



Perfil protéico do músculo *Longissimus dorsi* de cordeiros terminados com diferentes níveis protéicos¹

Luiz Gustavo Yokota², Gilmara Bruschi Santos³, Matheus Cavaletti⁴, Jeison Solano Spim⁵, Paulo Roberto Rodrigues Ramos⁶

¹Parte do trabalho de Iniciação Científica do primeiro autor.

²Zootecnista formado pela Escola Superior de Agronomia de Paraguaçu Paulista. e-mail: lyokota@hotmail.com

³Professora Doutora do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agronomia de Paraguaçu Paulista - Orientadora. e-mail: gilmara@funge.com.br

⁴Aluno do curso de Zootecnia da Escola Superior de Agronomia de Paraguaçu Paulista

⁵Aluno do curso de Mestrado em Zootecnia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP, Botucatu.

⁶Professor Doutor do Departamento de Biofísica da UNESP de Botucatu

Resumo: Com o objetivo de identificar e caracterizar a composição das proteínas miofibrilares (miosina, actina e α -actina) do músculo *Longissimus dorsi* refrigerados e sem refrigeração de cordeiros submetidos à diferentes níveis de proteína bruta na ração (12, 15, 18 e 21%), foi conduzido um trabalho com 24 amostras do referido músculo que foram ainda divididas em duas partes, assim de cada amostra utilizou-se um pedaço que foi resfriado por 24 horas e outro por 7 dias da carne de Ovinos submetidos a diferentes níveis de proteína na dieta. Não foram encontradas diferenças significativas quanto ao conteúdo das maiores proteínas do tecido muscular de ovinos, relacionados ao nível de proteína da ração nem quanto aos tempos de resfriamento.

Palavras-chave: Cordeiros, *Longissimus dorsi*, Proteína Bruta, Proteínas miofibrilares (miosina, actina e α -actina), Refrigeração

Protein profile of the muscle *Longissimus dorsi* from lambs finished with different protein levels

Abstract: With the aim of identifying and characterizing the composition of the Myofibrillar proteins (myosin, actin and α – actin) of refrigerated and no refrigerated muscle *Longissimus dorsi* of lambs submitted to different levels of raw protein in the ration (12, 15, 18 and 21%), this work was ran with 24 samples of the referred muscle were removed and these were still divided in two parts, so, it was used a piece from each sample which was freezed for 24 hours and another one for seven days from the ovine meat submitted to different level of protein in the diets. No significative difference about the content of the biggest proteins of the ovine muscle tissue related to the level of ration protein nor to the refrigeration time were found.

Keywords: Ovine, *Longissimus dorsi*, Raw Protein, Miofibrilares, Proteins (Myosin, Actin and α – actin), refrigeration

