

ESTUDO ELETROFORETICO DO QUEIJO COALHO DE JAGUARIBE-CE.

Maria Alves FONTENELE, Doutoranda Renorbio, bolsista Capes, fone: 85-33917227 - E-mail: fontenelemalu@gmail.com, rua Dra. Sara Mesquita 2270 - Fortaleza, Ceará - BR; Antonio Silvio do EGITO, Pesquisador da Embrapa Caprinos e Ovinos, fone: 88-31127400 - E-mail: egito@cnpq.embrapa.br, Groairas Km 4 - Sobral, Ceará - BR; Maria do Socorro Rocha BASTOS, Pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical, fone: 85-33917232 - E-mail: sbastos@cnpq.embrapa.br, rua Dra. Sara Mesquita 2270 - Fortaleza, Ceará - BR. Eixo Temático: Industrialização de Produtos Lácteos.

1. RESUMO

Dentre os produtos de laticínios fabricados na região Nordeste do Brasil, o queijo de coalho possui grande popularidade. Sua produção provém de tradições arraigadas e, pela simplicidade de sua tecnologia, é amplamente fabricado e consumido nessa região. No Ceará os queijos produzidos no Vale do Jaguaribe têm se destacado pelas características peculiares da produção artesanal. Baseado nessas características e na preferência dos consumidores cearenses por este produto a Embrapa e colaboradores vem desenvolvendo estudos visando a possibilidade de uma futura denominação de origem do queijo produzido em Jaguaribe-CE. Estudos eletroforéticos tem sido uma ferramenta interessante para identificar e caracterizar proteínas de leite e derivados. Amostras provenientes de 16 queijarias foram coletadas no dia da fabricação, congeladas e submetidas a estudos eletroforeticos. Avaliaram-se métodos de eletroforeses em presença de SDS e uréia verificando o perfil característico deste tipo de queijo, visando identificar possíveis diferenças entre fabricantes. Utilizou-se amostras de 40 μ l (2mg/ml) de queijos submetendo-as a coloração de Coomassie e prata. Foi identificada a presença das caseínas (CN) α e β bem como de inúmeros peptídeos destacando-se para-k-CN. Observou-se diminuição de α_s -CN em uma das amostras na primeira coleta, nas demais observou-se similaridade entre as amostras, sugerindo ser esta diminuição provavelmente ocasionada por processo tecnológico ou qualidade do leite. A diminuição da α_s -CN, foi observada tanto em PAGE-SDS como uréia sendo esta diminuição melhor observada quando as amostras foram submetidas a PAGE-uréia. Nas amostras submetidas a presença da coloração de prata peptídeos foram mais visíveis que em presença de Coomassie. Baseado nos resultados preliminares observa-se que a eletroforeses de proteínas poderá ser uma ferramenta interessante para monitorar a qualidade dos queijos de coalho, mostrando a coloração de prata melhor sensibilidade para observar a presença dos peptídeos.

Palavras Chaves: eletroforeses, proteína, caseína, leite, peptídeo.

2. METODOLOGIA

Amostras provenientes de 16 queijarias do município de Jaguaribe/CE foram coletadas no dia da fabricação do queijo, transportadas em caixas térmicas ao laboratório de análise de alimentos da Embrapa Agroindústria Tropical-Fortaleza-CE e congeladas a -20°C . Após descongelamento, seguindo metodologia adaptada de Egito *et al.* (2002), uma alíquota de 2 mg foi dissolvida em 1 mL de tampão de amostra, onde utilizou-se 40 μ L para estudos eletroforéticos em géis de poliacrilamida na presença de SDS (PAGE-SDS) e uréia (PAGE-Uréia). Após a corrida, os géis foram inicialmente corados com 0,1% (p/v) de azul Coomassie R-250, dissolvido em uma mistura de 50% (v/v) de metanol e 2 % (p/v) de ácido tricloroacético, por 120 minutos. A descoloração dos géis foi realizada *overnight* em uma solução de 30 % (v/v) de metanol e 7,5% (v/v) de ácido acético, sendo então escaneados e posteriormente submetidos a uma nova coloração por nitrato de prata, segundo protocolo adaptado de Blum *et al.*, (1987).

