

PADRÃO ELETROFORÉTICO DAS PROTEÍNAS DE MÚSCULOS ESQUELÉTICOS DE SUÍNOS

Sílvia M. Alves Gomes Dierckx, Paulo Roberto Rodrigues Ramos e Jehud Bortolozzi

Departamento de Produção e Exploração Animal, FMVZ—UNESP e Departamento de Física e Biofísica, IB – UNESP, Botucatu, SP; Departamento de Ciências, FC—UNESP, Bauru, SP

RESUMO

Procedeu-se a eletroforese em gel de poliacrilamida (PAGE) a 10% de amostras das proteínas totais dos músculos Obturador externo e Longo do pescoço, de suínos Landrace, Large White, Duroc e mestiços, objetivando verificar a existência de um padrão eletroforético específico, que permitiria o controle de possíveis fraudes na comercialização de carnes e produtos industrializados a base de carne suína. Os resultados obtidos confirmaram que realmente haveria um padrão específico para as proteínas totais de músculos esqueléticos de suínos que não foi alterado nos diferentes grupos genéticos e nos dois músculos estudados.

PALAVRAS CHAVES: Músculos, PAGE, Proteínas totais, Suínos

ABSTRACT

Electrophoresis pattern of the proteins of swine skeletal muscles

Electrophoresis of total protein samples from the external obturator and long muscle of the neck of Landrace, Large White, Duroc purebred and crossbred swine was conducted in polyacrilamide gel (PAGE) at 10%, to verify the existence of a specific eletroforesis pattern that might serve to control possible frauds in meats and processed pork products. The results confirmed the existence of a specific electrophoresis pattern for total proteins of skeletal muscle of swine, that is not altered in the various genetic groups and in the two muscles studied.

KEY WORDS: Muscle, PAGE, Pigs, Total proteins

Introdução

Ramdass e Misra (1974) concluíram que a eletroforese em disco era eficiente para diferenciar a carne de diferentes espécies.

Heinert *et al.* (1988), ao submeter músculos de bovinos, suínos e coelhos a electroferese em gel de poliacrilamida (PAGE), verificaram que era de fácil reprodutividade e que havia um padrão electrofético específico para as espécies que não era alterado por idade, sexo e sistema de criação.

Boles *et al.* (1992) prepararam amostras do músculo *Longissimus* de suínos de duas maneiras: na primeira, a maceração com uma solução com baixa força iônica permitiu a extração das proteínas sarcoplasmáticas (WM); na outra, com duas diferentes soluções com alta força iônica a das proteínas miofibrilares e citoesqueléticas (MF). Submetaram ambas à PAGE com SDS e concluíram que os poços com amostras WM apresentaram maior número de bandas que os poços com amostras MF,

porque, nas amostras totais WM estavam presentes em as proteínas MF.

O presente trabalho teve como objetivo a determinação dos padrões eletroforéticos das proteínas nativas dos músculos *Obturator externi* e *Longus colli* de suínos das raças Landrace, Large White, Duroc e Mestiços.

Materiais e Métodos

O estudo foi realizado com 20 suínos (*Suis scrofa domesticus*), com peso ao redor de 90 kg, oriundos da região de Botucatu-SP, sendo 5 Landrace, 5 Large White, 5 Duroc e 5 mestiços, de ambos os sexos abatidos em frigorífico da região.

Coletaram-se amostras (0.5 × 0.5 cm) dos músculos, *Obturator externi* (músculo obturador externo) e o *Longus colli* (músculo longo do pescoço), conforme Figuras 1 e 2, que foram mantidas em nitrogênio líquido até a análise.

