvio padrão, coeficiente de variação e intervalo de confiança permaneceram próximos à zero. Os resultados densitométricos apresentaram médias variando entre 12,667 e 1,847, o que explicou a intensidade de coloração das bandas na figura 3.

Através da análise da figura 3, ainda puderam ser identificadas com maior intensidade de coloração as bandas r1, r2 e r3, embora as bandas r2 e r3 estivessem próximas e com difícil distinção. Também em relação à densitometria, encontrou-se certa variabilidade, considerando-se as bandas proteicas detectadas, dado este facilmente avaliado pela Tabela 5.

Para análise da Isoeletrofocalização de proteínas musculares hidrossolúveis de peito de frangos de corte, foram analisados os dados da tabela 6 e da figura 4.

Tabela 6 - Estatística descritiva, medidas de tendência central e de dispersão das mobilidades relativas (rf) e valores densitométricos das proteínas musculares hidrossolúveis de peito de frango de corte separadas por Isoeletrofocalização.

Banda	Mobilidade Relativa (rf)				Densitometria (%)			
	X	S	CV%	IC	X	S	CV%	IC
r1	0,040	$7,25 \times 10^{-18}$	$5,25 \times 10^{-35}$	$1,41 \times 10^{-18}$	4,138	1,88	3,52	0,37
r2	0,160	$2,90 \times 10^{-17}$	$8,40 \times 10^{-34}$	$5,64 \times 10^{-18}$	3,662	1,05	1,10	0,20
r3	0,190	$2,90 \times 10^{-17}$	$8,40 \times 10^{-34}$	$5,64 \times 10^{-18}$	2,786	0,97	0,94	0,19
r4	0,220	$5,80 \times 10^{-17}$	$3,36 \times 10^{-33}$	$1,13 \times 10^{-17}$	2,437	0,62	0,39	0,12
r5	0,290	0	0	0	9,573	1,46	2,14	0,28
r6	0,400	$5,80 \times 10^{-17}$	$3,36 \times 10^{-33}$	$1,13 \times 10^{-17}$	1,251	0,38	0,14	0,07

(X) Média; (S) Desvio Padrão; (CV%) Coeficiente de variação; (IC) Intervalo de confiança ao nível de 5% de confiança.

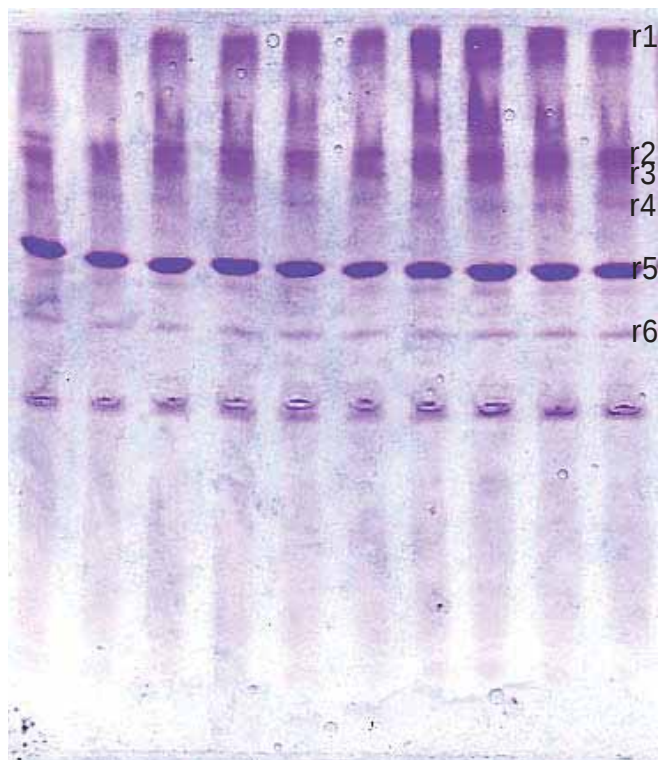


Figura 4 - Isoeletrofocalização de proteínas musculares hidrossolúveis de peito de frangos de corte. (r) bandas proteicas. Fonte: FIGUEIRA, 2011.

Com a análise da figura 4, e observando os dados da tabela 6, foi possível encontrar um total de seis diferentes bandas proteicas com suas mobilidades relativas variando de 0,040 a 0,400. Através da análise da tabela, se notou a média r_f de r1 relativamente menor que as demais, médias de r3, r4 e r5 muito próximas, e média de r6 relativamente maior que as demais, o que resultou no posicionamento das bandas apresentados na figura 4.

Ainda com relação a mobilidades relativas, tendo em vista a reduzida variação individual nas posições determinadas, notaram-se pequenas variações nas medidas de desvio padrão, coeficiente de variação e intervalo de confiança. Os resultados densitométricos apresentaram médias variando de 4,138 a 1,251, o que explicou a intensidade de coloração apresentada nas bandas na figura 4.

Através da análise da figura 4, identificaram-se com maior intensidade de coloração as bandas r1, r2, r4 e r6, além do que as bandas r3, r4 e r5 estavam muito próximas e com difícil distinção. Também em relação à densitometria, encontrou-se certa variabilidade, considerando-se as bandas proteicas detectadas, dado este facilmente avaliado pela Tabela 6.

5.2. Perus

Os resultados das análises eletroforéticas para proteínas hidrossolúveis de músculo de peito de perus foram descritos através das imagens realizadas dos diferentes géis assim como a estatística descritiva calculada. Para análise da eletroforese em gel de agarose, foram analisados os dados da tabela 7 e da figura 5.

Tabela 7 - Estatística descritiva, medidas de tendência central e de dispersão das mobilidades relativas (rf) e valores densitométricos, das proteínas musculares hidrossolúveis de peito de perus em eletroforese em gel de Agarose

Banda	Mobilidade Relativa (rf)				Densitometria (%)			
	X	S	CV%	IC	X	S	CV%	IC
r1	0,110	$1,46 \times 10^{-17}$	$2,14 \times 10^{-34}$	$3,12 \times 10^{-18}$	23,510	4,29	18,42	0,92
r2	0,170	$2,93 \times 10^{-17}$	$8,56 \times 10^{-34}$	$6,24 \times 10^{-18}$	16,590	2,35	5,54	0,50
r3	0,220	$2,93 \times 10^{-17}$	$8,56 \times 10^{-34}$	$6,24 \times 10^{-18}$	13,800	2,15	4,61	0,46
r4	0,330	~0	~0	~0	3,050	0,42	0,17	0,09
r5	0,690	$1,17 \times 10^{-16}$	$1,37 \times 10^{-32}$	$2,50 \times 10^{-17}$	0,849	0,36	0,13	0,08

(X) Média; (S) Desvio Padrão; (CV%) Coeficiente de variação; (IC) Intervalo de confiança ao nível de 5% de confiança.



Figura 5 - Eletroforese em gel de Agarose de proteínas musculares hidrossolúveis de peito de perus. (r) bandas proteicas. Fonte: FIGUEIRA, 2011.

Com a análise da figura 5, e observando os dados da tabela 7, foi possível encontrar um total de cinco diferentes bandas proteicas com suas mobilidades relativas variando de 0,110 a 0,690. Foi demonstrado que as

médias r_f de r1, r2 e r3 estão próximas enquanto que r4 e r5 encontraram-se relativamente com valores superiores, exemplificando o posicionamento das bandas no gel.

Ainda com relação a mobilidades relativas, tendo em vista a reduzida variabilidade individual nas posições determinadas, notaram-se pequenas alterações nas medidas de desvio padrão, coeficiente de variação e intervalo de confiança nas bandas r1, r2, r3 e r5, enquanto que r4 não houve variação individual nas posições determinadas e as medidas de desvio padrão, coeficiente de variação e intervalo de confiança apresentaram-se aproximadamente igual à zero.

Os resultados densitométricos apresentaram médias variando de 23,510 à 0,849, o que pode ser representado pela intensidade da coloração das bandas na figura 5 onde identificou-se com maior intensidade de coloração as bandas r1, r4 e r5, sendo que as bandas r2 e r3 estavam muito próximas e de difícil distinção e as bandas r4 e r5 estavam mais distantes e com intensidade de coloração reduzida. Também em relação à densitometria, encontrou-se certa variabilidade, considerando-se as bandas proteicas detectadas, dado este facilmente avaliado pela Tabela 7.

Para análise da eletroforese de proteínas musculares hidrossolúveis de peito de peru em gel de Poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação num sistema descontínuo de tampões alcalinos, foram analisados os dados da tabela 8 e da figura 6.

Tabela 8 - Estatística descritiva, medidas de tendência central e de dispersão das mobilidades relativas (rf) e valores densitométricos das proteínas musculares hidrossolúveis de peito de peru separadas por eletroforese em gel de Poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação num sistema descontínuo de tampões alcalinos.

Banda	Mobilidade Relativa (rf)				Densitometria (%)			
	X	S	CV%	IC	X	S	CV%	IC
r1	0,150	$2,93 \times 10^{-17}$	$8,56 \times 10^{-34}$	$6,24 \times 10^{-18}$	6,727	1,54	2,36	0,33
r2	0,220	$2,93 \times 10^{-17}$	$8,56 \times 10^{-34}$	$6,24 \times 10^{-18}$	2,698	0,75	0,57	0,16
r3	0,390	$5,85 \times 10^{-17}$	$3,42 \times 10^{-33}$	$1,25 \times 10^{-17}$	13,080	1,38	1,92	0,30
r4	0,550	$1,17 \times 10^{-16}$	$1,37 \times 10^{-32}$	$2,50 \times 10^{-17}$	7,290	1,85	3,42	0,39
r5	0,590	~0	~0	~0	3,017	0,83	0,70	0,18
r6	0,640	$1,17 \times 10^{-16}$	$1,37 \times 10^{-32}$	$2,50 \times 10^{-17}$	1,229	0,27	0,07	0,06
r7	0,810	$2,34 \times 10^{-16}$	$5,48 \times 10^{-32}$	$4,99 \times 10^{-17}$	2,988	0,90	0,82	0,19
r8	0,880	$1,17 \times 10^{-16}$	$1,37 \times 10^{-32}$	$2,50 \times 10^{-17}$	2,716	0,44	0,19	0,09

(X) Média; (S) Desvio Padrão; (CV%) Coeficiente de variação; (IC) Intervalo de confiança ao nível de 5% de confiança.