3. RESULTADOS DISCUSSÃO

Caracterização eletroforética das proteínas do leite (caseínas e lactosoro) utilizadas como padrão e proteínas dos queijos (coleta 1) em presença de SDS com coloração de Coomassie é mostrada na figura 1. A presença das proteínas do leite α , β e k, bem como β -lactoglobulina e α -lactoalbumina, foram observadas, respectivamente, nas amostras de leite ou seja, caseínas e lactosoro. Nas amostras de queijos é evidente a presença das caseínas α , β e do peptídeo para-k-CN, sendo este peptídeo característico em decorrência da hidrólise da k-CN pela ação da quimosina que hidrolisa esta proteína da região Phe105-Met106 (Egito *et al.* 2007). Na figura 2 observa-se o mesmo gel da figura 1, após coloração de Coomassie seguido da coloração de prata. Após este procedimento verifica-se além da para-k-CN inúmeros peptídeos não observado na figura 1, isto em decorrência da sensibilidade da coloração de prata que chega a detectar nanogramas de proteínas. Tanto a figura 1 como a 2 observou-se diminuição de α -CN em uma das amostras (P11) na primeira coleta, fato não observado nas demais amostras. Ressaltando-se que na coleta 2 α -CN da amostra P11, permaneceu similar as demais (Figura 3), sugerindo ser esta diminuição observada na figura 1 (amostra P11) provavelmente ocasionada por processo tecnológico ou qualidade do leite.

A diminuição da α -CN, foi observada tanto em PAGE-SDS como uréia sendo esta diminuição melhor observada quando as amostras foram submetidas a PAGE-uréia (Figura 4). Destacando-se que

quando amostras foram submetidas à presença da coloração de prata (Fig. 2 e 3), peptídeos foram mais visíveis que em presença de Coomassie (Fig. 1).

A α_{s1} -CN caseína é uma das frações mais susceptível a proteólise, conforme foi verificado por diversos autores que observaram esse fato em uma grande variedade de queijos a exemplo do Cheddar (Kubis *et al.*, 2001), Taleggio (Gobbetti *et al.*, 1997a), Gorgonzola (Gobbetti *et al.*, 1997b), Reggiano Argentino (Candioti *et al.* 2002), Mussarela (Feeney *et al.*, 2002), Caciocavallo Pugliese (Gobbetti *et al.*, 2002) entre outros. No entanto, a degradação da β -caseína é bem menor (Kalit *et al.*, 2005). Portanto, a presença dos inúmeros peptídeos observados após coloração de prata nas figuras 2 e 3 foram originados provavelmente em sua grande maioria da α_s -CN.

4. CONCLUSÕES

Os resultados preliminares indicam que tanto PAGE-SDS como PAGE-uréia podem ser utilizados em estudos do queijo coalho de Jaguaribe em decorrência da similaridade dos perfis eletroforéticos entre produtores, principalmente para monitorar possíveis problemas tecnológicos ou mesmo qualidade do leite. Modificações nos perfis eletroforéticos das proteínas, conforme observado em uma das coletas com modificação da α_s -CN sugere irregularidade no processamento do queijo ou na matéria prima (leite). A coloração de prata mostrou maior sensibilidade para observar a presença dos peptídeos, é capaz de detectar menores quantidades de proteína.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BLUM, H.; BEIER, H.; GROSSA, H. J. Improved silver staining of plant proteins, RNA e DNA in polyacrylamide gels. **Electrophoresis**, v.8, p.93-99. 1987.

CANDIOTI, M. C.; HYNES, E. R.; PEROTTI, M. C.; ZALAZAR, C. A. Proteolytic activity of commercial rennets and pure enzymes on whey proteins. **Milchwissenschaft**, v. 57, p. 546–550. 2002.

EGITO, A. S.; GIRARDET, J. M.; LAGUNA, L.E.; POIRSON C.; MOLLÉ, D.; MICLO, L.; HUMBERT, G.; GALLARD, J. L. Milk-clotting activity of enzyme extracts from sunflower and albizia seeds and specific hydrolysis of bovine κ -casein. **International Dairy Journal**, v. 17, p. 816-825. 2007.

EGITO, A. S.; MICLO, L.; LOPES, C.; ADAM, A.; GIRARDET, J.M.; GALLARD, J. L. Separation and characterization of mares' milk α_{s1} -, β -, κ -casein, γ -casein-like, and proteose peptone components 5-like peptides. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 697-706. 2002.