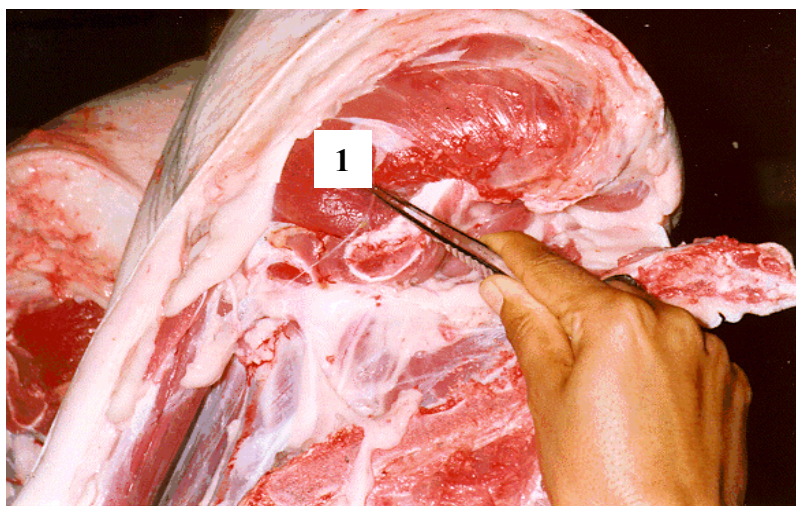


Figura 1. Músculo 1 *Obturator externi* (Obturador externo) de suíno

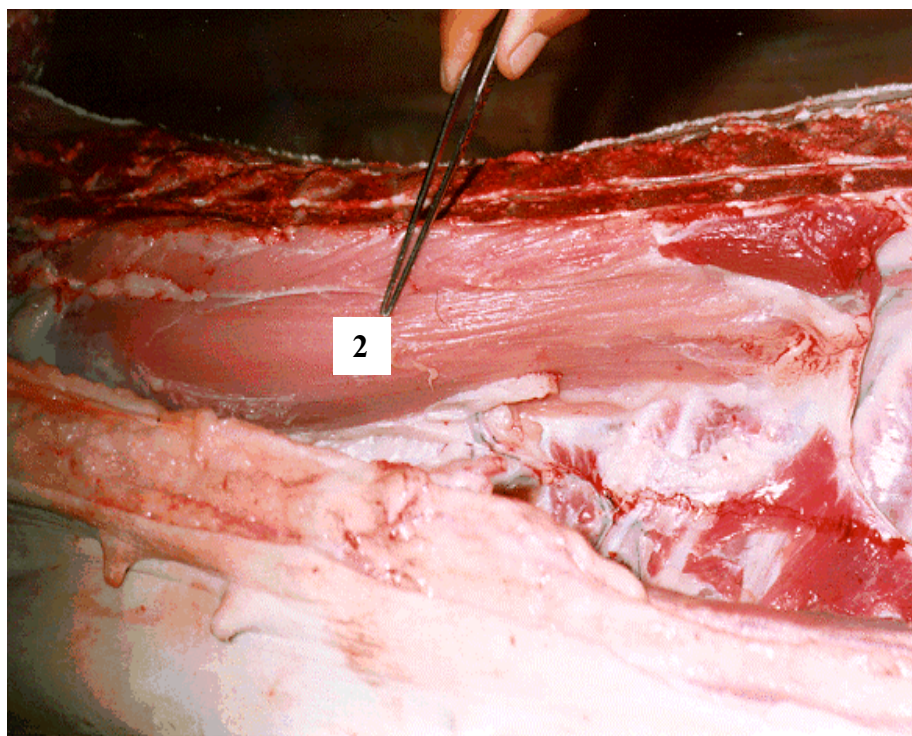


Figura 2. Músculo 2 *Longus colli* (Longo do pescoço) de suíno

O processo de maceração seguiu a descrição de Lemos e Moraes (1992). O teor de proteína foi determinado pela técnica do biureto, sendo aplicada no gel o equivalente a 300 µg de proteína/poço.

Para a separação das proteínas foi utilizada a técnica de PAGE 10%, descrita por Rickwood e Hames (1990), mantendo-se inicialmente 100 V, até que o indicador passasse para o gel de separação, quando se dobrou a voltagem para 200 V. A eletroforese foi considerada encerrada meia hora após o indicador ter saído do gel. A corrida foi realizada a 4°C.