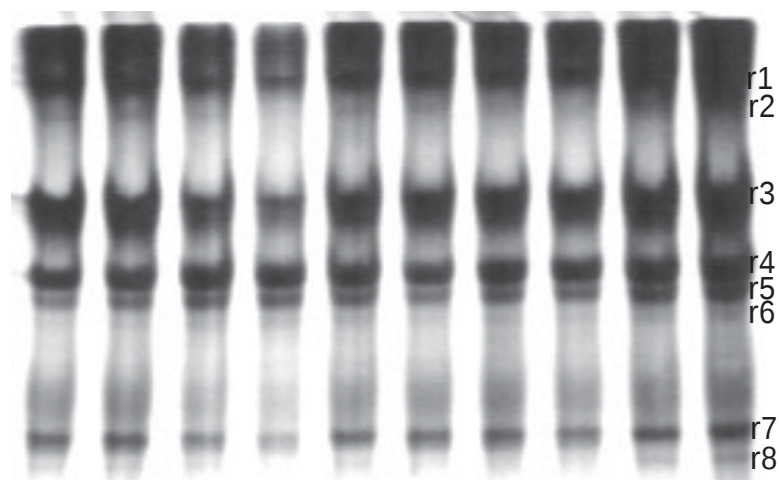


Figura 6 - Eletroforese de proteínas musculares hidrossolúveis de peito de peru em gel de Poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação num sistema descontínuo de tampões alcalinos. (r) bandas proteicas. Fonte: FIGUEIRA, 2011.

Com a análise da figura 6, e observando os dados da tabela 8, foi possível encontrar um total de oito diferentes bandas proteicas com suas mobilidades relativas variando de 0,150 a 0,880, onde notou-se uma média rf muito próxima entre as bandas r4, r5 e r6, além de rf próximas entre r7 e r8.

Ainda com relação a mobilidades relativas, tendo em vista a reduzida variabilidade individual nas posições determinadas, notaram-se pequenas

variações nas medidas de desvio padrão, coeficiente de variação e intervalo de confiança, sendo que na r5 não houve variação. Os resultados densitométricos apresentaram médias variando de 13,080 à 1,229, o que explicou a intensidade das colorações das bandas na figura 6.

Através da análise da figura 6, se identificou com maior intensidade de coloração as bandas r3, r4, r5 e r8. A banda r1, embora possuísse alta densidade média, apresentou baixa mobilidade e, portanto certa difusão, ao mesmo tempo em que tanto a r6 como a r7 não são perceptíveis por apresentarem densidade relativamente menor que as demais bandas, caracterizando uma baixa intensidade de coloração. Também em relação à densitometria, encontrou-se certa variabilidade, considerando-se as bandas proteicas detectadas, dado este facilmente avaliado pela Tabela 7.

Para análise da eletroforese de proteínas musculares hidrossolúveis de peito de peru em gel de Poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação em presença de Dodecil Sulfato de Sódio (SDS), não denaturante e não redutor, em um sistema descontínuo de tampões alcalinos, foram analisados os dados da tabela 9 e da figura 7.

Tabela 9 - Estatística descritiva, medidas de tendência central e de dispersão das mobilidades relativas (rf) e valores densitométricos das proteínas musculares hidrossolúveis de peito de peru separadas por eletroforese em gel de Poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação em presença de Dodecil Sulfato de Sódio (SDS), não denaturante e não redutor, em um sistema descontínuo de tampões alcalinos.

Banda	Mobilidade Relativa (rf)				Densitometria (%)			
	X	S	CV%	IC	X	S	CV%	IC
r1	0,032	$7,31 \times 10^{-18}$	$5,35 \times 10^{-35}$	$1,56 \times 10^{-18}$	8,986	1,44	2,08	0,31
r2	0,130	$2,93 \times 10^{-17}$	$8,56 \times 10^{-34}$	$6,24 \times 10^{-18}$	3,039	0,52	0,27	0,11
r3	0,310	0	0	0	3,845	0,58	0,34	0,12
r4	0,360	$5,85 \times 10^{-17}$	$3,42 \times 10^{-33}$	$1,25 \times 10^{-17}$	1,664	0,22	0,05	0,05
r5	0,450	$5,85 \times 10^{-17}$	$3,42 \times 10^{-33}$	$1,25 \times 10^{-17}$	4,250	0,76	0,58	0,16
r6	0,530	$1,17 \times 10^{-16}$	$1,37 \times 10^{-32}$	$2,50 \times 10^{-17}$	6,509	0,80	0,64	0,17

(X) Média; (S) Desvio Padrão; (CV%) Coeficiente de variação; (IC) Intervalo de confiança ao nível de 5% de confiança.

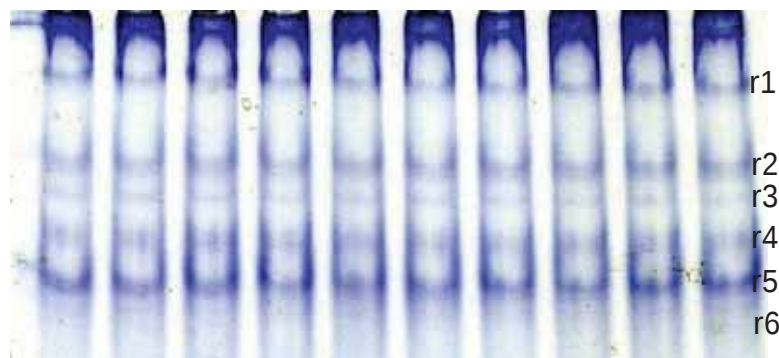


Figura 7 - Eletroforese de proteínas musculares hidrossolúveis de peito de peru em gel de Poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação em presença de Dodecil Sulfato de Sódio (SDS), não denaturante e não redutor, em um sistema descontinuo de tampões alcalinos. (r) bandas proteicas. Fonte: FIGUEIRA, 2011.

Com a análise da figura 7, e observando os dados da tabela 9, foi possível encontrar um total de seis diferentes bandas proteicas com suas mobilidades relativas variando de 0,320 a 0,530. Foi demonstrada uma média r_f bem distinta entre as bandas, com exceção das bandas r3 e r4 que possuíam médias de r_f próximas, fato esse visualizado na figura 7.

Ainda com relação a mobilidades relativas, tendo em vista a reduzida variabilidade individual nas posições determinadas, notaram-se pequenas variações nas medidas de desvio padrão, coeficiente de variação e intervalo de confiança.

Notou-se que r3 não apresentou variação individual nas posições determinadas e as medidas de desvio padrão, coeficiente de variação e intervalo de confiança permaneceram em zero.

Os resultados densitométricos apresentaram médias variando de 8,986 à 1,664, o que explicou a intensidade de coloração com que as bandas se apresentam na figura 7, onde puderam ser identificadas com maior intensidade de coloração as bandas r1, r2, r3, r4, r5 e r6, sendo que as bandas r3 e r4 encontraram-se próximas e de difícil distinção. Também em relação à densitometria, encontrou-se certa variabilidade, considerando-se as bandas proteicas detectadas, dado este facilmente avaliado pela Tabela 9.

Para análise da Isoeletrofocalização de proteínas musculares hidrossolúveis de peito de peru, foram analisados os dados da tabela 10 e da figura 8.

Tabela 10 - Estatística descritiva, medidas de tendência central e de dispersão das mobilidades relativas (rf) e valores densitométricos das proteínas musculares hidrossolúveis de peito de peru separadas por Isoeletrofocalização.

Banda	Mobilidade Relativa (rf)				Densitometria (%)			
	X	S	CV%	IC	X	S	CV%	IC
r1	0,074	$1,45 \times 10^{-17}$	$2,10 \times 10^{-34}$	$2,82 \times 10^{-18}$	7,175	1,27	1,61	0,25
r2	0,130	$2,90 \times 10^{-17}$	$8,40 \times 10^{-34}$	$5,64 \times 10^{-18}$	9,276	3,85	14,82	0,75
r3	0,200	$2,90 \times 10^{-17}$	$8,40 \times 10^{-34}$	$5,64 \times 10^{-18}$	4,754	1,07	1,15	0,21
r4	0,240	$8,70 \times 10^{-17}$	$7,56 \times 10^{-33}$	$1,69 \times 10^{-17}$	2,152	0,55	0,30	0,11
r5	0,260	$5,80 \times 10^{-17}$	$3,36 \times 10^{-33}$	$1,13 \times 10^{-17}$	1,563	0,33	0,11	0,07
r6	0,340	$1,16 \times 10^{-16}$	$1,34 \times 10^{-32}$	$2,26 \times 10^{-17}$	3,488	0,79	0,63	0,15
r7	0,360	$5,80 \times 10^{-17}$	$3,36 \times 10^{-33}$	$1,13 \times 10^{-17}$	6,251	0,85	0,73	0,17
r8	0,380	$5,80 \times 10^{-17}$	$3,36 \times 10^{-33}$	$1,13 \times 10^{-17}$	1,227	0,18	0,03	0,04
r9	0,400	$5,80 \times 10^{-17}$	$3,36 \times 10^{-33}$	$1,13 \times 10^{-17}$	1,566	0,25	0,06	0,05
r10	0,440	$1,16 \times 10^{-16}$	$1,34 \times 10^{-32}$	$2,26 \times 10^{-17}$	2,639	0,32	0,10	0,06
r11	0,500	~0	~0	~0	0,738	0,20	0,04	0,04

(X) Média; (S) Desvio Padrão; (CV%) Coeficiente de variação; (IC) Intervalo de confiança ao nível de 5% de confiança.

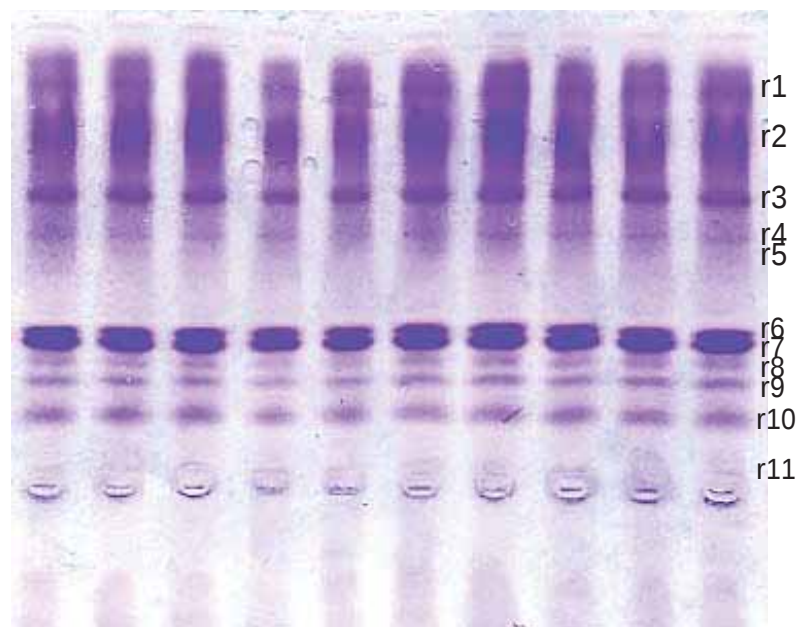


Figura 8 - Isoeletrofocalização de proteínas musculares hidrossolúveis de peito de peru. (r) bandas proteicas. Fonte: FIGUEIRA, 2011.