FEENEY, E. P.; GUINEE, T. P.; FOX, P. F. Effect of pH and calcium concentration on proteolysis in Mozzarella cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 1646–1654. 2002.

GOBBETTI, M.; MOREA, M.; BARUZZI, F.; CORBO, M. R.; MATARANTE, A.; CONSIDINE, T.; DI CAGNO, R.; GUINEE, T.; FOX, P. F. Microbiological, compositional, biochemical and textural characterisation of Caciocavallo Pugliese cheese during ripening. **International Dairy Journal**, v. 12, p. 511–523. 2002.

GOBBETTI, M.; LOWNEY, S.; SMACCHI, E.; BATTISTOTTI, B.; DAMIANI, P.; FOX, P. F. Microbiology and biochemistry of Taleggio cheese during ripening. **International Dairy Journal**, v. 7, p. 509–517. 1997a.

GOBBETTI, M.; BURZIGOTTI, R.; SMACCHI, E.; CORSETTI, A.; DE ANGELIS, M. Microbiology and biochemistry of Gorgonzola cheese during ripening. **International Dairy Journal**, v. 7, p. 519–529. 1997b.

KALIT, S.; LUKAC HAVRANEK, J.; KAPS, M.; PERKO, B.; CUBRIC CURIK, V. Proteolysis and the optimal ripening time of Tounj cheese. **International Dairy Journal**, v. 15, p. 619–624. 2005.

KUBIS, I.; SOUSA, M. J.; WALSH-O'GRADY, D.; KELLY, A. L.; MCSWEENEY, P. L. H. Proteolysis in Cheddar-type cheese made from goats milk. **Milchwissenschaft**, v. 56, p. 557–560. 2001.

6. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) pelo apoio financeiro ao trabalho.

7. ANEXOS

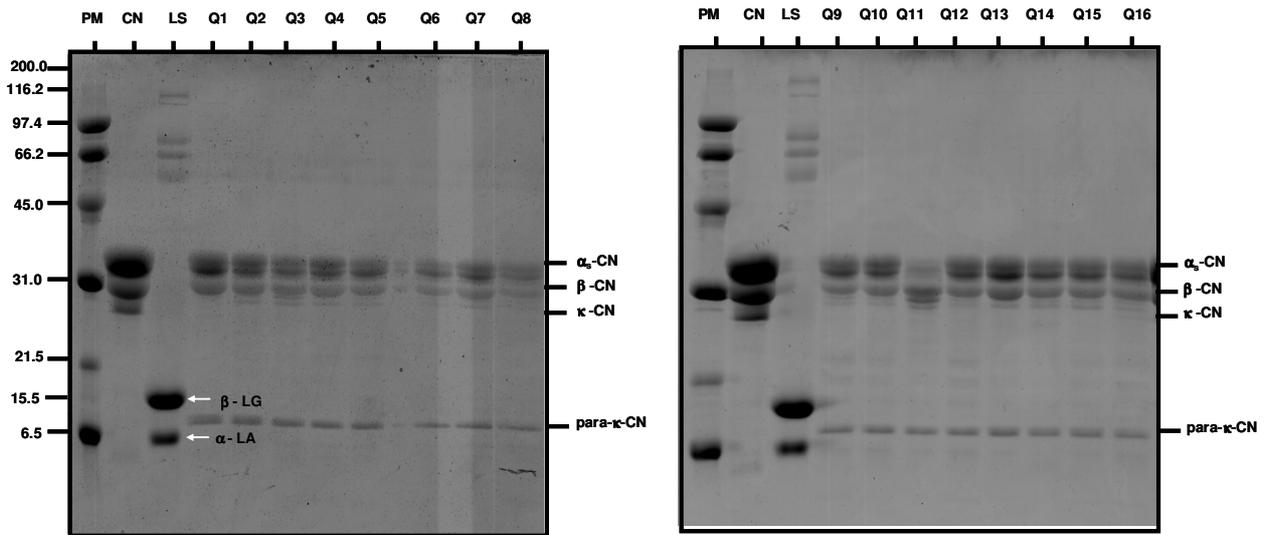


Figure 1. Caracterização eletroforética (PAGE-SDS) de queijos coalho produzidos na região de Jaguaribe-CE. Déposito de 40 μ L de proteínas (2 mg.mL⁻¹). Revelação com azul de Coomassie. PM: Peso molecular padrão. CN: caseinato de sódio bovino; LS: Lactosoro; α -La: α -Lactoalbumina; β -Lg: β -lactoglobulina; α -CN: α -caseína; β -CN: β -caseína; Q1 a Q16: Amostras 1 a 16 dos queijos. Coleta 1.