Após a corrida eletroforética o gel foi imerso no Corante Negro de Amido, por cinco minutos e em seguida na solução descorante do Comassie, até evidenciação das bandas, (Tabela 1).

Interpretação dos padrões eletroforéticos

As placas desidratadas, foram pesquisadas no analisador Imagemaster VDS- Pharmacia, possibilitando o cálculo das razões de migração eletroforéticas (Rf) e o teor de proteína das diferentes bandas.

Atribui-se valor 1 logo após a última banda, por esta ser comum a todas as amostras e assim os valores de Rf das diferentes bandas, variaram entre zero e um. Tal procedimento foi adotado para equacionar os diferentes géis.

Para a dosagem de proteínas o programa calcula o teor protéico de cada banda.

Tabela 1. Soluções corante e descorante utilizadas nas técnicas eletroforéticas

Soluções	Componentes das soluções ¹	
Corante Negro de Amido	Amido Black	0.1 g
	Metanol	30 ml
	Ácido Acético	7 ml
	Água	63 ml
Descorante Comassie	Água, Metanol e Ac. Acético (5:5:2)	

¹Diluir 1:10 antes do uso

Análise estatística

Procedeu-se à análise de variância dos dados de mobilidade relativa e dosagem das proteínas nativas, pelo método dos quadrados mínimos, obtendo como causas de variação: raça e músculo para as variáveis estudadas. Utilizaram-se os procedimentos descritos por Harvey (1987).

Resultados e Discussão

Pela observação dos géis verifica-se o aparecimento de 17 bandas (B1, B2, ..., B17). O padrão observado na maioria das amostras apresentou 13 bandas (Figuras 3 e 4).

Estes resultados são diferentes dos obtidos por Lima (1996) que ao pesquisar bovinos Nelore e mestiços, encontrou um padrão de 5 bandas.

O grande número de bandas encontrado pode ser justificado pelo método de extração da proteína, onde foram obtidas proteínas totais (sarcoplasmáticas, miofibrilares/citoesqueléticas) o que segundo Boles *et al.* (1992) e Huff-Lonergan *et al.* (1996) promovem o aparecimento de maior número de bandas, quando comparado a amostras de proteínas miofibrilares.

Mobilidade eletroforética (Rf)

Através da análise dos géis e do cálculo das razões de migração eletroforéticas, pode-se verificar que as bandas B1, B8, B11, B15, B16 e B17, estiveram presentes em todos os grupos genéticos e em ambos os músculos. Não houve efeito ($P > 0.05$) de músculo e grupo genético nestas bandas.

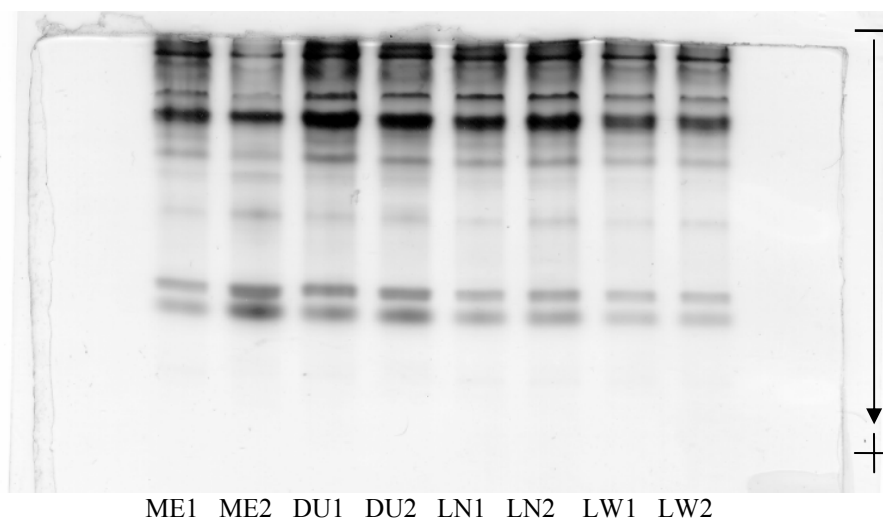


Figura 3. Padrão eletroforético dos músculos Obturador externo (1) e Longo do pescoço (2) de suínos Landrace (LN), Large White (LW), Duroc (DU) e Mestiços (ME)