Com a análise da figura 8, e observando os dados da tabela 10, foi possível encontrar um total de onze diferentes bandas proteicas com suas mobilidades relativas variando de 0,074 a 0,500.

Foi identificada uma média de r_f de r_1 relativamente menor que as demais, além de médias de r_3 , r_4 , r_5 e r_6 muito próximas, média de r_7 e r_8 também próximas entre si e demais médias distintas, o que resultou no posicionamento das bandas apresentados na figura 8.

Ainda com relação a mobilidades relativas, tendo em vista a reduzida variabilidade individual nas posições determinadas, notaram-se pequenas variações nas medidas de desvio padrão, coeficiente de variação e intervalo de confiança. Na banda r_{11} não houve variação individual nas posições determinadas mantendo os valores em zero.

Os resultados densitométricos apresentaram médias variando de 9,276 à 0,738, o que explicou a intensidade de coloração com que as bandas se apresentam na figura 8 onde se identificou com maior intensidade de coloração as bandas r_2 , r_3 , r_4 , r_5 , r_6 , r_9 e r_{10} , além do que as bandas r_5 e r_6 estão muito próximas e com difícil distinção. Também em relação à densitometria, encontrou-se certa variabilidade, considerando-se as bandas proteicas detectadas, dado este facilmente avaliado pela Tabela 10.

5.3. Avestruzes

Os resultados das análises eletroforéticas para proteínas hidrossolúveis de músculo de peito de avestruz, serão descritas através das imagens realizadas dos diferentes géis assim como a estatística descritiva calculada. Para análise da eletroforese em gel de agarose, foram analisados os dados da tabela 11 e da figura 9.

Tabela 11 - Estatística descritiva, medidas de tendência central e de dispersão das mobilidades relativas (rf) e valores densitométricos, das proteínas musculares hidrossolúveis de peito de avestruz em eletroforese em gel de Agarose

Banda	Mobilidade Relativa (rf)				Densitometria (%)			
	X	S	CV%	IC	X	S	CV%	IC
r1	0,115	5,13E-03	2,63E-05	7,94E-04	27,637	4,74	22,47	0,73
r2	0,205	5,13E-03	2,63E-05	7,94E-04	16,545	4,24	17,94	0,66
r3	0,255	5,13E-03	2,63E-05	7,94E-04	8,938	3,81	14,51	0,59
r4	0,806	1,54E-02	2,37E-04	2,38E-03	1,583	0,68	0,46	0,10

(X) Média; (S) Desvio Padrão; (CV%) Coeficiente de variação; (IC) Intervalo de confiança ao nível de 5% de confiança.

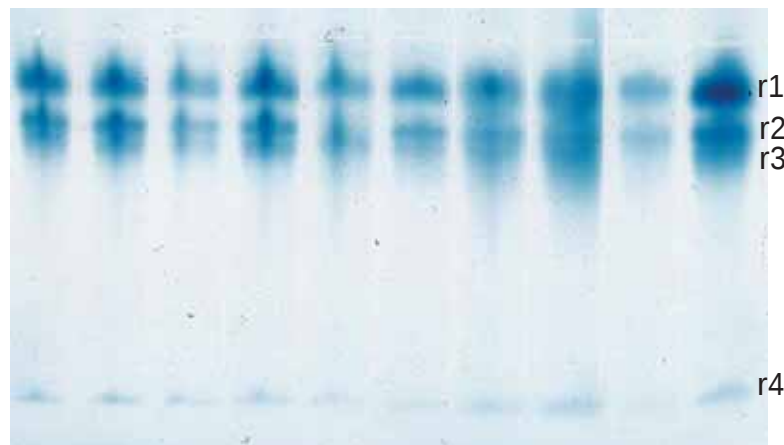


Figura 9 - Eletroforese em gel de Agarose de proteínas musculares hidrossolúveis de peito de avestruz. (r) bandas proteicas. Fonte: FIGUEIRA, 2011.

Com a análise da figura 9, e observando os dados da tabela 11, foi possível encontrar um total de quatro diferentes bandas proteicas com suas mobilidades relativas variando de 0,115 a 0,806. Depois de analisar os dados,

constatou-se que a média rf de r1 é menor que as demais, r2 e r3 possuem médias próximas entre si e r4 encontra-se com média relativamente maior.

Ainda com relação a mobilidades relativas, tendo em vista a reduzida variabilidade individual nas posições determinadas, notaram-se pequenas variações nas medidas de desvio padrão, coeficiente de variação e intervalo de confiança nas bandas r1, r2, r3 e r4.

Os resultados densitométricos apresentaram médias variando de 27,637 à 1,583, o que pode também ser representado pela intensidade de coloração das bandas na figura 9, onde se identificou com maior intensidade de coloração as bandas r1, r2 e r4, tendo as bandas r2 e r3 muito próximas entre si e de difícil distinção e a banda r4 encontrou-se menos densa e portanto com menor intensidade de coloração. Também em relação à densitometria, encontrou-se certa variabilidade, considerando-se as bandas proteicas detectadas, dado este facilmente avaliado pela Tabela 11.

Para análise da eletroforese de proteínas musculares hidrossolúveis de peito de avestruz em gel de Poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação num sistema descontínuo de tampões alcalinos, foram analisados os dados da tabela 12 e da figura 10.

Tabela 12 - Estatística descritiva, medidas de tendência central e de dispersão das mobilidades relativas (rf) e valores densitométricos das proteínas musculares hidrossolúveis de peito de avestruz separadas por eletroforese em gel de Poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação num sistema descontínuo de tampões alcalinos.

Banda	Mobilidade Relativa (rf)				Densitometria (%)			
	X	S	CV%	IC	X	S	CV%	IC
r1	0,124	5,11E-03	2,61E-05	8,13E-04	4,064	0,96	0,92	0,15
r2	0,250	~0	~0	~0	1,275	0,28	0,08	0,04
r3	0,281	1,11E-02	1,23E-04	1,76E-03	2,213	0,66	0,44	0,11
r4	0,327	1,53E-02	2,35E-04	2,44E-03	1,870	0,48	0,23	0,08
r5	0,389	3,58E-02	1,28E-03	5,69E-03	4,498	1,32	1,73	0,21
r6	0,509	3,58E-02	1,28E-03	5,69E-03	14,783	2,72	7,38	0,43
r7	0,566	5,11E-02	2,61E-03	8,13E-03	9,168	3,42	11,73	0,54
r8	0,569	2,67E-02	7,11E-04	4,24E-03	8,554	1,81	3,26	0,29
r9	0,675	5,14E-03	2,65E-05	8,18E-04	5,443	3,23	10,45	0,51

(X) Média; (S) Desvio Padrão; (CV%) Coeficiente de variação; (IC) Intervalo de confiança ao nível de 5% de confiança.

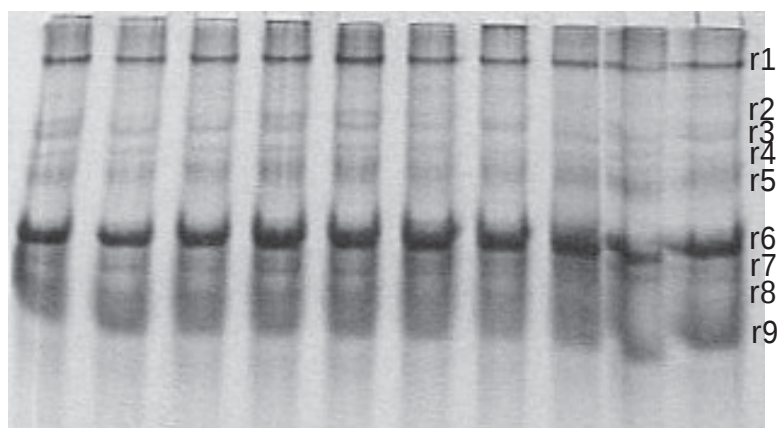


Figura 10 - Eletroforese de proteínas musculares hidrossolúveis de peito de avestruz em gel de Poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação num sistema descontínuo de tampões alcalinos. (r) bandas proteicas. Fonte: FIGUEIRA, 2011.

Com a análise da figura 10, e observando os dados da tabela 12, foi possível encontrar um total de nove diferentes bandas proteicas com suas mobilidades relativas variando de 0,124 a 0,675. Com a análise da tabela, notou-se uma média de r_f muito próximas entre as bandas r2, r3, r4 e r5, além de r_f média próxima entre r6, r7 e r8.

Ainda com relação a mobilidades relativas, tendo em vista a reduzida variabilidade individual nas posições determinadas, notaram-se pequenas variações em desvio padrão, coeficiente de variação e intervalo de confiança. Na banda r2 não houve variação individual nas posições determinadas e os valores de desvio padrão, coeficiente de variação e intervalo de confiança permaneceram em zero.

Os resultados densitométricos apresentaram médias variando de 14,783 à 1,275, o que pode também explicar a intensidade das colorações nas bandas apresentadas na figura 10, onde identificou-se com maior intensidade de coloração as bandas r1, r6, e r8. As bandas r2, r3, r4, r5 possuíam menor intensidade de coloração e a banda r7 apresentou-se de forma difusa, não sendo facilmente perceptível. Também em relação à densitometria, encontrou-se certa variabilidade, considerando-se as bandas proteicas detectadas, dado este facilmente avaliado pela Tabela 12.

Para análise da eletroforese de proteínas musculares hidrossolúveis de peito de avestruz em gel de Poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação em presença de Dodecil Sulfato de Sódio (SDS), não denaturante e não redutor, em um sistema descontínuo de tampões alcalinos, foram analisados os dados da tabela 13 e da figura 11.

Tabela 13 - Estatística descritiva, medidas de tendência central e de dispersão das mobilidades relativas (rf) e valores densitométricos das proteínas musculares hidrossolúveis de peito de avestruz separadas por eletroforese em gel de Poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação em presença de Dodecil Sulfato de Sódio (SDS), não denaturante e não redutor, em um sistema descontínuo de tampões alcalinos.

Banda	Mobilidade Relativa (rf)				Densitometria (%)			
	X	S	CV%	IC	X	S	CV%	IC
r1	0,065	1,46E-17	2,14E-34	3,12E-18	45,450	5,44	29,65	1,16
r2	0,430	5,85E-17	3,42E-33	1,25E-17	9,373	1,39	1,93	0,30
r3	0,570	1,17E-16	1,37E-32	2,50E-17	2,530	0,44	0,20	0,09
r4	0,830	1,17E-16	1,37E-32	2,50E-17	3,246	0,68	0,47	0,15

(X) Média; (S) Desvio Padrão; (CV%) Coeficiente de variação; (IC) Intervalo de confiança ao nível de 5% de confiança.