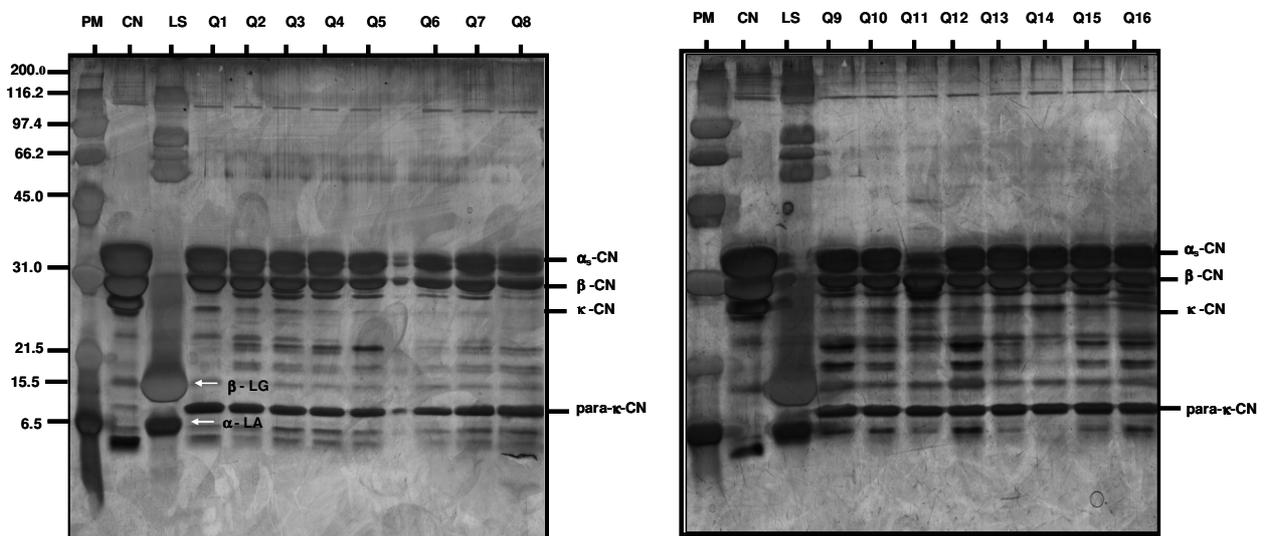


Figura 2: Caracterização eletroforética (PAGE-SDS) de queijos de coalho produzidos na região de Jaguaribe-CE. Déposito de 40 μ L de proteínas (2 mg.mL⁻¹). Revelação com prata. PM: Peso molecular padrão. CN: caseinato de sódio bovino; LS: Lactosoro; α -La: α -Lactoalbumina; β -Lg: β -lactoglobulina; α -CN: α -caseína; β -CN: β -caseína; Q1 a Q16: Amostras 1 a 16 dos queijos. Coleta 1.

