

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRO-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE APOIO A PESQUISA
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

MARCADORES GENÉTICOS APLICADOS AO MELHORAMENTO
DE REBANHOS LEITEIROS

Bolsista: Joyce Mara Lopes Santos, FAPEAM

PARINTINS – AM

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRO-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE APOIO A PESQUISA
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE BOLSAS DE INICIAÇÃO
CIENTÍFICA

RELATÓRIO FINAL

PIB-A/0035/2014

MARCADORES GENÉTICOS APLICADOS AO MELHORAMENTO
DE REBANHOS LEITEIROS

Bolsista: Joyce Mara Lopes Santos, FAPEAM

Orientadora: Prof^a Dr^a Soraya Farias de Andrade Freitas

PARINTINS – AM

2015

Todos os direitos deste relatório são reservados à Universidade Federal do Amazonas, ao Núcleo de Estudo e Pesquisa em Ciências Agrárias e aos seus autores. Parte deste relatório só poderá ser reproduzida para fins acadêmicos ou científicos.

Esta pesquisa, financiada pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas - FAPEAM, através do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da Universidade Federal do Amazonas, foi desenvolvida pelo Núcleo de Estudo e Pesquisa em Ciências Agrárias.

Resumo

O leite é um alimento de grande relevância na alimentação humana. Dentre os diversos setores da indústria alimentícia, o de laticínios destaca-se entre um dos quatro com maior faturamento no Brasil. O leite apresenta um perfil de proteínas, devido às suas excelentes propriedades nutritivas que atendem à maioria das exigências fisiológicas do ser humano. Devido ao elevado valor nutritivo, são utilizadas como ingredientes em vários produtos alimentares e, individualmente, podem exibir vários produtos alimentares e funções benéficas ao organismo, função imunológica, a diminuição de doenças. Assim, pode se destacar do ponto de vista nutritivo e industrial, as proteínas do leite de mais ampla aplicação e valor econômico são as caseínas e as proteínas do soro, porém as caseínas são fundamentais para produção de queijos, iogurtes e outros derivados do leite. Portanto, esse trabalho tem o objetivo de obter a caseína do leite.

Sumário

1. Introdução.....	4
2. Revisão de literatura.....	5
2.1 Caseína.....	5
2.2 Efeito etanol e Temperatura.....	6
2.3 Hidrólise Enzimática.....	6
2.4 Genética e Nutrição Animal.....	6
3. Material e métodos.....	7
3.1 Revisão de Literatura.....	7
3.2 Capacitações.....	7
3.3 Defesas de Seminário.....	8
3.4 Provas de Proficiência em artigos nacionais e internacionais.....	8
3.5 Obtenção das Amostras.....	8
4. Resultados e discussão.....	8
5. Conclusões.....	9
6. Referências.....	9
7. Cronograma de Atividades.....	11

1. Introdução

O consumo do leite e seus derivados aumentaram nos últimos anos, devido fornecer nutrientes de alto valor biológico como: proteínas, lipídios, glicídios, minerais e vitaminas, estes utilizados na alimentação humana e grande relevância para indústria de laticínios. (PEREGRINE & CARRASQUEIRA, 2008). Dentre os diversos setores da indústria alimentícia, o de laticínios destaca-se entre um dos quatro com maior faturamento no Brasil. Dentro desse contexto, o sistema produção de leite envolve processos tecnológicos mais sofisticados, o que vem crescendo na produtividade (CARVALHO, 2002).

O leite bovino é um alimento complexo composto por 87,5% de água, 12,5% de sólidos totais, 4,8% de lactose, 3,5% de gordura, 3,2% de proteína, 0,8% de minerais e 0,2% de outros componentes (vitaminas, enzimas, hormônios, etc. (WALSTRA, 1999).

Pode ser caracterizado como uma suspensão coloidal de micelas de caseína ligadas ao cálcio (Ca) e fósforo (P), emulsão de glóbulos de gordura e vitaminas lipossolúveis, solução de lactose, proteínas solúveis em água, sais minerais e vitaminas hidrossolúveis (SANTOS & FONSECA, 2007). O leite e seus derivados, como queijos e iogurtes, são os principais componentes da dieta humana em muitas partes do mundo.

O leite de vaca divide-se em caseínas e proteínas do soro. Logo, as frações caseínas consiste em: (Alfa-S1, Alfa-S2, Beta e Kappa), enquanto as proteínas do soro consiste em: (α -Lactoglobulina e β -Lactoglobulina). (GIGANTE e COSTA, 2008).