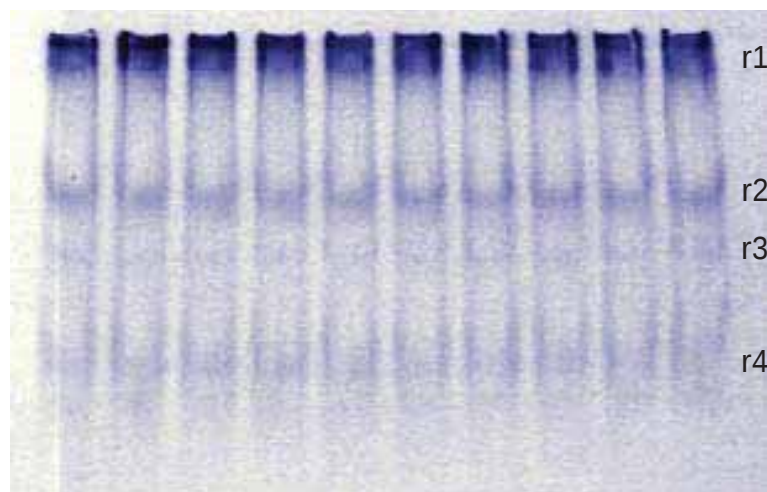


Figura 11 - Eletroforese de proteínas musculares hidrossolúveis de peito de avestruz em gel de Poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação em presença de Dodecil Sulfato de Sódio (SDS), não denaturante e não redutor, em um sistema descontínuo de tampões alcalinos. (r) bandas proteicas. Fonte: FIGUEIRA, 2011.

Com a análise da figura 11, e observando os dados da tabela 13, foi possível encontrar um total de quatro diferentes bandas proteicas com suas mobilidades relativas variando de 0,065 a 0,830. Notou-se com a avaliação da tabela uma média de r_f bem distinta entre as bandas.

Ainda com relação a mobilidades relativas, tendo em vista a reduzida variação individual nas posições determinadas, notaram-se pequenas variações nas medidas de desvio padrão, coeficiente de variação e intervalo de confiança.

Os resultados densitométricos apresentaram médias variando de 45,450 à 2,530, o que pode também explicar a intensidade de coloração com que as bandas se apresentaram na figura 11, onde podem ser identificadas com maior intensidade de coloração as bandas r1 e r2, sendo que a banda r3 apresentou-se difusa e fracamente corada e r4 apresentou-se com menor intensidade de coloração. Também em relação à densitometria, encontrou-se certa variabilidade, considerando-se as bandas proteicas detectadas, dado este facilmente avaliado pela Tabela 13.

Para análise da Isoeletrofocalização de proteínas musculares hidrossolúveis de peito de avestruz, foram analisados os dados da tabela 14 e da figura 12.

Tabela 14 - Estatística descritiva, medidas de tendência central e de dispersão das mobilidades relativas (rf) e valores densitométricos das proteínas musculares hidrossolúveis de peito de avestruz separadas por Isoeletrofocalização.

Banda	Mobilidade Relativa (rf)				Densitometria (%)			
	X	S	CV%	IC	X	S	CV%	IC
r1	0,051	7,31E-18	5,35E-35	1,56E-18	10,947	5,93	35,15	1,26
r2	0,076	1,46E-17	2,14E-34	3,12E-18	4,756	2,04	4,15	0,43
r3	0,096	1,46E-17	2,14E-34	3,12E-18	4,029	1,56	2,44	0,33
r4	0,170	2,93E-17	8,56E-34	6,24E-18	3,346	1,82	3,31	0,39
r5	0,210	2,93E-17	8,56E-34	6,24E-18	1,004	0,62	0,39	0,13
r6	0,240	5,85E-17	3,42E-33	1,25E-17	1,979	0,96	0,93	0,21
r7	0,270	~0	~0	~0	0,462	0,55	0,30	0,12
r8	0,300	5,85E-17	3,42E-33	1,25E-17	0,621	0,87	0,75	0,19
r9	0,320	5,85E-17	3,42E-33	1,25E-17	1,710	1,21	1,47	0,26
r10	0,350	5,85E-17	3,42E-33	1,25E-17	1,015	0,84	0,71	0,18
r11	0,370	5,85E-17	3,42E-33	1,25E-17	3,155	2,06	4,24	0,44
r12	0,380	5,85E-17	3,42E-33	1,25E-17	1,990	0,87	0,76	0,19
r13	0,410	5,85E-17	3,42E-33	1,25E-17	5,439	2,38	5,68	0,51
r14	0,470	1,17E-16	1,37E-32	2,50E-17	1,372	0,58	0,34	0,12
r15	0,500	~0	~0	~0	1,306	1,00	0,99	0,21
r16	0,520	1,17E-16	1,37E-32	2,50E-17	1,753	0,74	0,55	0,16
r17	0,570	1,17E-16	1,37E-32	2,50E-17	1,928	1,63	2,67	0,35
r18	0,610	1,17E-16	1,37E-32	2,50E-17	0,670	0,61	0,38	0,13
r19	0,680	1,17E-16	1,37E-32	2,50E-17	1,287	0,77	0,60	0,16
r20	0,840	8,16E-03	6,67E-05	1,74E-03	6,893	2,89	8,36	0,62

(X) Média; (S) Desvio Padrão; (CV%) Coeficiente de variação; (IC) Intervalo de confiança ao nível de 5% de confiança.

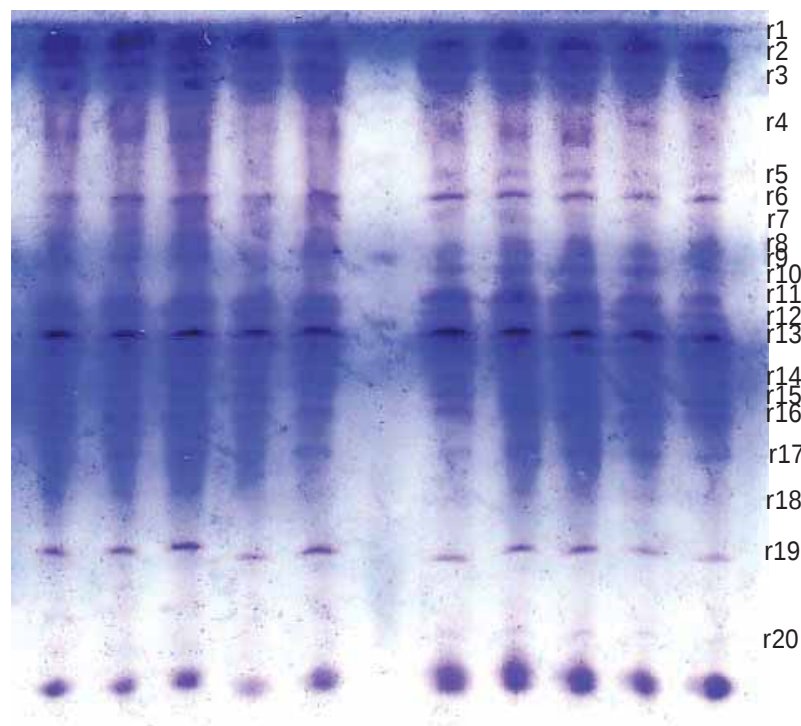


Figura 12 - Isoeletrofocalização de proteínas musculares hidrossolúveis de peito de avestruz. (r) bandas proteicas. Fonte: FIGUEIRA, 2011.

Com a análise da figura 12, e observando os dados da tabela 14, foi possível encontrar um total de vinte diferentes bandas proteicas com suas mobilidades relativas variando de 0,051 a 0,840. Tais fatos foram demonstrados na tabela 14, na qual as médias de r_f entre r1 e r3 apresentaram-se muito próximas e entre r4 e r19 também.

Ainda com relação a mobilidades relativas, tendo em vista a reduzida variabilidade individual nas posições determinadas, notaram-se pequenas variações nas medidas de desvio padrão, coeficiente de variação e intervalo de confiança. Nas bandas r7 e r15 não houve variação individual nas posições determinadas e as medidas de desvio padrão, coeficiente de variação e intervalo de confiança permaneceram em zero.

Os resultados densitométricos apresentaram médias variando de 10,947 à 0,621, o que representou os graus de intensidade de coloração com que as bandas se apresentaram. Analisando a figura 12, identificou-se com menor intensidade de coloração as bandas r5, r7, r8, r10 e r18, sendo que as demais bandas apresentaram-se intensamente coradas. Há de se ressaltar que as bandas entre r7 e r18 apresentam certa difusão, e portanto difícil distinção

entre si. Também em relação à densitometria encontrou-se certa variabilidade, considerando-se as bandas proteicas detectadas, dado este facilmente avaliado pela Tabela 14.

6. DISCUSSÃO

Considerando a eletroforese em gel de agarose, foram observadas seis bandas proteicas nas amostras de frangos, cinco em amostras de perus e quatro nas amostras de avestruzes. Avaliando as mobilidades relativas, foi observado que apenas a banda r1 (0,110) foi encontrada tanto nas amostras de frangos quanto nas amostras de perus (figura 13), o que também foi demonstrado nos resultados da densitometria (30,255% e 23,510% respectivamente).

As demais bandas não mostraram relação nas espécies testadas, uma vez que não foram identificadas semelhanças nos diferentes géis testados das mesmas. A estatística descritiva demonstrou que a técnica possui acurácia e repetibilidade, uma vez que os valores de desvios padrão, coeficiente de variação e intervalo de confiança das mobilidades relativas foram extremamente baixos.

Com relação aos resultados da análise densitométrica, foi encontrada grande homogeneidade entre as espécies testadas, o que garante assim a existência de um padrão correspondente ao perfil eletroforético obtido e caracterizado. Os resultados obtidos demonstraram para a obtenção de um padrão protéico para as espécies em estudo pode ser realizado com o emprego dessa técnica.

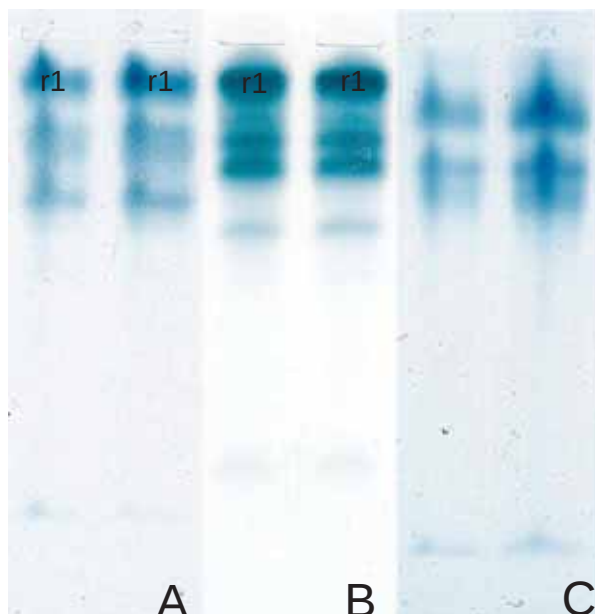


Figura 13 - Eletroforese em gel de Agarose de proteínas musculares hidrossolúveis de peito de frangos de corte (A), perus (B) e avestruzes (C). (r) bandas proteicas. Fonte: FIGUEIRA, 2011.