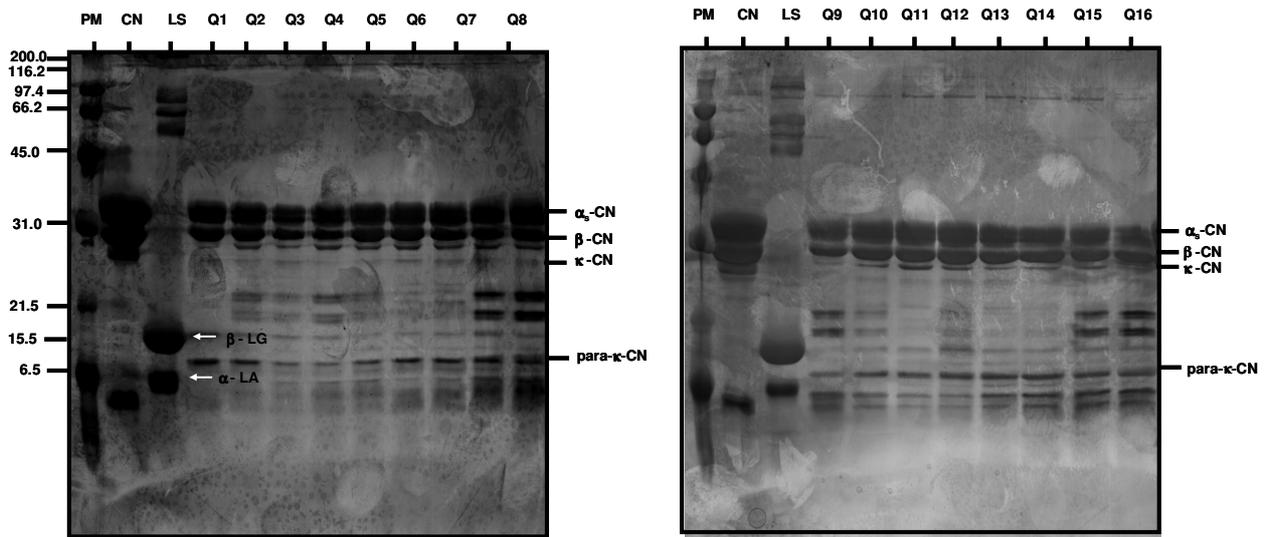


Figura 3: Caracterização eletroforética (PAGE-SDS) de queijos coalho produzidos na região de Jaguaribe-CE. Déposito de 40 μ L de proteínas (2 mg.mL⁻¹). Revelação com prata. PM: Peso molecular padrão. CN: caseinato de sódio bovino; LS: Lactosoro; α -La: α -Lactoalbumina; β -Lg: β -lactoglobulina; α s-CN: α s-caseína; β -CN: β -caseína; Q1 a Q16: Amostras 1 a 16 dos queijos. Coleta 2.

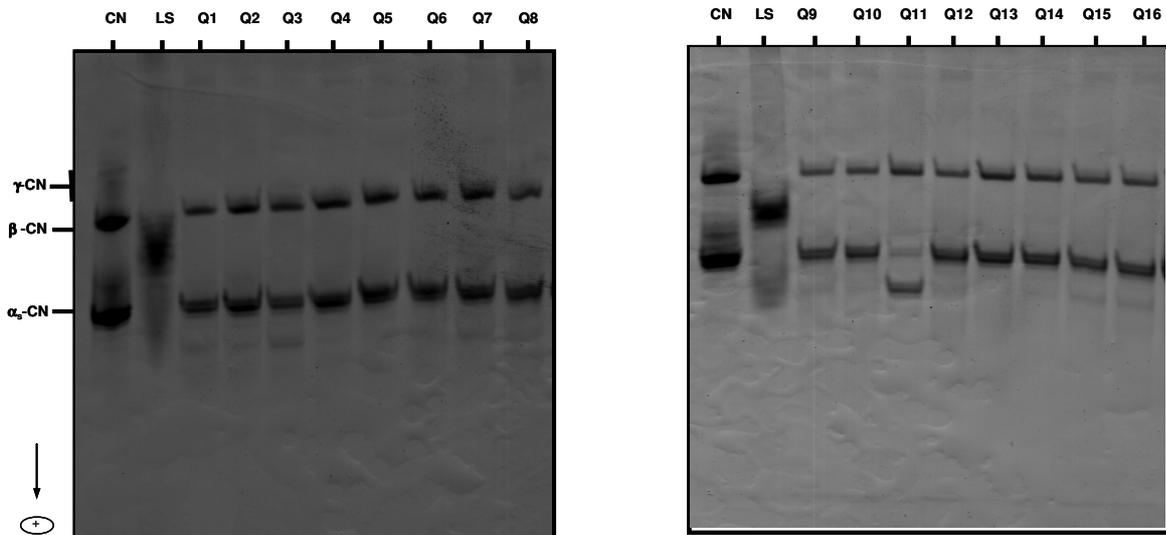


Figura 4: Caracterização eletroforética (PAGE-Uéia) de queijos coalho produzidos na região de Jaguaribe-CE. Deposito de 40 μ L de proteínas (2 mg.mL⁻¹). Revelação com azul de Coomassie. CN: caseinato de sódio bovino; LS: Lactosoro; α s-CN: α s-caseína; β -CN: β -caseína; γ -caseína: gama-caseína; Q1 a Q16: Amostras 1 a 16 dos queijos. Coleta 1.