As proteínas do leite apresentam a vantagem por serem proteínas, devido às suas excelentes propriedades nutritivas que atendem à maioria das exigências fisiológicas do ser humano. Devido ao elevado valor nutritivo, são utilizadas como ingredientes em vários produtos alimentares e, individualmente, podem exibir vários produtos alimentares e funções benéficas ao organismo, como aumento da absorção de cálcio e da função imunológica, a diminuição de doenças (YE, 2011).

Tendo em vista o perfil proteico, essas frações pode variar em função da raça, idade, números de partos da alimentação fornecida e das condições ambientais (HARAGUCHI, ABREU e DE PAULA, 2006)

Contudo, o leite de origem bovina contém, da mesma forma que os leites das demais espécies, a fração das caseínas mais abundante em relação às proteínas do soro (LACROIX et al., 2006). . Do ponto de vista nutritivo e industrial, as proteínas do leite de mais ampla aplicação e valor econômico são as caseínas e as proteínas do soro (SGARBIERI, 1996).

Portanto, esse trabalho tem o objetivo de obter a caseína do leite.

2. Revisão de literatura

2.1 Caseína

A caseína é uma proteína classificada como fosfoproteína encontrada no leite de vaca. Consistem de quatro frações principais: α 1-, α 2-, β - e κ -caseína, que são fundamentais para produção de queijos, iogurtes e outros derivados do leite.

Todas as caseínas são sintetizadas na glândula mamária, enquanto algumas proteínas do soro (p.ex., imunoglobulinas, transferrina e soroalbumina) chegam ao leite procedentes do plasma. Proteínas do soro como a α -lactoalbumina, β - lactoglobulina e lactoferrina também têm origem na glândula mamária) (ORDÓÑEZ et al., 2005)

Dentro desse contexto, as caseínas possuem em sua estrutura micelar região hidrofóbicas e hidrofílicas, com a capacidade de expor a região hidrofóbica o que torna insolúvel a água. (MARTIN et al., 2002). Na presença de íons de Ca^{2+} , estabilizam a estrutura da caseína, no entanto, baixa concentração precipita a caseína α 1 e α 2 se torna mais sensível à precipitação pelo cálcio, entretanto a κ -caseína se torna estável, importante função na estabilidade da estrutura micelar, enquanto a β - caseína é mais sensível a altos níveis de íons de cálcio (WALSTRA, 1999).

A proteína do leite é importante para o processamento industrial, devido alto teor de caseína no leite. Entretanto, essas caseínas podem ser separadas das proteínas do soro do leite da qual fazem parte. No entanto, são dois processos principais: precipitação no pH isoelétrico (pH 4,6; 20°C) e coagulação pela ação da enzima quimosina - pepsina (coalho), para fabricação de queijos. (Wong DWS, Camirant WM, Pavlath AE. Structures and functionalities of milk proteins. Crit Rev Food Sci Nutr. 1996; 36(8):807-44.)

2.2 Efeito etanol e Temperatura

Agregação micelar das partículas pode ser alterada pelos fatores, por exemplo, pH, temperatura e força iônica, que afeta a estabilidade das micelas. (YE et al.,2013).

O etanol é um fator que afeta a estabilidade e funcionalidade das micelas da caseína. De acordo com (Trejo e Harte, 2010), a concentração elevada de etanol (> 30%) combinada com elevada temperatura (> 40 ° C) dissocia as micelas de caseína para interação hidrofóbica.

No entanto, YE et al. (2013) na ausência de etanol ou a uma baixa concentração de etanol (<10%), micelas de caseína agregam seu ponto isoelétrico independentemente de outros fatores, incluindo temperatura, concentração de cálcio.

Outras variantes como a hidrólise enzimática da caseína, tratamento térmico, excesso de íons cálcio, altas contagens de células somáticas e adição de etanol também provocam a instabilidade da caseína, mesmo na ausência de acidez (O'CONNELL *et al.*, 2006).

2.3 Hidrólise Enzimática

O processo de hidrólise enzimática tem se destacado na melhoria das propriedades funcionais das proteínas, como solubilidade, poder emulsificante, textura, tendo grande aplicabilidade em vários produtos alimentícios. (KEOHANE et. al.,1985, GRIMBLE *et al.*, 1986; RÉRAT, 1993; BOZA *et al.*, 2000).

A hidrólise enzimática da caseína e alguns fatores como o tratamento térmico, excesso de íons cálcio, altas contagens de células somáticas e adição de etanol também provocam a instabilidade da caseína, mesmo na ausência de acidez (O'CONNELL *et al.*, 2006).