Tendo como referência à técnica de eletroforese nativa em gel de poliacrilamida, foram observadas seis bandas proteicas nas amostras de frangos, oito nas amostras de perus e nove em amostras de avestruzes. O emprego desta técnica demonstrou um maior fracionamento proteico do que o apresentado em géis de agarose, sendo que não foi encontrada relação entre as ocorrências das bandas proteicas das espécies estudadas (figura 14).

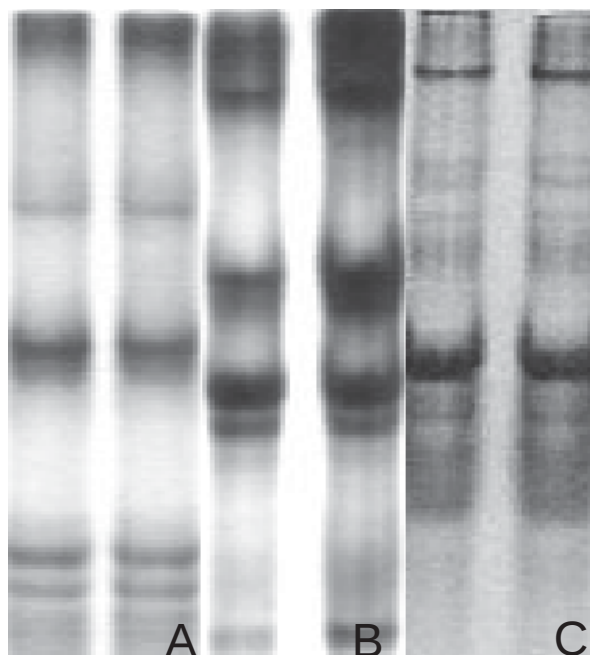


Figura 14 - Eletroforese de proteínas musculares hidrossolúveis em gel de poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação num sistema descontínuo de tampões alcalinos de peito de frangos de corte (A), perus (B) e avestruzes (C). Fonte: FIGUEIRA, 2011.

Este fato foi constatado pela análise dos valores de mobilidade relativa das bandas na referida técnica, os quais puderam ser observados que em todas as espécies testadas, encontraram-se valores muito baixos de desvios padrão e de coeficiente de variação, demonstrando a repetibilidade da técnica assim como sua acurácia.

O mesmo pode ser descrito sobre os valores referentes à densitometria, nos quais as diferenças individuais embora tenham sido detectadas, apresentavam-se com mínima variação, como demonstrado na estatística descritiva. Os resultados aqui obtidos demonstram a empregabilidade dessa técnica para a obtenção de um padrão proteico para as espécies em estudo, com maior diversidade das bandas proteicas em relação à técnica anteriormente citada.

Os resultados obtidos com a técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida na presença de SDS não redutora e não denaturante demonstrou a presença de três bandas protéicas nas amostras de frangos, seis nas de perus e quatro nas de avestruzes. Neste sentido, mais uma vez observa-se a não ocorrência de bandas coincidentes entre as espécies

testadas (figura 15), conforme os dados de mobilidade relativa demonstraram, assim como os baixos valores de desvios padrão e coeficiente de variação.

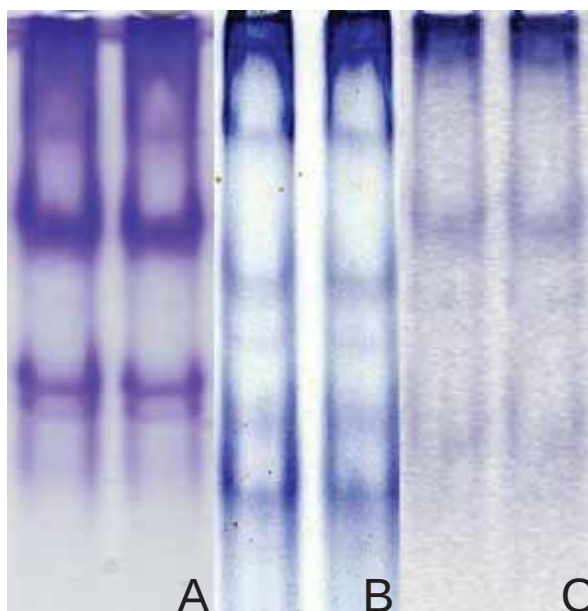


Figura 15 - Eletroforese de proteínas musculares hidrossolúveis de peito de frangos de corte (A), perus (B) e avestruzes (C) em gel de Poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação em presença de Dodecil Sulfato de Sódio (SDS), não denaturante e não redutor, num sistema descontínuo de tampões alcalinos. Fonte: FIGUEIRA, 2011.

Apesar da redução do número de bandas reveladas, notou-se também a formação de um padrão eletroforético individual e não coincidente entre as espécies em estudo, o que permite utilizar esta técnica no intuito de diferenciar as espécies.

E por fim, os resultados obtidos na técnica de Isoeletrofocalização, demonstraram a maior variação interespecífica quanto às proteínas musculares. Foram detectadas seis frações proteicas nas amostras de frangos, onze frações em amostras de perus e vinte frações nas amostras de avestruzes.

Com a análise dos resultados de mobilidade relativa observou-se que a banda r6 em amostras de frangos coincidiu com a banda r9 de perus, além do que, comparando os resultados obtidos com perus aos obtidos com avestruzes, observa-se que a banda r4 de perus coincidiu com a r6 de avestruzes, a r8 com a r12 e r11 com a r15 (figura 16).

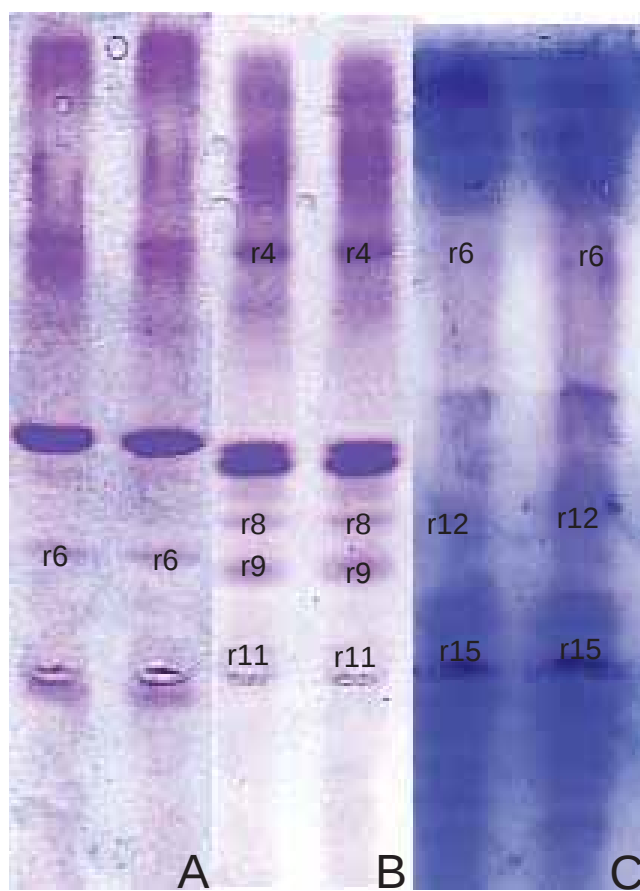


Figura 16 - Isoeletrofocalização de Proteínas musculares hidrossolúveis de peito de frangos de corte (A), perus (B) e avestruzes (C). (r) bandas proteicas. Fonte: FIGUEIRA, 2011.

Apesar dessas coincidências, os padrões eletroforéticos obtidos para as diferentes espécies foram bem diferentes. De semelhante modo, os baixos desvios padrão e coeficiente de variação apontam para a repetibilidade dos resultados obtidos nessa técnica, constituindo-se num perfil eletroforético padrão e individual para cada espécie testada.

7. CONCLUSÃO

As técnicas eletroforéticas empregadas revelaram eletroferogramas de proteínas musculares que, com maior ou menor fracionamento, resultaram em padrões específicos de proteínas musculares para cada espécie, sendo úteis na identificação dos tecidos musculares de frangos, perus e de avestruzes.

A densitometria demonstrou a ocorrência de variações quantitativas individuais que podem ser devidas a perdas proteicas durante a manipulação ou ainda alterações referente à própria expressão gênica individual, mas que não comprometeram a padronização específica dos eletroferogramas.

REFERÊNCIAS

CAMPBELL-PLATT, G. **Food Science and technology**. Wiley – Blackwell, 2009. 493p.

CANAVESSI, A.M.O.; CHIACCHIO, S.B.; SARTORI, R.; CURY, P.R. Valores do perfil eletroforético das proteínas séricas de bovinos da raça Nelore (*bos indicus*) criados na região de Botucatu, São Paulo: influência dos fatores etários e sexuais. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.67, n.1, p.[s n], 2000.

CARRER C. C., ELMÔR, R. A., KORNFELD, M. E., CARVALHO, M. C. **A criação do avestruz: guia completo de A a Z**. 1ed. Pirassununga, SP: C. C. Carrer, 2004. 255p.

CELMGEL, Eletroforese em Agarose Geral, 1999. **CELM – Cia Equipadora de Laboratórios Modernos**, 1999. 24p. Disponível em: <<http://hp.br.inter.net/ezequiel.araujo/eb/arquivos/agarose%20geral.pdf>> Acesso em: 17 set. 2011.

CELMGEL, Filme de Agarose Geral, 2003. **CELM – Cia Equipadora de Laboratórios Modernos**, 2003. p.[s n]. Disponível em: <<http://e-pronto.magicsite.com.br/UserFiles/Celm/Arquivos/Filme-agarose-geral.pdf>>. Acesso em: 17 set. 2011.

COSTA, L.O. **Processamento e diminuição do reprocesso do hambúrguer bovino (HBV)**. 2004. 124f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Engenharia em Alimentos). Universidade Católica de Goiás, Goiânia – GO, 2004.

DAGUER, H., STEPHAN, M. P., BERSOT, L. S. Perfil eletroforético de lombo suíno adicionado de proteínas não cárneas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.2, p.434-440, 2009.

DAMASCENO, F. A., YANAGI JUNIOR, T., LIMA, R. R. de, GOMES, R. C. C., MORAES, S. R. P. de. Avaliação do bem estar de frangos de corte e, dois galpões comerciais climatizados. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.34, n.4, p.1031-1038, 2010.

DIERCKX, S.M.; RAMOS, P.R.R.; BORTOLOZZI, J. Identificação das proteínas musculares de suínos submetidas à eletroforese em gel de poliacrilamida com Sodium Dodecil Sulfato (SDS). **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, v.12, n.1, p.8-11, 2004.

