

Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública

Rev. Ciên. Vet. Saúde Públ., v. 4, n. 1, p. 061-072, 2017

Proteômica de clara e gema de ovos – revisão

(Proteomics of albumen and egg yolk – review)

CERVI, Renato Clini^{1*}; CAVALLIERI, Ângelo Luiz Fazani²; CAFÉ, Marcos Barcellos³;

BAILÃO, Alexandre Mello⁴; SOARES, Célia Maria de Almeida⁵; ANDRADE, Maria

Auxiliadora⁶

¹Doutorando em Ciência Animal, Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás – UFG – GOIÂNIA/GOIÁS - BRASIL renatoclinicervi@gmail.com

²Professor Doutor, Centro de Ciências da Natureza, Universidade Federal São Carlos - UFSCar, Campus Lagoa do Sino - BURI/SÃO PAULO – BRASIL angelo.cavallieri@ufscar.br

³Professor Doutor, Departamento de Zootecnia, Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás – UFG – GOIÂNIA/GOIÁS – BRASIL mcafe@ufg.br

⁴Professor Doutor, Departamento de Biologia Molecular, Instituto de Ciências Biológicas – ICB II, Universidade Federal de Goiás - UFG – GOIÂNIA/GOIÁS – BRASIL alexandre.bailao@gmail.com

⁵Professora Doutora, Departamento de Biologia Molecular, Instituto de Ciências Biológicas – ICB II, Universidade Federal de Goiás - UFG – GOIÂNIA/GOIÁS – BRASIL cmasoares@gmail.com

⁶Professora Doutora, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás – UFG – GOIÂNIA/GOIÁS – BRASIL maa@ufg.br

*Autor para correspondência: renatoclinicervi@gmail.com

Artigo enviado em: 06/11/2016, aceito para publicação em 23/03/2017

DOI: <http://dx.doi.org/10.4025/revcivet.v4i1.34138>

RESUMO

Os ovos de diferentes espécies de aves possuem em sua composição proteínas de alto valor biológico. Muitas das proteínas localizadas neste complexo fluido permanecem ainda não caracterizadas. Novas proteínas podem ser identificadas apresentando características antimicrobianas, proteínas de transporte, ou fatores de crescimento. Essa investigação exige métodos específicos para separação e caracterização. A proteômica vêm sendo utilizada com êxito para a caracterização das proteínas dos ovos. Através desses métodos proteômicos, aplicados aos estudos de clara e gema de ovos, foi possível identificar novas proteínas até então não relatadas em ovos, como a OVAY, a OVAX que apresenta propriedades antibacterianas e TENP que possui forte homologia com proteínas da família BPI (proteína de aumento de permeabilidade bactericida). Através de revisão de literatura, objetivou-se realizar o levantamento das técnicas utilizadas para caracterização das proteínas, conhecimento das proteínas e isoformas identificadas em clara e gema de ovos através de análises proteômicas.

Palavras-chave: aves, propriedades funcionais, proteína, bactericida, isoformas

ABSTRACT

Bird eggs of different species have high biological value in their composition. Many of the proteins located in this fluid complex remain yet uncharacterized. New proteins can be identified with antimicrobial characteristics, transport proteins, or growth factors. This research requires specific methods for separation and characterization. Proteomics have been used successfully for the characterization of egg proteins. Through these proteomic methods, applied to egg white and egg yolk studies, it was possible to identify new proteins not previously reported in eggs, such as OVAY, OVAX which shows antibacterial properties and TENP which has strong homology with proteins of the BPI family of bactericidal permeability). This review of the literature, was aimed to review the techniques used to characterize proteins, knowledge of proteins and isoforms identified in egg white and yolk through proteomic analysis.

Key-words: birds, functional properties, protein, bactericidal, isoforms

INTRODUÇÃO

O ovo é um produto resultante da transformação biológica feita pela ave, que transforma seus recursos alimentares em um produto de alto valor biológico, com a finalidade de prover todas as necessidades para desenvolvimento de um embrião. Esta transformação depende da espécie, de fatores biológicos relacionados à fisiologia das aves, do aporte nutricional, de condições ambientais e práticas de manejo (BERTENCHINI, 2006). Devido aos seus componentes, alta qualidade nutricional e propriedades funcionais, a clara e a gema dos ovos são utilizadas pela indústria de alimentos em produtos processados para o consumo humano (MINE E KOVACS-NOLAN, 2004).

As proteínas da clara de ovo são de alta qualidade quando comparadas a outras fontes proteicas. Suas proteínas isomorficas e seus hidrolisados também possuem várias bioatividades, tais como, fatores antimicrobianos, imunomoduladores, anticancerígenos, anti-hipertensivo e atividades antitrombóticas (MINE E KOVACS-NOLAN, 2004; YANG *et al.*, 2007). A gema de ovo contém uma quantidade significativa de vitaminas e minerais, além de proteínas e lipídeos (ANTON, 2006).