Introdução

A ovinocultura vem se consolidando no agronegócio brasileiro. A produção de cortes diferenciados é uma alternativa para pequenos e médios produtores para o aumento da renda na propriedade (Ojima, 2006). O fator considerado muito importante no retorno à compra da carne é a maciez. Esta depende do conteúdo de proteínas do músculo, do estado e interação entre diferentes componentes musculares, e também do tecido conjuntivo e miofibrilas. No *Longissimus dorsi* a maior degradação das proteínas miofibrilares é responsável pela melhora na maciez da carne (Koohmaraie, 2002). Tem sido demonstrado que algumas proteínas componentes da miofibrila mudam durante o *post-mortem* dos animais, incluindo a tinina, nebulina e a actina. Muitos métodos têm sido empregados atualmente para se determinar o grau de proteólise sofrida pelas proteínas miofibrilares. Um dos métodos considerados mais eficientes nesse sentido é a eletroforese. Uma variante do método tradicional é a eletroforese Dodecil Sulfato de Sódio (SDS-PAGE) que amplamente utilizada para análise qualitativa de proteínas e suas subunidades e tem demonstrado ser um método eficaz para a determinação do peso molecular. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi identificar e caracterizar as mudanças na composição das proteínas miofibrilares (miosina, actina, α -actina) do músculo *Longissimus dorsi* refrigerado e sem refrigeração de cordeiros submetidos à dietas com diferentes níveis de proteína bruta.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido na Escola Superior de Agronomia de Paraguaçu Paulista e no Laboratório de Biofísica da Unesp de Botucatu. Foram utilizadas 24 amostras do músculo *Longissimus dorsi* de cordeiros Dorper X Santa Inês, alimentados com dietas contendo 12, 15, 18 e 21% de proteína bruta (PB). Após o abate dos animais as carcaças foram resfriadas em câmaras frigoríficas por 24 horas e então desossadas e coletadas as amostras do músculo *Longissimus dorsi* na região da 12^a a 13^a vértebra. Uma amostra foi imediatamente levada ao processo de eletroforese enquanto a outra permaneceu resfriada a aproximadamente 4° C para degradação das estruturas das miofibrilas. Para o procedimento de eletroforese cada amostra foi pesada em balança de precisão, processadas e em seguida centrifugadas a 10.000 rotações por minuto (rpm) durante 10 minutos em centrífuga refrigerada à 0°C. O sobrenadante foi retirado e acondicionado em microtubos para posterior diluição e utilização na corrida eletroforética. Cada amostra foi diluída com solução tampão (glicerol, SDS e β -mercaptoetanol) na proporção de 1:1. em microtubos contendo 30 μ l de amostra e 30 μ l da solução tampão que em seguida foram levados para aquecimento em banho-maria para desnaturação das proteínas. O gel de poliacrilamida (SDS_PAGE) foi preparado a uma concentração de 7,5% e aplicado em cada uma das placas para polimerização. Cada amostra foi aplicada nos poços formados no gel que foi submetido à corrente elétrica por duas horas. Após a corrida os géis foram retirados das placas e imersos em solução corante de comassie blue (solução 0,1%), por 24 horas. Em seguida foram colocadas em solução descorante (metanol 30%, ácido acético 10% e H₂O 60%), para revelação das bandas das proteínas durante 24 horas. Cada gel foi retirado da solução descorante e colocado num analisador de imagens específico. Foram analisadas as mobilidades relativas de acordo com os pesos moleculares, que identificam as frações separadas. Foi realizada a análise de variância para experimentos inteiramente casualizados em esquema fatorial 2 x 4 para verificação do efeito do tempo de maturação e das concentrações protéicas na dieta sobre as mudanças no músculo *Longissimus dorsi* por meio do procedimento GLM do SAS .

Resultados e Discussão

A tabela 1 mostra o conteúdo de três grandes frações protéicas do músculos *Longissimus dorsi* de ovinos.

Tabela 1. Médias de proteínas microfibrilares (actina, α -actina, miosina) de acordo com os níveis protéicos da dieta.

Proteínas	% PB na ração	Tempo de Resfriamento		
		1 dia	7 dias	médias
Cadeia Pesada da Miosina	12	32,5	31,9	32,2 A
	15	27,1	27,5	27,3 A
	18	26,5	28,1	27,3 A
	21	24,5	25,1	24,8 A
	Médias		27,5 a	28,15 a
α -actina	12	4,9	6,1	5,5 A
	15	5,2	3,6	4,4 A
	18	4,1	2,9	3,5 A
	21	5,4	4,9	5,2 A
	Médias		4,9 a	4,4 a
Actina	12	11,3	10,9	11,1 A
	15	12,5	11,1	11,2 A
	18	9,87	11,5	10,7 A
	21	12,3	11,9	12,1 A
	Médias		11,5 a	11,4 a

Médias seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente quanto aos níveis de fornecimento de proteína na ração e letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente quanto aos tempos de resfriamento ($P>0,05$) pelo teste Tukey.

As bandas relativas à actina e miosina parecem inalteradas após a maturação. Estes dados concordam com a observação de Hopkins & Thompson (2001) que trabalhando com ovinos, relataram ausência de proteólise dessas proteínas em condições resfriadas e maior degradação em temperaturas próximas a 37°C, principalmente em pH ácido. Não foi observada degradação da proteína α -actina. A extração em água empregada neste experimento permitiu evidenciar modificações em outras proteínas que podem estar envolvidas no processo de maturação da carne.

A figura 1 mostra as frações peptídicas das amostras do músculo *Longissimus dorsi* de ovinos submetidos a diferentes níveis de fornecimento de proteína na ração e resfriadas por 24 horas ou 7 dias.

