

ELETROFORETOGRAMA DAS PROTEÍNAS DO SORO LÁCTEO DE VACAS CANCHIM PRIMÍPARAS E PLURÍPARAS

Thaís Gomes Rocha¹, Camila Franciosi¹, Ricardo Perecin Nociti², Paulo César da Silva³,
Alexandre Amstalden Moraes Sampaio⁴, José Jurandir Fagliari⁵

1. Pós-graduandas da FCAV/UNESP/Campus de Jaboticabal - SP

2. Graduando da FCAV/UNESP/Campus de Jaboticabal - SP

3. Laboratório de Apoio à Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, FCAV/UNESP/Campus de Jaboticabal – SP

4. Docente do Departamento de Zootecnia da FCAV/UNESP/Campus de Jaboticabal - SP

5. Docente do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da FCAV/UNESP. Via de Acesso Prof. Paulo D. Castellane, s/n. CEP: 14884-900 – Jaboticabal, SP, Brasil
E-mail: fagliari@fcav.unesp.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVES: Bovino, proteínas do colostro, proteínas do leite, SDS-PAGE.

ABSTRACT

ELECTROPHORETOGRAM OF WHEY PROTEINS FROM PRIMIPAROUS AND PLURIPAROUS CANCHIM COWS

In order to determine whey protein concentrations in healthy primiparous and pluriparous Canchim cows, colostrum and milk samples were collected just after parturition and after 1, 7, 15, and 30 days of lactation. SDS-PAGE electrophoresis was applied. Levels of serum IgA, albumin, IgG, lactoglobulin, and lactalbumin were influenced by lactation number. A marked decrease in protein concentrations were also noted from colostrum to mature milk.

KEYWORDS: Bovine, colostrum proteins, milk protein, SDS-PAGE.

INTRODUÇÃO

As imunoglobulinas e outros fatores presentes no colostro conferem ao bezerro neonato a proteção imunológica necessária para a sobrevivência nos primeiros meses de vida (GEORGIEV, 2008). Além do papel imunológico, as proteínas e peptídeos do leite têm grande importância para a indústria de laticínios, em razão de seu valor tecnológico e nutricional. Aproximadamente 80% das proteínas do leite de vaca consistem de caseína, o restante são proteínas do soro lácteo, proteínas séricas, enzimas, além de outras proteínas e peptídeos em menor concentração (FARRELL et al., 2004).

Alguns fatores podem influenciar a concentração de proteínas e peptídeos no leite, sendo os mais importantes a raça, o estado de saúde, o estágio da lactação, o sistema de alimentação, as mudanças de estação do ano e a frequência e o sistema de ordenha (GOPAL & GILL, 2000).

A eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS) é uma técnica importante para a separação de proteínas do leite, pois permite a identificação de várias frações protéicas, bem como sua quantificação (PATEL et al., 2007).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar comparativamente a cinética das proteínas do soro lácteo de vacas sadias primíparas ou pluríparas da raça Canchim, no primeiro mês de lactação, e verificar a influência do número de partos na dinâmica das alterações que ocorrem nesta fase da lactação, em vacas de corte.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletados 50 mL de secreções lácteas de 22 vacas da raça Canchim, 11 primíparas (Grupo 1) e 11 pluríparas (Grupo 2), logo após o parto (M0) e com 1 (M1), 7 (M2), 15 (M3) e 30 (M4) dias de lactação. Para obtenção do soro lácteo foi empregada a técnica descrita por SANT'ANA & BIRGEL (2003).

O fracionamento protéico em SDS-PAGE foi realizado pela técnica proposta por LAEMMLI (1970). As concentrações das proteínas foram determinadas em densitômetro computadorizado (Shimadzu CS9301, Tóquio, Japão); como referências foram utilizadas solução marcadora com diversos pesos moleculares e as proteínas purificadas lactoferrina, β -lactoglobulina e α -lactoalbumina bovinas (Sigma, St. Louis, MO, USA).

Para o estudo estatístico empregou-se teste com parcelas subdivididas (*split-plot*) com medidas repetidas no tempo. As estatísticas F calculadas foram consideradas significativas quando $P < 0,05$, e os contrastes entre pares de médias foram comparados pelo teste de Tukey.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises são apresentados na forma de médias e desvios padrão.

Notou-se redução gradativa no teor de proteína total ao longo do estudo, não havendo diferença entre os grupos em nenhum momento. Valores superiores foram observados no M0 (14.183 ± 3.863 mg/dL, no Grupo 1, e 13.055 ± 3.589 mg/dL, no Grupo 2), teores intermediários foram verificados no M1 (4.963 ± 3.733 mg/dL e 3.234 ± 2.323 mg/dL, nos Grupos 1 e 2, respectivamente) e valores inferiores no M4 (997 ± 162 mg/dL, no Grupo 1, e 1.065 ± 122 mg/dL, no Grupo 2).