Diversas espécies de aves produzem ovos com potencial de consumo humano. Os aspectos químicos qualitativos e a poli funcionalidade dos ovos dependem da genética utilizada para a produção e dos sistemas alimentares aos quais essas aves estão submetidas, determinando a sua composição química, o teor de proteína, ácidos graxos, minerais e vitaminas (RÊGO *et al.*, 2012).

A maioria dos avanços na indústria de ovos tem envolvido a modificação da composição do ovo, através de regimes de alimentação de galinhas. A composição nutricional da gema pode

ser alterada para obtenção de ovos enriquecidos com ácidos graxos ômega-3, níveis de selênio aumentado, níveis de vitamina reforçada (vitamina E) e níveis de carotenoides aprimorados (SURAI E SPARKS, 2001).

No entanto, a diferença na composição de proteínas de clara de ovo, entre diferentes aves podem variar principalmente de acordo com a espécie que os produziu e não relacionada aos fatores nutricionais (DEEMING, 1997).

O conhecimento da composição química e propriedades físico-químicas de clara e gema de ovos são necessários para avaliar as propriedades funcionais e biológicas atribuídas aos componentes específicos de ovo. Muitas das proteínas localizadas neste complexo fluido biológico permanecem ainda não caracterizadas, se não desconhecidas.

Apenas 13 proteínas são geralmente referenciadas em ovos, algumas das quais não são completamente caracterizadas (LI-CHAN E NAKAI, 1989). Alguns trabalhos publicados apresentam outras proteínas em menor porcentagem de ocorrência (BERK, 1976; LINDEN E LORIENT, 1996; SGARBIERI, 1996). Alguns destes componentes podem ser interessantes não apenas para aplicações alimentares, como também para utilização na área da saúde. Além das proteínas já conhecidas e utilizadas comercialmente como a lisozima e a ovotransferrina, novas proteínas podem ser identificadas apresentando características antimicrobianas ou antivirais, proteínas de transporte, ou fatores de crescimento. Essa investigação exige métodos específicos para separação e caracterização (RABILLOUD E CHARMONT, 2000; SANTONI *et al.*, 2000).

Há um grande potencial para a identificação das proteínas da clara e gema de ovo relacionados às suas propriedades funcionais e antibacterianas (STANDELMAN E COTTERILL,

1997), através de técnicas de alta resolução para análise proteômica como eletroforese e espectrometria de massa atômica, que vêm sendo utilizadas com êxito para a caracterização do albúmen e proteínas dos ovos (GONG *et al.*, 2010).

Devido à necessidade de conhecimento e compreensão das metodologias mais apuradas para identificação proteica da composição de ovos, objetivou-se realizar o levantamento através de revisão de literatura, das técnicas atualmente utilizadas para caracterização das proteínas, conhecimento das proteínas constituintes e isoformas identificadas em clara e gema de ovos.

REVISÃO DE LITERATURA

Caracterização proteica

A clara de ovo constitui uma importante matéria-prima para a indústria de alimentos devido às suas propriedades tecnológicas, relacionadas à formação de emulsões, de espuma e de gelificação. A estrutura e funcionalidade do ovo e sua constituição em proteínas têm sido estudados em várias condições físico-químicas (LI-CHAN E NAKAI, 1989; KATO E GAONKAR, 1997).

O valor nutricional de produtos confeccionados com ovos pode ser aumentado com a extração de moléculas biologicamente ativas, e especialmente as proteínas. Este fluido biológico apresenta algumas dificuldades para análises. As proteínas têm muitas massas moleculares diferentes, entre 12,7kDa a 95 kDa, como também diferentes valores de ponto isoelétrico (pI) (LI-CHAN E NAKAI, 1989; RABILLOUD E CHARMONT, 2000).

As concentrações variam entre as proteínas. A ovalbumina presente na clara representa mais de 50% dos totais, tornando assim a detecção da ocorrência de proteínas em menor quantidade muito mais complicada. A gema

consiste de misturas de lipídios e proteínas, em ligações não covalentes sob a forma de grandes complexos de lipoproteína (BURLEY E VAHEDRA, 1989).

Podem também existir diferentes formas polimórficas (ou variantes genéticas) que muitas vezes se diferem apenas por um ou dois aminoácidos na sequência primária. Muitas proteínas, uma vez sintetizadas, são submetidas a um grande número de modificações pós-tradução, como por exemplo: glicosilação, fosforilação. A ovalbumina, a ovotransferrina também denominada conalbumina e a ovomucóide foram identificadas e relatadas a partir de clara de ovo em sequências diferentes (isoformas) a partir de uma única molécula precursora (MINE *et al.*, 1990; HUANG E RICHARDS, 1997; HERBERT *et al.*, 2001; KIM E CHOI, 2014).