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.

FELÍCIO, P. E. Qualidade da carne Nelore e o mercado mundial. In: IX Seminário do PMGRN: Comemoração dos 32 anos do GEMAC, Departamento de Genética, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2000, Ribeirão Preto. IX Seminário do PMGRN. **Texto de conferência** - 1 CD-ROM.

FERRÃO, S.P.B.; SANTOS, W.L.M.; VERSIANI, C.V. Determinação de nitritos em lingüiças frescas comercializadas em Belo Horizonte – MG. **Revista Higiene Alimentar**, v.13, n.61, p.[s n], abril/maio 1999.

FIGUEIREDO, V. F.; NETO, P. L. O. C. Implantação do HACCP na indústria de alimentos. **Gestão & Produção**, v.8, n.1, p.100-111, 2001. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0104530X20010001000008&script=sci_arctext&lng=en>. Acesso em: 11 set. 2011.

FREITAS, A.S.; LOPES, A.B.; STEPHAN, M.P.; CORNEJO, F.E.P.; FURTADO, A.A.L. Composição química e protéico-molecular da farinha de resíduos de camarão-sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*). **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v.20, n.1, p.111-120, 2002.

GAMEIRO, A. H., SUZAN, E. Perspectivas e desafios do sistema agroindustrial do avestruz no Brasil. **Informações Econômicas, SP**, v.37, n.10, p. 44-59, 2007.

GAYA, L. G., FERRAZ, J. B. S. Aspectos genético-quantitativos da qualidade da carne em frangos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.1, p.349-356, 2006.

GIROTTTO, A. F., AVILA, V. S. Aspectos da produção, exportação, consumo e custos de produção e implantação de aviários. **Sistemas de Produção de Frangos de Corte**. Versão eletrônica. p. [s.n], 2003. Disponível em:<<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Ave/ProducaoodeFrangodeCorte/Importancia-economica.html>>. Acesso em: 12 set. 2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Indicadores IBGE**: Estatística da Produção Pecuária. Comissão Especial de

Planejamento, Controle e Avaliação das Estatísticas Agropecuárias (CEPAGRO), Brasília, DF, 2011. 32p.

HAMES, B.D.; RICKWOOD, D. **Gel Electrophoresis of proteins: A practical approach**. 2^a ed., New York: IRL Press, 1990. 383p.

LANA, G. R. Q. **Avicultura**. 1ed. Campinas: Livraria e Editora Rural Ltda., 2000. 268p.

LEMOS, A.L.S.C., MORAES, M. A. C. Identificação eletroforética de peixes de água doce (Família *Pimelodidae*) de valor comercial. **Alimentos e Nutrição – Brazilian Journal of Food and Nutrition**, v.4, p.57-63,1992.

MAFRA, I., FERREIRA, I. M. P. L. V. O., OLIVEIRA, M. B. P. P. Food authentication by PCR-based methods. **European food research and technology**, v. 227, Issue 3, p. 649-665, 2008.

MATHEUS, D.P.; RUDGE, A.C.; GOMES, G.M.M. Ocorrência de Salmonella spp em carne de frango comercializada no município de Bauru, SP, Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.62, n.2, p.111-115, 2003.

MENDES, A. S., MOURA, D. J., NAAS, I. A. Produção industrial de perus: características e exigências. **Avisite – Ciência e Tecnologia – Trabalhos e Artigos**, p. [s.n], 2005. Disponível em:<<http://www.avisite.com.br/cet/trabalhos.asp?codigo=71>>. Acesso em: 12 ago. 2011.

MUNIZ, L. R. Problemas vieram para o bem da cadeia produtiva. **Associação dos criadores de avestruzes do Brasil**, p. [s.n], 2007. Disponível em:<<http://www.acab.org.br/?ac=ler&id=627>>. Acesso em: 11 out. 2011.

NEVES, R. C. F. **Desenvolvimento de metodologias analíticas para estudo metaloproteômico do cobre em plasma, tecido muscular e hepático da Tilápia do Nilo**. 2010. 115f. Tese (Doutorado em Zootecnia)-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010.

OLIVEIRA, M.J.; ARAUJO, W.M. C.; BORGIO, L.A. Quantificação de nitrato e nitrito em linguiças do tipo frescal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.4, p.736-742, 2005.

ORTIZ, L.A.; SILVA, J.W.B.; BASTOS, J.R.; COSTA, H.J.M.S. Verificação da pureza de linhagens das tilápias de Zanzibar, *Oreochromis hornorun* (TREW.),

e do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L., 1766), através da eletroforese de proteínas em acetato de celulose. **Revista Ciência Agronômica**, v.25, n.1/2, p.38-43, 1994.

PATRÍCIA, T. Avestruz como opção de investimento. **Acrítica.com**, Manaus, p.[s.n], 21 jun. 2010. Disponível em:<
http://acritica.uol.com.br/manaus/economia_avestruz_criacao_mercado_0_284371564.html>. Acesso em: 9 out. 2011

PULICI, R., ALVES, F. R., GAMEIRO, A. H. Aceitação e segmentação do mercado de produtos derivados de peru. In: XLVI Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural, 2008, Rio Branco – Acre, Brasil. **Apresentação Oral...** Rio Branco, 2008.

RAMOS, P. R. R. **Polimorfismo bioquímico de proteínas séricas do leite de vacas da raça holandês, puras por cruzamento, variedade malhada de preto**.1992. 131f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas)-Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1992.

SARCINELLI, M. F., VENTURINI, K. S., SILVA, L. C. Características do Frango de Corte. **Boletim Técnico - PIE-UFES:01307**, p.[s.n], 2007a. Disponível em:<
http://www.agais.com/telomc/b01307_caracteristicas_carnefrango.pdf>. Acesso: 17 abr. 2011.

SARCINELLI, M. F., VENTURINI, K. S., SILVA, L. C. Produção de Frangos de Corte. **Boletim Técnico - PIE-UFES:00107**, p. [s.n], 2007b. Disponível em:<
http://www.agais.com/telomc/b00107_carne_frangodecorte.pdf>. Acesso em: 17 abr. 2011.

SILVA, F. A. S. E., AZEVEDO, C. A. V. Principal Components Analysis in the Software Assistant-Statistical Attendance. In: 7th World Congress on Computers in Agriculture Conference Proceedings, 22-24 June 2009, Reno – Nevada – EUA. **Conference proceedings...** American Society of Agricultura and Biological Engineers, 2009.

SILVA JUNIOR, J.G. **Eletroforese de proteínas: guia teórico-prático**. 1 ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2001, 125p.

SOUZA, E.M.T.; ARRUDA, S.F.; BRANDÃO, P.O.; SIQUEIRA, E.M.A. Análise eletroforética para detectar e quantificar soro de leite adicional em leite e bebidas lácteas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.20, n.3, p.314-317, 2000.

TATUM, J. D.; SMITH, G. C.; BELK, K. E. New approaches for improving tenderness, quality, and consistency of beef. **Journal of Animal Science**, v.77, p. 1-10, 2000.

UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA (UBABEF). **Relatório anual 2011**: Anuário da Avicultura Brasileira, 2011. 72p. Disponível em: <<http://www.abef.com.br/ubabef/exibenoticiaubabef.php?notcodigo=2761>>. Acesso em: 14 ago. 2011.

UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA (UBABEF). **Relatório anual 2009/2010**: Anuário da Avicultura Brasileira, 2010. 32p. Disponível em: <<http://www.abef.com.br/uba/exibenoticiauba.php?notcodigo=2041>>. Acesso em: 13 mar. 2011.

8. ARTIGO CIENTÍFICO

A ser encaminhado para o periódico Food Control - **An official scientific journal of the European Federation of Food Science and Technology**

Normas para publicação disponível em:

http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/30418/authorinstructions#22000

ISSN: 0956-7135

Artigo: Caracterização eletroforética de proteínas musculares de aves de interesse comercial.

P. T. Figueira¹, P. R. R. Ramos², R. O. Roça³

Departamento de Gestão e Tecnologia Agroindustrial

RESUMO: Fragmentos de musculatura peitoral de aves de interesse comercial (frangos de corte, perus e avestruzes) foram submetidos a quatro técnicas eletroforéticas: Eletroforese Nativa em Gel de Poliacrilamida, SDS-PAGE Não Denaturante, CELM-GEL® - Filme de Agarose Geral e Isoeletrofocalização em *Phast-Gel*, objetivando identificar a padronização do perfil eletroforético das proteínas musculares das espécies em estudo empregando-se os diferentes métodos eletroforéticos e através da densitometria, avaliar possíveis perdas nas frações proteicas encontradas. Os resultados demonstraram padrões específicos de proteínas musculares para cada espécie, sendo úteis na identificação dos tecidos musculares de frangos, perus e de avestruzes, além do que a densitometria demonstrou a ocorrência de variações quantitativas individuais que identificaram perdas, que não comprometeram a padronização específica dos eletroferogramas.

Palavras-chave: SDS-PAGE, Densitometria, proteína muscular, frangos de corte, perus, avestruzes.

Introdução

Os hábitos alimentares durante a evolução humana adquiriram grande importância por serem fontes essenciais de nutrientes naturais, com fácil

¹Autor para correspondência, e-mail: paulo.figueira@pucpr.br Universidade Estadual Paulista, pós-graduação em Medicina Veterinária, nível Mestrado

² Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Departamento de Física e Biofísica

³ Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Departamento de Ciências e Tecnologia Agroindustrial

preparo e acesso a classes menos favorecidas da sociedade. Neste contexto, os alimentos de origem animal possuem uma visibilidade privilegiada por apresentarem além de grande fornecimento de proteínas de fácil degradação, devido ao equilíbrio de aminoácidos essenciais que atendem à exigência diária do metabolismo humano, uma melhor característica palatável em relação aos alimentos de origem vegetal. Com a crescente demanda destes alimentos por parte da população, nota-se que a carne de aves, em constante crescimento, é a mais consumida no mundo, sendo que no Brasil, a carne de frangos de corte se apresenta como a mais produzida, com mais de 1.000.000 de toneladas em relação à carne bovina, segunda colocada (UBABEF, 2010; IBGE, 2011).

Em relação a outras espécies de interesse comercial, Pulici et al. (2008) apresenta que foram abatidos 36,9 milhões de perus em 2005, representando um crescimento de 5,61% em relação a 2004, além do que, a produção atingiu 359,2 mil toneladas, o que representa um crescimento de 14,21%, e em 2010, as exportações totalizaram quase 160 mil toneladas de carne, sendo quase 50% em industrializados, com o principal mercado consumidor sendo o europeu (UBABEF, 2011). No caso de avestruzes, o abate teve um pico em 2007, com 13.870 aves, com resultado superior a 150 toneladas, entretanto entrou em queda e segundo estimativas dos criadores, o abate de 2010 seria próximo de 100 toneladas (PATRÍCIA, 2010).