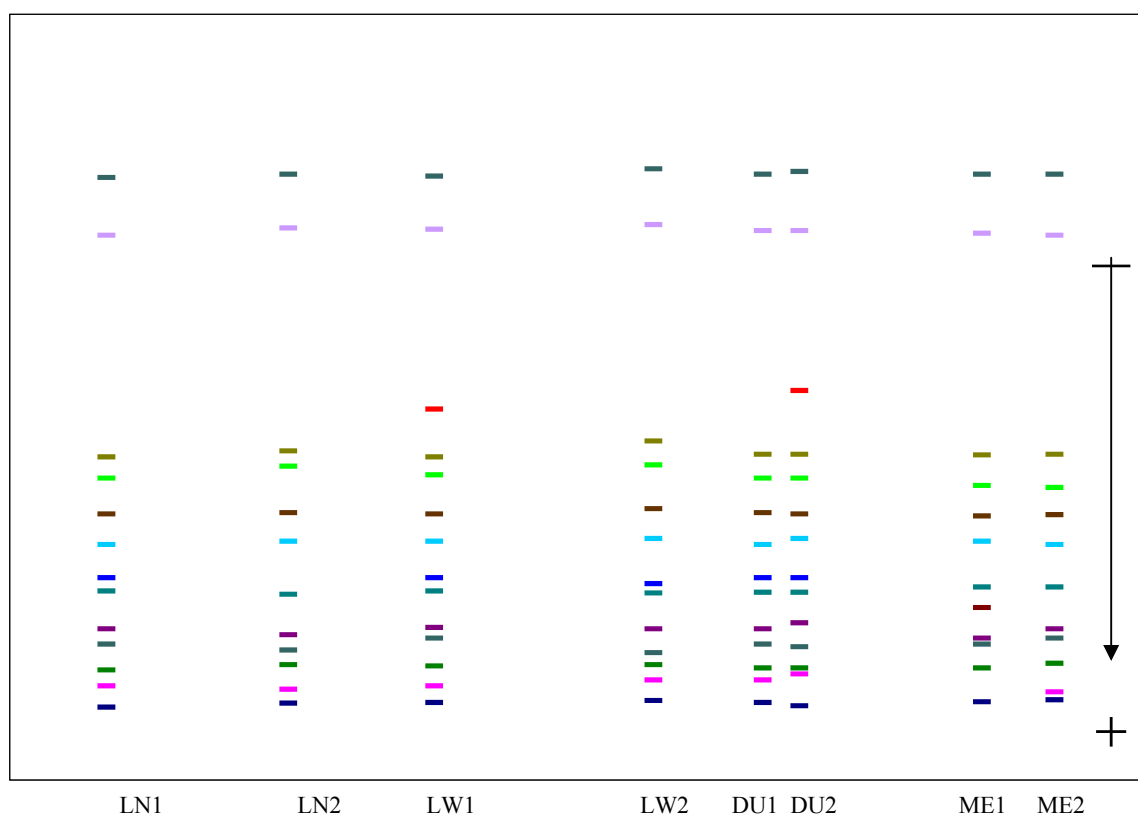


Figura 4. Eletroferograma dos padrões eletroforéticos dos músculos Obturador externo (1) e Longo do pescoço (2) de suínos Landrace (LN), Large White (LW), Duroc (DU) e Mestiços (ME).

Apenas para a banda B17 houve tendência de efeito ($P < 0.10$) dos grupos genéticos sobre o Rf. Efeito de raças sobre as Rf de algumas bandas foi encontrado por Lima (1996), em bovinos da raça Nelore e mestiços. O modelo explicou muito pouco (8.26%) da variação ocorrida na banda 17.