As proteases têm sido utilizadas para a modificação de proteínas, como na hidrólise de vegetais como a soja, para a solubilização de concentrados de peixes, amaciamento de carnes, hidrólise de caseína, na melhoria da textura de queijos, aumentando assim, significativamente, a qualidade e o valor nutritivo dos produtos (CHEFTEL et al., 1989)

2.4 Genética e Nutrição Animal

(SANTOS ET AL, 2001; SANTOS ET AL, 2001) O sistema de manejo nutricional e o potencial genético em bovinos são responsáveis pela

composição e mudanças nas concentrações de sólidos no leite. No entanto, animais com potencial produtivo e raça há certo manejo nutricional como: consumo de matéria seca, qualidade e digestibilidade da fibra, assim como, na dieta energia e proteína. Ao ser fornecido adequadamente evita redução nas produções.

Considerando um fator importante, o ambiente, este pode influenciar diretamente no manejo nutricional e mascarando o potencial produtivo do animal, reduzindo a digestibilidade da fibra, o desbalanceamento de energia, proteína, minerais e conseqüentemente o teor dos sólidos (RORATO et al, 2000)

O leite e sua composição variam conforme a raça, nutrição, estágio de lactação, saúde, sanidade da glândula mamária fatores fisiológicos da lactação, programa de manejo alimentar e a seleção genética, uma vez, essa importante para a determinação de genes para caracteres de interesse na economia em bovino e para indústria. Entretanto, a ação dos genes, ambiente e nutrição são fatores importantes para a produção quantitativa e qualitativa das variações fenotípicas em bovinos (MEDRANO e AGUILARCORDOVA, 1990).

A caseína é o componente principal da fabricação de queijos, logo para maior aumento de teor de proteína no leite é através da seleção de touros melhoradores com genes desejáveis independente da raça leiteira. (caseína no leite) No que se refere genética em termo molecular, os marcadores moleculares podem ser utilizados para selecionar genes de interesse, isso permite demonstrar potencial para características de produção. (LIMA, 2005, p. 23).

3. Material e métodos

3.1 Revisão de Literatura

Para cada projeto foi direcionado uma revisão, sendo de grande importância para a aquisição de maiores conhecimentos sobre as técnicas utilizadas na metodologia a ser empregada e também sobre assuntos básicos que enriquecem o conhecimento, proporcionando um melhor aprendizado que é proposto pelo projeto.

3.2 Capacitações

Capacitações são realizadas semanalmente desde o início dos estudos do projeto, com temas básicos relacionados ao projeto, a fim de agregar

conhecimentos necessários para a realização da pesquisa e têm como responsável a orientadora do projeto. Os métodos utilizados englobam aulas teóricas, debates sobre assuntos pertinentes, e futuramente aulas práticas.

3.3 Defesas de Seminário

As defesas são realizadas semanalmente por cada membro da equipe, e tem nos proporcionado melhores estímulos para uma melhor desenvoltura no decorrer de cada apresentação. Os temas são diversificados, e abrangem assuntos básicos os mais complexos.

3.4 Provas de Proficiência em artigos nacionais e internacionais

Tem feito parte das capacitações, a avaliação por meio de provas escritas de assuntos relacionados a pesquisas nacionais e internacionais. Artigos são repassados com antecedência, podendo eles estar em língua portuguesa ou inglesa. Tal metodologia nos proporciona um melhor embasamento sobre os temas que tem suma importância na pesquisa e a capacidade em desenvolver conhecimento sobre palavras estrangeiras que serão fundamentais em nossa caminhada profissional, com o objetivo de dominar a língua inglesa para a interpretação de textos.

3.5 Obtenção das Amostras

Para procedimento da extração da caseína foram adicionados foram aquecidos 150 mL de água destilada a 38°C e em seguida adicionou-se 50 mL de leite. A essa solução adicionou-se ácido acético (aproximadamente 0,7mL) gota a gota até o aparecimento de um precipitado abundante. A solução descansou por aproximadamente 20 minutos para a sedimentação da proteína, e a seguir o sobrenadante foi separado por papel filtro no funil e posterior foram retiradas a caseína e pesadas.

4. Resultados e discussão

Ao realizar o processo de extração da caseína, apresentou-se o teor de 14.7568g a partir de 52 amostras em média.

5. Conclusões

Diante do que foi exposto, vale ressaltar que ainda não houve o término do trabalho, para que possa ter resultados mais precisos. Portanto, foram essas as atividades desenvolvidas.

6. Referências

CARVALHO, G. R. A Indústria de laticínios no Brasil: passado, presente e futuro. Embrapa. Circular Técnica, 102. Juiz de Fora, 2002. 11 p.

CHEFTEL J. C., CUQ J. L.; LORIENTE, D. Proteínas alimentarias bioquímicas propiedades funcionales-valor nutricional-modificaciones químicas. Acibia, Zaragoza, 1989, 345p.