Entre as características esperadas para o padrão de identificação dos produtos cárneos, as características sensoriais, a maciez, a suculência e o odor são as mais exigidas pelo consumidor, e estas estão diretamente ligadas a constituição proteica do produto (TATUM et al., 2000). Neste sentido, as proteínas constituem então, um dos tipos de macromoléculas biológicas mais abundantes, versáteis e complexas dos organismos vivos. Sua alta complexidade refere-se ao fato de que são constituídas por diferentes sequências de aminoácidos que podem ou não estar modificados, além de apresentarem uma ampla faixa de tamanho (variando de alguns poucos kDa a alguns MDa) e estruturas (NEVES, 2010). Considerando este componente, algumas das técnicas que podem ser citadas para sua avaliação e quantificação são as técnicas eletroforéticas e densitométricas (MAFRA, et al., 2008).

A utilização de tais técnicas para a identificação de fraudes em cortes e produtos cárneos é cada vez mais utilizada, uma vez que a adição destes produtos de substâncias não cárneas e até misturas entre espécies têm-se tornado prática cada vez mais comum. Daguer et al. (2009) utilizaram a técnica de SDS-PAGE para identificar a adição de proteínas não cárneas em lombo suíno para apresentar um padrão eletroforético, e sua consequente utilização, uma vez que a legislação brasileira permite a adição desta proteína, mas há poucas técnicas para sua fiscalização.

A eletroforese em gel de poliacrilamida permite a obtenção de um perfil padrão e específico para diferentes espécies animais, sendo que este não é alterado pela idade, sistema de criação e metodologias de abate e períodos *post-mortem*, no que se refere a grandes frações proteicas (DIERCKX et al., 2004).

Segundo Freitas et al. (2002) a eletroforese em gel de poliacrilamida contendo SDS constitui um método eficaz de separação dos componentes moleculares em mistura protéica e sua utilização na detecção de fraudes em produtos cárneos é viável para identificação na mistura de carnes não citadas no rótulo.

O objetivo deste trabalho foi identificar a ocorrência da padronização do perfil eletroforético das proteínas musculares das espécies de aves de interesse comercial empregando-se diferentes métodos eletroforéticos e ainda através da densitometria, avaliar possíveis perdas nas frações encontradas.

Material e Métodos

Foram utilizados como amostragem, 30 fragmentos de musculatura peitoral de aves de interesse comercial, sendo 10 de cada espécie em estudo (frangos de corte, perus e avestruzes), abatidos em frigoríficos inspecionados do Paraná e São Paulo. Para os fragmentos de frangos e perus, foram removidos porção completa do peitoral das aves, e posteriormente coletados os fragmentos. Nos fragmentos de avestruzes, foram retirados 3 porções distintas do músculo peitoral logo após a evisceração dos animais, sendo que cada porção continha em média 25 cm² (removidos através de gabaritos quadrados com laterais de 5 cm). Todas as amostras foram colhidas em

sequência de abate, com animais de mesmo lote e, portanto mesmo sistema de criação dentro de cada espécie em estudo. As amostras, depois de colhidas, foram acondicionadas em embalagens individuais, identificadas e transportadas a freezers com set point a -18°C para congelamento. As alterações provocadas pelo *post-mortem* dos animais não foram levados em consideração, uma vez que as porções proteicas em estudo não seriam afetadas (DIERCKX et al., 2004). Para a extração proteica foram utilizadas amostras de 500 mg de fragmentos musculares imersos em nitrogênio líquido. Após o congelamento, os músculos foram fatiados e macerados em almofariz contendo 2 ml de água destilada deionizada, segundo técnica descrita por Lemos; Moraes (1992). As amostras resultantes foram centrifugadas em refrigeração à 4°C , com 7500 G por 15 minutos. O precipitado foi descartado e o sobrenadante, diluído em solução de aplicação (constituída de tampão Tris-HCl pH 8,8 na quantidade de 100 ml, azul de bromofenol na quantidade de 50 mg e glicerol na proporção de 5% do volume final) na proporção 1:3 (v/v) e congelado a -80°C , para posterior diluição e utilização nas corridas eletroforéticas.

Para a execução da eletroforese PAGE foi empregado o conjunto mini-PROTEAN 3 (BIORAD®) conforme instruções do fabricante e técnica proposta por Hames; Rickwood (1990) com alterações realizadas por Ramos (1992), sendo aplicado em cada poço alíquota de 13 μl de amostra, conectando a cuba à fonte estabilizadora, mantendo o seguinte protocolo: 100 V de corrente inicial por 10 minutos seguido de 300 V por 150 minutos, mantendo a amperagem livre. Para a SDS-PAGE não denaturante foi seguido o mesmo protocolo anterior, com a adição de SDS na preparação do gel separador, sendo que quantidades de amostras utilizadas assim como protocolo da fonte estabilizadora foram mantidas. Para a eletroforese em gel de agarose foi empregado um filme de agarose pronto, de acordo com as especificações do fabricante (CELM-GEL, 1999), adicionando 90 ml de tampão TRIS pH 9,5 refrigerado e 1 μl de amostra em cada poço, com o seguinte protocolo de fonte estabilizadora: 100V de corrente por 20 minutos, com amperagem livre. Para utilização dos kits mini-géis de Isoeletrofocalização (gradiente de pH 3 - 9), foram dispostos os géis prontos diretamente no equipamento, e posteriormente foram aplicados 3 μl de amostra no suporte de aplicação para

posterior utilização dos pentes (12 posições, sendo que as posições laterais foram descartadas), os quais por capilaridade coletam alíquotas de 0,3 µl. O protocolo do equipamento PHASTSYSTEM (*PhastGel*® GE HEALTH-CARE) utilizado foi o seguinte: 100 V estabelecidos até que as amostras adentrem ao gel, com posterior diferença de potencial de 2000 V para a separação das frações proteicas, por 20 minutos.

A coloração do gel foi feita realizando a imersão no corante Coomassie Brilliant Blue em solução de ácido acético conforme instruções do fabricante por 4 horas para as técnicas de PAGE e PAGE-SDS. Após a coloração o gel foi acondicionado em solução descorante do Coomassie (água/metanol/ácido acético 1:3:6, v/v) até a revelação das bandas proteicas no gel. Para a técnica de agarose, a coloração foi realizada empregando-se Negro de Amido à 0,1 % em solução com ácido acético à 5 % e o processo de descoloração em solução de ácido acético 5 % até revelação das bandas proteicas.

Os kits mini-géis foram submetidos à coloração e descoloração no próprio aparelho (PHASTSYSTEM) conforme recomendações do fabricante. A captação das imagens dos géis foi realizada por meio de equipamento de fotodocumentação (Image Máster VDS Pharmacia) com identificação das mobilidades relativas, pesos moleculares e pontos isoelétricos.

Para quantificação das mesmas, o software do fotodocumentador (VDS ELITE 1.0) realizou as análises densitométricas, realizando a avaliação quantitativa de cada banda proteica, separadas nas diferentes técnicas eletroforéticas.

Resultados e Discussão

Considerando a eletroforese em gel de agarose, foram observadas seis bandas proteicas nas amostras de frangos, cinco em amostras de perus e quatro nas amostras de avestruzes. Avaliando as mobilidades relativas, foi observado que apenas a banda r1 (0,110) foi encontrada tanto nas amostras de frangos quanto nas amostras de perus (figura 1), o que também foi demonstrado nos resultados da densitometria. As demais bandas não mostraram relação nas espécies testadas, uma vez que não foram identificadas semelhanças nos diferentes géis testados das mesmas. A estatística descritiva

demonstrou que a técnica possui acurácia e repetibilidade, uma vez que os valores de desvios padrão, Coeficiente de variação e intervalo de confiança das mobilidades relativas foram extremamente baixos. Com relação aos resultados da análise densitométrica, foi encontrado grande homogeneidade entre as espécies testadas, o que garante assim a existência de um padrão correspondente ao perfil eletroforético obtido e caracterizado. Os resultados obtidos demonstraram para a obtenção de um padrão protéico para as espécies em estudo pode ser realizado com o emprego dessa técnica.

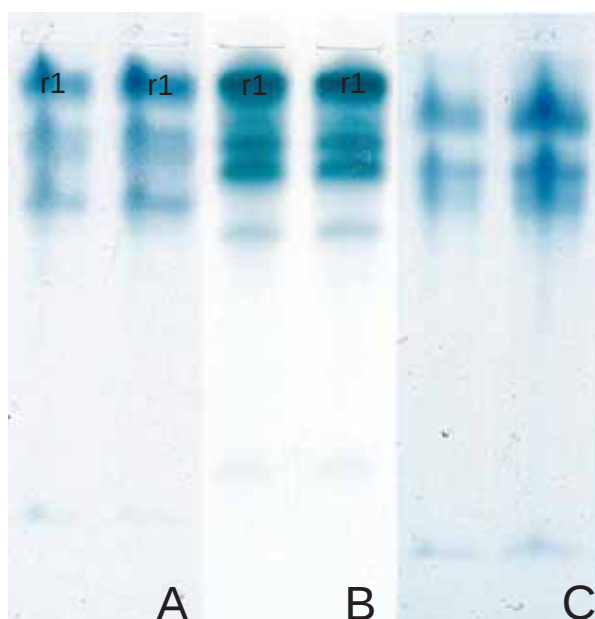


Figura 1 - Eletroforese em Gel de Agarose de Proteínas musculares hidrossolúveis de peito de frangos de corte (A), perus (B) e avestruzes (C). Fonte: FIGUEIRA, 2011.

Tendo como referência à técnica de eletroforese nativa em gel de poliacrilamida, foram observadas seis bandas proteicas nas amostras de frangos, oito nas amostras de perus e nove em amostras de avestruzes. O emprego desta técnica demonstrou um maior fracionamento proteico do que o apresentado em géis de agarose, sendo que não foi encontrada relação entre as ocorrências das bandas protéicas das espécies estudadas (figura 2). Este fato foi constatado pela análise dos valores encontrados de mobilidade relativa das bandas na referida técnica. Observou-se também que tanto nas amostras de frango, como nas de perus e de avestruzes, foram encontrados valores muito baixos de desvios padrão e de Coeficiente de variação, demonstrando a

repetibilidade da técnica assim como sua acurácia. O mesmo pode ser descrito sobre os valores referentes à densitometria, nos quais as diferenças individuais embora tenham sido detectadas, apresentavam-se com mínima variação, como demonstrado na estatística descritiva. Os resultados aqui obtidos demonstram a empregabilidade dessa técnica para a obtenção de um padrão protéico para as espécies em estudo, com maior diversidade das bandas proteicas em relação à técnica anteriormente citada.