O armazenamento pode interferir significativamente nos constituintes proteicos dos ovos. O efeito da temperatura foi relatado como um fator mais importante que o tempo de armazenamento para as alterações nas proteínas da clara e ovos inférteis.

Investigações das alterações proteicas realizadas através de análise proteômica em diferentes temperaturas (4°C, 20°C e 37°C) após 15 dias de armazenamento, usando eletroforese bidimensional seguido por espectrometria de massa (MALDI-TOF MS/MS), identificaram 32 pontos de proteína representando oito proteínas identificadas com diferenças significativas na abundância quando armazenadas em diferentes temperaturas (QIU *et al.*, 2012).

A degradação da ovalbumina, possivelmente resultante da redução de antiprotease, foi observada na temperatura mais elevada de armazenamento. Além disso, um aumento na formação de complexos da ovalbumina,

a diminuição nas proteínas da família da lipocalina e redução da clusterina durante o armazenamento foram detectadas com o aumento da temperatura. A clusterina é a proteína referida como um biomarcador eficaz para a avaliação da qualidade do ovo. Essas alterações proporcionaram uma melhor compreensão das alterações bioquímicas induzidas termicamente (QIU *et al.*, 2012).

Algumas alterações proteicas posteriores à oviposição também podem ser promovidas utilizando técnicas laboratoriais ou industriais com a finalidade de agregar maior valor às moléculas ou seus compostos derivados. A glicosilação de proteínas, utilizando a reação de Maillard, tornou-se uma ferramenta importante para melhorar a estabilidade de moléculas proteicas, sem afetar, ou em alguns casos, até mesmo melhorar, suas propriedades funcionais originais (KATO *et al.*, 1993; HANDA E KURODA, 1999).

O estudo utilizando novas técnicas de proteômica permite viabilizar a identificação e o estudo de novas moléculas bioativas em extratos biológicos naturais, levando ao desenvolvimento de novos produtos e medicamentos (ROCHA *et al.*, 2005). A preparação da amostra, antes da análise proteômica é muito importante, utilizando-se de técnicas de eletroforese e espectrometria de massa atômica, a fim de conseguir resultados em termos de visualização da proteína, a quantificação, a separação como também a identificação (SHAW E RIEDERER, 2003; JIANG *et al.*, 2004).

Princípios de proteoma e proteômica

O proteoma é todo o conjunto de proteínas expressas por um genoma, célula, tecido ou organismo em um determinado momento, sob condições definidas. As informações biológicas codificadas pelo genoma encontram sua expressão

final em uma proteína biológica cujas propriedades são determinadas pela sua estrutura dobrada e pelo arranjo espacial dos grupos químicos na sua superfície. Especificando as proteínas de diferentes tipos, o genoma é capaz de construir e manter um proteoma global cujas propriedades biológicas formam a base da vida, permitindo a diversidade de proteínas para transportar e para manifestar uma variedade de funções biológicas, compreendidas pelos estudos proteômicos (BROWN, 2002).

Proteômica é caracterizado como o estudo do proteoma (ZHANG, 2010). Os primeiros ensaios descreveram os procedimentos para separar as proteínas de *Escherichia coli* numa matriz bidimensional em gel de poliacrilamida, marcando assim o nascimento do campo da biologia molecular atualmente denominado proteômica (O'FARRELL, 1975; NEIDHARDT, 2011).

Estudos de proteômica são concebidos para produzir informações qualitativas sobre proteínas na identificação, distribuição, interações, estrutura e função, e informações quantitativas de abundância, distribuição dentro de diferentes localizações, variações temporais de abundância devido a síntese e degradação ou ambos (OTTO *et al.*, 2012).

A eletroforese em gel unidimensional SDS-PAGE e bidimensional (2-DE), constituíram as técnicas de alta resolução para análise do proteoma. As primeiras pesquisas com ovos levaram à caracterização de uma pequena proteína, Ch21 (DESERT *et al.*, 2001).

Posteriormente foram investigadas outras proteínas do ovo, incluindo duas proteínas de clara, uma delas a Tenp, uma proteína com forte homologia com uma proteína de aumento da permeabilidade bactericida da família (BPI) e outra denominada VMO uma proteína da membrana

externa vitelina (RAIKOS *et al.* 2006; GUERIN-DUBIARD *et al.*, 2006).

Novas proteínas de clara de ovo como as ovodefensinas, uma família de peptídeos contendo cisteínas (C-X5-C-X3-C-X11-C-X3-C-C), as quais são secretadas no magna do oviduto da galinha na formação do ovo, relacionadas às beta-defensinas aviárias e que apresentaram atividade microbiana foram identificadas (GONG *et al.*, 2010).