O teor de imunoglobulina A diferiu entre os grupos no dia do parto (545 ± 262 mg/dL, no Grupo 1, e 782 ± 388 mg/dL, no Grupo 2); ademais, não foram constatadas diferenças entre os grupos. Valores intermediários foram observados no M1 ($140\pm 83,1$ mg/dl e 197 ± 306 mg/dL, nos Grupos 1 e 2, respectivamente) e valores inferiores no M4 ($4,86\pm 11,0$ mg/dL, no Grupo 1, e $2,92\pm 4,05$ mg/dL, no Grupo 2). KEHOE et al. (2007), empregando a técnica de imunodifusão radial, verificaram no colostro de vacas Holandesas, teores de IgA muito inferiores aos verificados no presente estudo (166 mg/dL), e atribuíram este resultado às características particulares do colostro e à técnica utilizada.

A concentração de lactoferrina não diferiu entre os grupos; valores superiores foram verificados no M0 (335 ± 145 mg/dL, no Grupo 1, e 360 ± 150 mg/dL, no Grupo 2), teores intermediários no M1 ($92,5\pm 125$ mg/dl e $64,7\pm 87,3$ mg/dL, nos Grupos 1 e 2, respectivamente) e valores inferiores no M4 ($14,9\pm 17,3$ mg/dL, no Grupo 1, e $10,3\pm 4,76$ mg/dL, no Grupo 2).

O teor de lactoferrina colostrada obtido foi muito superior ao verificado por KEHOE et al. (2007) no colostro de vacas da raça Holandesa (82 ± 54 mg/dL). Não foi verificada diferença significativa entre os valores de vacas primíparas e pluríparas, corroborando com os achados de TSUJI et al. (1990).

Notou-se diferença significativa no teor de albumina no M0 entre os grupos, com valores superiores no Grupo 2 (321 ± 128 mg/dL) e inferiores no Grupo 1 ($227\pm 85,9$ mg/dL). Nos demais momentos, não houve diferença entre os grupos e, observou-se redução na concentração desta proteína no decorrer do estudo. Valores intermediários foram observados no M1 ($76,6\pm 92,3$ mg/dL, no Grupo 1, e $74,7\pm 64,1$ mg/dL, no Grupo 2) e teores inferiores no M3 ($9,76\pm 11,9$ mg/dL e $16,3\pm 7,47$ mg/dL, nos Grupos 1 e 2, respectivamente). SANT'ANA (2004) constatou menor teor de albumina de origem plasmática no soro lácteo de vacas de segunda e terceira lactações, em comparação com aquele de vacas com uma e com quatro ou mais lactações.

A concentração de imunoglobulina G de cadeia pesada foi significativamente superior no M0 (3.416 ± 1.244 mg/dL e 3.740 ± 1.066 mg/dl, nos Grupos 1 e 2, respectivamente). Nos momentos subsequentes foram observados valores intermediários no M1 (842 ± 486 mg/dL, no Grupo 1, e 760 ± 810 mg/dL, no Grupo 2) e valores inferiores no M4 ($6,86\pm 11,1$ mg/dL, no Grupo 1, e $12,9\pm 10,2$ mg/dL, no Grupo 2).

O teor de IgG de cadeia leve foi superior e diferiu significativamente entre os grupos no M0 (4.222 ± 1.490 mg/dL, no Grupo 1, e 3.669 ± 1.237 mg/dL, no Grupo 2). Nos Grupos 1 e 2 notaram-se valores intermediários no M1 (867 ± 886 mg/dL e 507 ± 671 mg/dL,

respectivamente) e valores inferiores no M4 ($11,8 \pm 22,2$ mg/dL e $6,07 \pm 10,1$ mg/dL, respectivamente). As concentrações da maioria dos componentes do leite, especialmente das imunoglobulinas, são superiores nas primeiras porções do colostro, diminuindo rapidamente até atingirem valores mínimos no leite maduro (GEORGIEV, 2008).

Os teores de IgG verificados em ambos os grupos são muito inferiores aos constatados por SOARES FILHO et al. (2001) no colostro de vacas mestiças holandesa-zebu, enquanto KEHOE et al., (2007) verificaram concentração de 3.490 ± 1.220 mg de IgG₁/dL no colostro de vacas da raça Holandesa, teor inferior ao observado no presente estudo. Em razão do maior vigor ao nascimento dos bezerras e do maior teor de imunoglobulinas no colostro de vacas de corte, a ingestão de menores volumes de colostro possibilita o fornecimento de quantidade adequada de imunoglobulinas requeridas para a transferência de imunidade passiva (SOARES FILHO et al., 1991).