GIGANTE, M.L; COSTA, M.R. A Nova Pecuária Leiteira Brasileira. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 3., 2008, Recife. **Anais...** Recife: CCS, 2008. p.85-95.

HARAGUCHI, F. K.; ABREU, W. C.; DE PAULA, H. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. Revista de Nutrição, v. 19, n. 4, p. 479-88, 2006.

KEOHANE, P.P.; GRIMBLE, G.K.; BROWN, B.; SPILLER, R. C. Influence of protein composition and hydrolysis method on intestinal absorption of protein in man. *Gut.*, v. 26, p .907 - 913, 1985.

KILARA, A. Enzyme-modified protein foods ingredients. **Process Biochemistry. Watford**, v.20, n.5, p.149-157, 1985.

LACROIX, M.; BOS, C.; LÉONIL, J., AIRINEI, G.; LUENGO, C.; DARÉ, S.; BENAMOUZIG, R.; FOUILLET, H.; FAUQUANT, J.; TOMÉ, D.; GAUDICHON, C. Compared with casein or total milk protein, digestion of milk soluble proteins is too rapid to sustain the anabolic postprandial amino acid requirement. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 84, p. 1070 –9, 2006.

LIMA, Y.V.R de; Variantes genéticas de kappa-caseína em vacas leiteiras e características físico-químicas e de composição do leite. Pirassunuga: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootécnia da Universidade de São Paulo, 2005

MARTIN, P.; SZYMANOWSKA, M.; ZWIERZCHOWSKI, L.; LEROUX, C. The impact of genetic polymorphisms on the protein composition of ruminant's milks. **Reproduction Nutrition Development**, v. 42, p. 433-459, 2002.

MENDRANO, J.F. e AGUILARCORDOVA, E. Genotyping of bovine kappa-caseína loci following DNA-sequence amplification. *Bio-Technology*, v.8, n.2, p.144-146.1990.

ORDOÑEZ, M. I. C.; ÁLVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLÓN, F. D. G. F.; PERALES, L. H.; CORTECERO, M. D. S. Características gerais do leite e componentes fundamentais. In: _____ Tecnologia de alimentos. Tradução: Maria Murad. Porto Alegre/RS/Brasil: Artmed, v. 2, p. 13-40, 2005.

PELEGRINI, D. H. G.; CARRASQUEIRA, R. L. Aproveitamento do soro do leite no enriquecimento nutricional de bebidas. **Brazilian Journal Food Technology**, v.62, n.6, p.1004-11, 2008.

RORATO, P.R.N., VAN VLECK, D., VERNEQUE, R.D., et al Genotype-environment interaction on milk production in Holstein herds in Brasil. 2. Use of an animal model. **Revista Brasileira De Zootecnia-Brazilian Journal Of Animal Science**, v. 29, n.6, p.2030-2035.200.

SANTOS,F.L., LANA, RD.,SILVA, M.T.C., ET AL Milk production and composition in dairy cows receiving diets with levels and sources of lipids supplementation. **Revista Brasileira De Zootecnia-Brazilian Journal Of Animal Science**, v.30, n.4, p. 1376-1380.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite. 1. Ed. Barueri: Manole, 2007.

SGARBIERI, V.C. Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações, modificações. São Paulo: Editora-Livraria Varela, 1996. 517 p., p.139-157.

YE, A. Functional properties of milk protein concentrates: Emulsifying properties, adsorption and stability of emulsions. **International Dairy Journal**, v. 21, p. 14–20, 2011.

Ye.R an Harte F. **Casein maps: Effect of ethanol, pH, temperature, and CaCl₂ on the particle size of reconstituted casein micelles**

WALSTRA, P. Casein sub-micelles: do they exist? **International Dairy Journal**, v. 9, p. 189-192, 1999.

Wong DWS, Camirant WM, Pavlath AE. Structures and functionalities of milk proteins. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 1996; 36(8):807-44.

7. Cronograma de Atividades

Nº	Descrição	Ago 2014	Set	Out	Nov	Dez	Jan 2015	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul
1	Revisão de literatura	x	X	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
2	Seleção das propriedades	x	x										
3	Coleta de sangue			x	x								
4	Extração do DNA				x	x	x	x					
5	Otimização da Reação em Cadeia da Polimerase						x	x	x	x			
6	Sequenciamento das amostras							x	x	x	x		
6	Análise estatística											x	
7	- Elaboração do Resumo e Relatório Final (atividade obrigatória) - Preparação da Apresentação Final para o Congresso (atividade obrigatória)												X