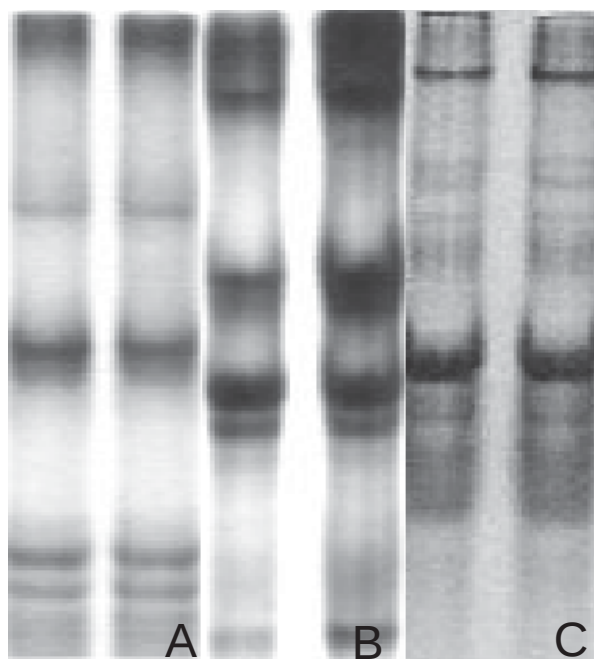


Figura 2 - Eletroforese de Proteínas musculares hidrossolúveis em gel de poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação num sistema descontínuo de tampões alcalinos de peito de frangos de corte (A), perus (B) e avestruzes (C). Fonte: FIGUEIRA, 2011.

Os resultados obtidos com a técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida na presença de SDS não redutora e não denaturante demonstrou a presença de três bandas protéicas nas amostras de frangos, seis nas de perus e quatro nas de avestruzes. Neste sentido, mais uma vez observa-se a não ocorrência de bandas coincidentes entre as espécies testadas (figura 3), conforme os dados de mobilidade relativa demonstraram, assim como os baixos valores de desvios padrão e Coeficiente de variação. Apesar da redução do número de bandas reveladas, nota-se também a

formação de um padrão eletroforético individual e não coincidente entre as espécies em estudo, o que permite utilizar esta técnica no intuito de diferenciar as espécies.

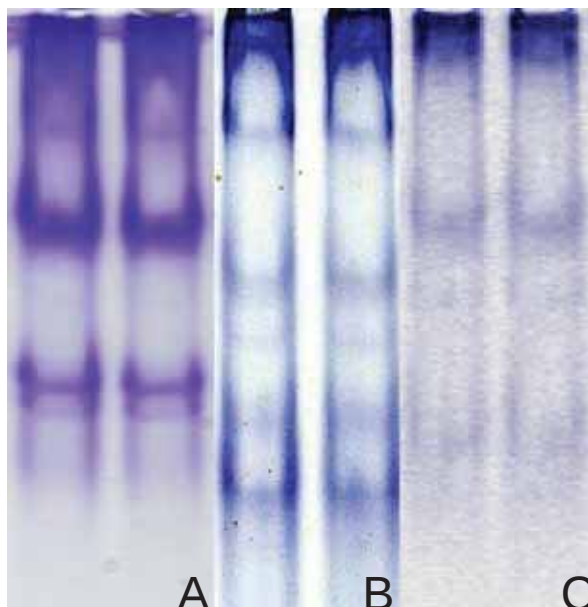


Figura 3 - Eletroforese de Proteínas musculares hidrossolúveis de peito de frangos de corte (A), perus (B) e avestruzes (C) em Gel de Poliacrilamida a 10% de concentração no gel de separação em presença de Dodecil Sulfato de Sódio (SDS), não denaturante e não redutor, num sistema descontínuo de tampões alcalinos. Fonte: FIGUEIRA, 2011.

E por fim, os resultados obtidos na técnica de Isoeletrofocalização, demonstraram a maior variação interespecífica quanto às proteínas musculares. Foram detectadas seis frações proteicas nas amostras de frangos, onze frações em amostras de perus e vinte frações nas amostras de avestruzes. Analisando-se os resultados de mobilidade relativa, observou-se que a banda r6 em amostras de frangos coincidiu com a banda r9 de perus, além do que, comparando os resultados obtidos com perus aos obtidos com avestruzes, observa-se que a banda r4 de perus coincidiu com a r6 de avestruzes, a r8 com a r12 e r11 com a r15 (figura 4). Apesar dessas coincidências, os padrões eletroforéticos obtidos para as diferentes espécies foram bem diferentes. De semelhante modo, os baixos desvios padrão e Coeficiente de variações apontam para a repetibilidade dos resultados obtidos nessa técnica, constituindo-se num perfil eletroforético padrão e individual para cada espécie testada.

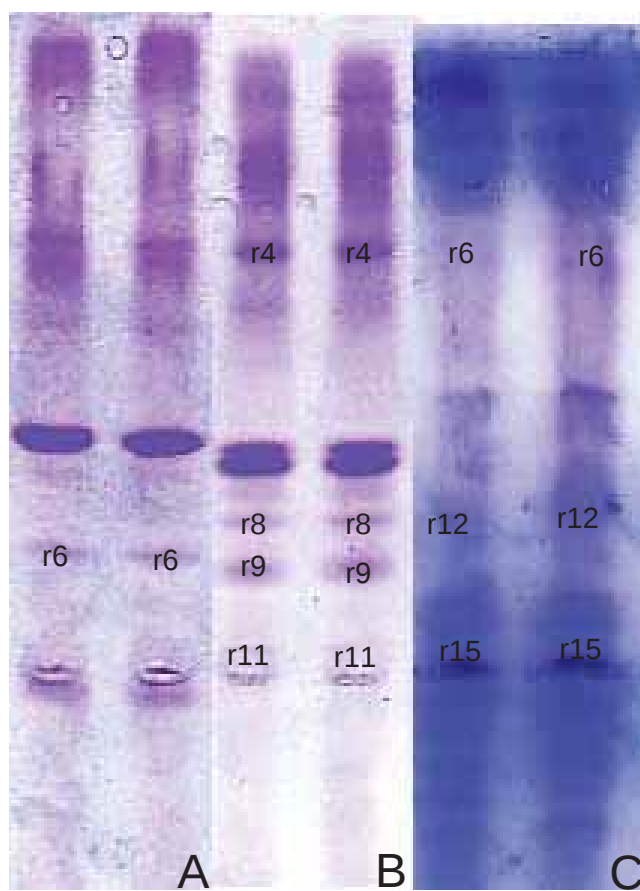


Figura 17 - Isoeletrofocalização de Proteínas musculares hidrossolúveis de peito de frangos de corte (A), perus (B) e avestruzes (C). Fonte: FIGUEIRA, 2011.

Conclusões

As técnicas eletroforéticas empregadas revelaram eletroferogramas de proteínas musculares que, com maior ou menor fracionamento, resultaram em padrões específicos de proteínas musculares para cada espécie, sendo úteis na identificação dos tecidos musculares de frangos, perus e de avestruzes.

A densitometria demonstrou a ocorrência de variações quantitativas individuais que provavelmente por perdas proteicas durante a manipulação ou ainda alterações referentes à própria expressão gênica individual não comprometeram a padronização específica dos eletroferogramas.

Referências

CELMGEL, Eletroforese em Agarose Geral, 1999. **CELM – Cia Equipadora de Laboratórios Modernos**, 1999. 24p. Disponível em:< <http://hp.br.inter.net/ezequiel.araujo/eb/arquivos/agarose%20geral.pdf>> Acesso em: 17 set. 2011.

DAGUER, H., STEPHAN, M. P., BERSOT, L. S. Perfil eletroforético de lombo suíno adicionado de proteínas não cárneas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.2, p.434-440, 2009.

DIERCKX, S.M.; RAMOS, P.R.R.; BORTOLOZZI, J .Identificação das proteínas musculares de suínos submetidas à eletroforese em gel de poliacrilamida com Sodium Dodecil Sulfato (SDS). **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, v.12, n.1, p.8-11, 2004.

FREITAS, A.S.; LOPES, A.B.; STEPHAN, M.P.; CORNEJO, F.E.P.; FURTADO, A.A.L. Composição química e protéico-molecular da farinha de resíduos de camarão-sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*). **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v.20, n.1, p.111-120, 2002.

HAMES, B.D.; RICKWOOD, D. **Gel Electrophoresis of proteins: A practical approach**. 2ª ed., New York: IRL Press, 1990. 383p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Indicadores IBGE: Estatística da Produção Pecuária**. Comissão Especial de Planejamento, Controle e Avaliação das Estatísticas Agropecuárias (CEPAGRO), Brasília, DF, 2011. 32p.

LEMOS, A.L.S.C., MORAES, M. A. C. Identificação eletroforética de peixes de água doce (Família *Pimelodidae*) de valor comercial. **Alimentos e Nutrição – Brazilian Journal of Food and Nutrition**, v.4, p.57-63,1992.

MAFRA, I., FERREIRA, I. M. P. L. V. O., OLIVEIRA, M. B. P. P. Food authentication by PCR-based methods. **European food research and technology**, v. 227, Issue 3, p. 649-665, 2008.

NEVES, R. C. F. **Desenvolvimento de metodologias analíticas para estudo metaloproteômico do cobre em plasma, tecido muscular e hepático da Tilápia do Nilo**. 2010. 115f. Tese (Doutorado em Zootecnia)-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010.

PATRÍCIA, T. Avestruz como opção de investimento. **Acrítica.com**, Manaus, p.[s.n], 21 jun. 2010. Disponível em:<http://acritica.uol.com.br/manaus/economia_avestruz_criacao_mercado_0_284371564.html>. Acesso em: 9 out. 2011

PULICI, R., ALVES, F. R., GAMEIRO, A. H. Aceitação e segmentação do mercado de produtos derivados de peru. In: XLVI Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural, 2008, Rio Branco – Acre, Brasil. **Apresentação Oral...** Rio Branco, 2008.

RAMOS, P. R. R. **Polimorfismo bioquímico de proteínas séricas do leite de vacas da raça holandês, puras por cruzamento, variedade malhada de preto.**1992. 131f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas)-Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1992.

TATUM, J. D.; SMITH, G. C.; BELK, K. E. New approaches for improving tenderness, quality, and consistency of beef. **Journal of Animal Science**, v.77, p. 1-10, 2000.

UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA (UBABEF). **Relatório anual 2009/2010**: Anuário da Avicultura Brasileira, 2010. 32p. Disponível em: <<http://www.abef.com.br/uba/exibenoticiauba.php?notcodigo=2041>>. Acesso em: 13 mar. 2011

UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA (UBABEF). **Relatório anual 2011**: Anuário da Avicultura Brasileira, 2011. 72p. Disponível em: <<http://www.abef.com.br/ubabef/exibenoticiaubabef.php?notcodigo=2761>>. Acesso em: 14 ago. 2011.