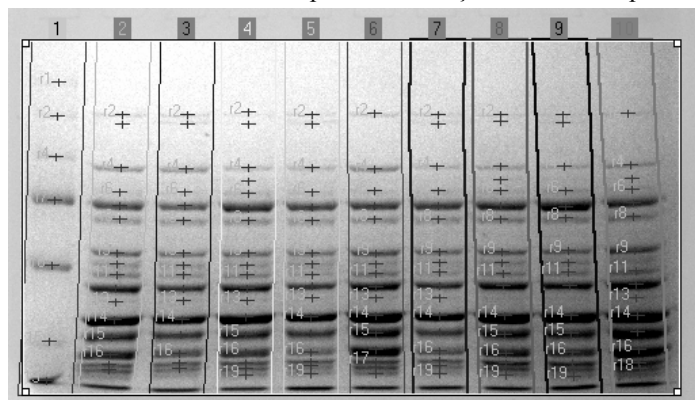


Figura 1. Eletoferograma das proteínas do músculo *Longissimus dorsi* de ovinos de dois diferentes grupos genéticos, refrigerados ou não refrigerados, submetidos à eletroforese (13%) denaturante na presença de SDS^{1,2,3}.

- 1- padrão de peso molecular; 2 – 12% de proteína bruta na ração, carne resfriada por 24 horas; 3 – 12% de proteína bruta na ração, carne resfriada por sete dias; 4 – 15% de proteína bruta na ração, carne resfriada por 24 horas; 5 – 15% de proteína bruta na ração, carne resfriada por 7 dias; 6 – 18% de proteína bruta na ração, carne resfriada por 24 horas; 7 – 21% de proteína bruta na ração, carne resfriada por 24 horas; 8 – 21% de proteína bruta na ração, carne resfriada por 7 dias;
- 2- r1, r2, r3, r4 até r19 são todas as bandas observadas no gel, representando as frações peptídicas do músculo *Longissimus dorsi* de ovinos.
- 3- R7 – posição estimada para o aparecimento da cadeia pesada da miosina (MHC); R9 – posição estimada para o aparecimento da α -actina; R 14 –posição estimada para o aparecimento da actina.

Cada um dos géis empregados neste estudo continha a representação de todos os níveis protéicos fornecidos na ração e para cada um dos níveis o tempo de resfriamento da amostra (24 horas ou 7 dias). Tal disposição foi usada para se evitar possíveis diferenças no padrão de migração das bandas, devido a diferenças no gel empregado, criando um efeito de gel que não era interessante neste estudo. Foi feita análise considerando cada gel como um bloco, mas não havia efeito de gel. Apesar da ausência de diferenças significativas no conteúdo das frações protéicas do músculo estudado foi feito um pool de cada porcentagem de fornecimento de proteína na ração que demonstrou diferentes degradações devido aos tempos de resfriamento.

Conclusões

Não houve diferença significativa nas proteínas miofibrilares (miosina, actina e α -actina) da carne de cordeiros submetidos a diferentes níveis de proteína bruta na dieta. Há mudança de comportamento das bandas quando resfriadas por sete dias, apesar da ausência de diferenças significativas quanto ao conteúdo de proteína para as maiores proteínas do músculo ovino, em relação àquelas resfriadas por apenas 24 horas. Mais estudos devem ser realizados no sentido de se identificar as proteínas envolvidas na estrutura do músculo e sua possível degradação durante o processo de resfriamento *post-mortem*.

Literatura citada

- HOPKINS, D.L.; THOMPSON, J.M. The relationship between tenderness, proteolysis, muscle contraction and dissociation of actomyosin. **Meat Science**, v.57, p.1-12, 2001.
- KOOHMARAIE, M .; KENT, M. P.; SHAKELFORD, S. D., et al. Meat tenderness and muscle growth: is there any relationship? **Meat Science**, v. 62, p. 345-352, 2002.
- OJIMA, A. L. R. O. Caprinos e ovinos em São Paulo atraem argentinos. 2005. Disponível em: <<http://www.ica.sp.gov.br>>. Acesso em 20 de out., 2007.