As médias de RF dos grupos genéticos para Banda B17 (Tabela 2), não diferiram ($P > 0.05$), confirmando Heinert *et al.* (1988), Ramdass e Misra (1974) e Lemos e Moraes (1992).

Tabela 2. Médias estimadas das razões de migração eletroforéticas das proteínas de suínos Landrace (LN), Large White (LW), Duroc (DU) e Mestiços (ME).

Grupos genéticos	Número	Rf B17
LN	10	0.972 ^A
LW	10	0.965 ^A
DU	10	0.974 ^A
ME	10	0.970 ^A

Médias seguidas de letras iguais, não diferem entre si ($P > 0.05$), pelo teste de Tukey.

Dosagem protéica das bandas de proteínas totais

A dosagem das proteínas totais de todas as bandas mostrou-se não ser influenciada por músculos, grupos genéticos e interação músculos X grupos genéticos, com exceção dos grupos genéticos para as bandas B15 ($P < 0.01$) e B17 ($P < 0.07$), tendo o modelo adotado

explicado 51.90 e 67.96% da variação ocorrida nas bandas 15 e 17, respectivamente.

Quando as médias das bandas B15 e B17 obtidos pelos diferentes grupos genéticos foram comparados (Tabela 3), apenas a banda 15 apresentou diferença ($P < 0.05$) entre os animais Large White e Mestiços.

Tabela 3. Médias das dosagens das proteínas para suínos Landrace (LN), Large White (LW), Duroc (DU) e Mestiços (ME)

Grupos genéticos	Número	B15	B17
LN	10	50.234 ^{AB}	25.918 ^A
LW	10	26.603 ^B	57.872 ^A
DU	10	59.944 ^{AB}	61.226 ^A
ME	10	66.612 ^A	43.089 ^A

Médias seguidas de letras iguais, não diferem entre si ($P > 0.05$), pelo teste de Tukey.

Conclusões

Existe um padrão eletroforético de proteínas totais musculares espécie-específico. Este padrão não sofre alteração dos efeitos de músculos e de grupos genéticos.

Literatura Citada

- Boles, J. A., F. C. Parrish, Jr., T. Huiatt, and R. M. Robson. 1992. Effect of porcine stress syndrome on the solubility and degradation of myofibrillar/cytoskeletal proteins. *J. Anim. Sci.* 70:454.
- Harvey, W. R. 1987. User's Guide for LSMLMW-PC-1 version: Mixed Model Least-Squares and Maximum Likelihood Computer Program. Ohio State University. Columbus, OH. 51 p.
- Heinert, H. H., H. Hrehme, H. J. Baumann, and A. E. Klinger. 1988. Animal species determination of native muscle meat by means of standard gel electrophoresis (PAGE). Testing and reproducibility of examination results. *Fleischwirtschaft* 68:386.
- Huff-Lonergan, E., T. Mitsuhashi, F. C. Parrish, Jr., and R. M. Robson. 1996. Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis and Western clotting comparisons of purified myofibrils and whole muscle preparations for evaluating titin and nebulin in postmortem bovine muscle. *J. Anim. Sci.* 74:779.
- Lemos, A. L. S. C. e M. A. C. MORAES. 1992. Identificação eletroforética de peixes de água doce (Família Pimelodidae) de valor comercial. *Alim. Nutr.* 4:57.
- Lima, A. C. C. O. 1996. Polimorfismo genético-bioquímico de proteínas musculares e características histo-enzimológicas de músculos bovinos da raça Nelore e Mestiço. Tese Mestrado. IB, Botucatu-SP. 80 p.
- Ramdass, P. and D. S. Misra. 1974. Differentiation of meats of different species of animals by polyacrylamide-gel electrophoresis. *Indian J. Anim. Sci.* 44:844.
- Rickwood, D. and B. D. Hames. 1990. *Gel Electrophoresis of Proteins: A Practical Approach* 2nd ed. Oxford Univ. Press. New York.