A concentração de β -lactoglobulina foi superior no M0 (5.081 ± 2.535 mg/dL, no Grupo 1, e 3.643 ± 1.096 mg/dL, no Grupo 2) e M1 (2.626 ± 2.708 mg/dL, no Grupo 1, e 1.300 ± 363 mg/dL, no Grupo 2), diferindo significativamente entre os grupos; ademais, não se constatou diferença entre vacas primíparas e pluríparas. Nas vacas do Grupo 1 foram observados valores intermediários no M1 (2.626 ± 2.708 mg/dL) e valores inferiores no M4 (713 ± 238 mg/dL). No Grupo 2 não foi verificada diferença significativa entre os momentos a partir do M1; os teores desta proteína variaram de 1.300 ± 363 mg/dL (M1) a $796 \pm 98,2$ mg/dL (M4). SANT'ANA (2004) verificou maiores concentrações de β -lactoglobulina no soro lácteo de vacas de primeira a terceira crias, quando comparadas às vacas com quatro ou mais lactações.

Os teores de α -lactoalbumina diferiram significativamente entre os grupos no M0 ($146 \pm 71,0$ mg/dL e $266 \pm 75,1$ mg/dL nos Grupos 1 e 2, respectivamente), no M3 ($145 \pm 44,1$ mg/dL, no Grupo 1, e $215 \pm 32,7$ mg/dL, no Grupo 2) e no M4 ($119 \pm 48,5$ mg/dL e $181 \pm 56,6$ mg/dL nos Grupos 1 e 2, respectivamente). Notaram-se diferenças significativas entre os momentos em ambos os grupos. No Grupo 1, o maior valor foi observado no M1 (247 ± 129 mg/dL); nos demais momentos os teores variaram de $119 \pm 48,5$ mg/dL (M4) a $168 \pm 49,4$ (M2). No Grupo 2, foram verificados maiores valores no M1 ($277 \pm 53,2$ mg/dL), valores intermediários no M2 ($225 \pm 40,3$ mg/dL) e no M3 ($215 \pm 32,7$ mg/dL) e menor valor no M4 ($181 \pm 56,6$ mg/dL). A α -lactoalbumina constitui importante fonte protéica para o neonato e regula a produção de lactose no leite. A redução no seu teor próximo ao final da lactação já foi relatada (FARRELL et al., 2004). Diferente dos achados do presente estudo, SANT'ANA

(2004) verificou maiores concentrações de α -lactoalbumina em vacas primíparas, quando comparadas àquelas de vacas de segunda ou terceira lactações.

CONCLUSÃO

O número de parições influenciou significativamente os teores de IgA, albumina de origem plasmática, IgG, β -lactoglobulina e de α -lactoalbumina. Foram constatadas alterações marcantes entre as concentrações destas proteínas no colostro e no leite maduro.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPESP, pela concessão de auxílio para a realização deste projeto.

REFERÊNCIAS

FARRELL JR., H. M.; JIMENEZ-FLORES, R.; BLECK, G. T.; BROWN, E. M.; BUTLER, J. E.; CREAMER, L. K.; HICKS, C. L.; HOLLAR, C. M.; NG-KWAI-HANG, K. F.; SWAISGOOD, H. E. Nomenclature of the proteins of cows' milk—Sixth revision. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, p. 1641–1674, 2004.

GOPAL, P. K.; GILL, H. S. Oligosaccharides and glycoconjugates in bovine milk and colostrum. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 84, p. 69-74, 2000.

GEORGIEV, I. P. Differences in chemical composition between cow colostrum and milk. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**, Stara Zagora, v. 11, n. 1, p. 3-12, 2008.

KEHOE, S. I.; JAYARAO, B. M.; HEINRICHS, A. J. A survey of bovine colostrum composition and colostrum management practices on Pennsylvania dairy farms. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, p. 4108-4116, 2007.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T₄. **Nature**, London, v. 227, p. 680-685, 1970.

PATEL, H. A., ANEMA, S. G., HOLROYD, S. E., SINGH, H., CREAMER, L. K. Methods to determine denaturation and aggregation of proteins in low-, medium- and high-heat skim milk powders. **Lait**, Les Ulis, v. 87, p. 251–268, 2007.

SANT'ANA, V. A. C. **Proteinograma do leite de vacas: padrões e variabilidade**. Tese (doutorado). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004. 161p.

SANT'ANA, V. A. C.; BIRGEL, E. H. Obtenção de soro lácteo para fracionamento das proteínas por eletroforese em gel de poliacrilamida. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE BUIATRIA, 9. 2003, Salvador. **Anais...**, Salvador, Bahia, Brasil – 2-5 de setembro de 2003.

SOARES FILHO, P. M.; BELÉM, P. A. D.; RIBEIRO JÚNIOR, J. I.; SALCEDO, J. H. P. Concentrações de imunoglobulinas g em colostro de vacas mestiças Holandês-zebu. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 6, p. 1033-1037, 2001.

TSUJI, S.; HIRATA, Y.; MUKAI, F. Comparison of different cattle lactoferrin content in colostrum between breeds. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 73, p. 125-128, 1990.