O conhecimento preciso sobre a ocorrência e identificação de novas moléculas proteicas em extratos biológicos naturais e suas quantificações nos estudos foi viabilizado através de técnicas de alta resolução para análise proteômica como a eletroforese e espectrometria de massa atômica (ROCHA *et al.*, 2005).

Eletroforese

O termo eletroforese foi introduzido por Michaelis em 1909 para descrever o movimento de coloides sob a influência de um campo elétrico. Baseia-se na migração das moléculas de proteína com cargas pré-ajustadas, aplicadas em uma solução submetida a um campo elétrico onde as moléculas irão migrar para o campo de carga oposta. Esta técnica foi realizada pela primeira vez por Arne Tiselius, que identificou um método denominado eletroforese livre, o qual promoveu a decomposição do soro sanguíneo em cinco frações proteicas (TISELIUS, 1937).

Nas décadas posteriores a técnica sofreu aperfeiçoamentos constantes, com o desenvolvimento do protocolo SDS-PAGE por Laemmli (1970) possibilitando análises mais precisas. O método mais utilizado atualmente é denominado eletroforese zonal, o qual utiliza uma matriz sólida constituída de gel de poliacrilamida. Eventualmente, pode-se utilizar géis contendo um

gradiente de poliacrilamida, onde a concentração do polímero (acrilamida) e o tamanho dos poros varia uniformemente ao longo do gel (ex: 4% acrilamida no topo e de 12% até 25% ao final do gel). Quanto maior a concentração de acrilamida, menores serão os poros formados (MORAES *et al.*, 2013).

A malha transparente estável gerada pela copolimerização química de monômeros de acrilamida com N,N-metilenobisacrilamida (Bis-acrilamida) ocorre na presença de persulfato de amônio e tetrametiletenodiamina (TEMED). O TEMED catalisa a liberação de radicais livres do persulfato que, por sua vez, iniciam e aceleram a polimerização (MORAES *et al.*, 2013).

A vantagem da utilização destes géis consiste no seu poder de separação de proteínas com volumes moleculares muito similares. Este tipo de gel pode ser utilizado tanto na eletroforese nativa em condições não desnaturantes que separam e purificam proteínas sem a presença de agentes desnaturantes, como para a eletroforese em condições desnaturantes que separam e purificam proteínas na presença de agente desnaturante (SDS-PAGE). A velocidade da migração das proteínas no gel de poliacrilamida depende da força do campo elétrico aplicado, do tamanho e da forma das moléculas, da força iônica, da viscosidade e da temperatura do meio (ROCHA *et al.*, 2005).

Como exemplo, através da eletroforese, a pureza da amostra de uma proteína denominada TENP foi isolada e avaliada, verificando que essa proteína presente na clara de ovos apresentou atividade antibacteriana contra bactérias Gram-positivas tais como *Micrococcus luteus* e *Bacillus subtilis* (MAEHASHI *et al.*, 2014).

Eletrforese SDS-PAGE e Eletrforese 2D

A eletrforese em gel para condições desnaturantes (SDS-PAGE) é o método amplamente usado para a análise qualitativa de misturas de proteínas. É particularmente útil para a purificação de proteínas e está baseado na separação de proteínas de acordo com o tamanho, e também pode ser utilizado para determinar a massa molecular relativa de proteínas (WILSON E WALKER, 2010).

Em estudos das proteínas em solução de um determinado produto, sob os aspectos da proteômica quantitativa, a eletrforese pode ser realizada unidimensionalmente (SDS-PAGE), obtendo-se como resultado o fracionamento da solução com a separação das proteínas em relação aos pesos moleculares diferentes (LAEMMLI, 1970).

A eletrforese 2D resulta da combinação de duas técnicas, em duas dimensões. Em uma primeira dimensão, de acordo com o seu ponto isoelétrico (pI) e, em segunda dimensão, em gel de SDS-PAGE, de acordo com o seu peso molecular (PM). A utilização da técnica de eletrforese 2D resulta em um gel de poliacrilamida contendo numerosos "spots", bem separados, cada um correspondendo a uma proteína ou a uma forma proteica (KLOSE, 1975; O'FARRELL, 1975).

Os fundamentos da abordagem em eletrforese 2D foram apresentados, pela primeira vez, em 1975. Desde então, têm se verificado melhoramentos substanciais na qualidade e reprodutibilidade dos resultados obtidos, em consequência do desenvolvimento de equipamentos e reagentes específicos. A aplicação da eletrforese 2D permite a resolução das várias proteínas e a separação das formas proteicas (isoformas) que tenham sofrido modificações pós-tradução. Na separação destas isoformas é possível analisar as

modificações, pois conferem propriedades diferentes à proteína, em particular, um diferente ponto isoelétrico ou peso molecular, conseguindo-se distinguir as formas de fosforilação porque este tipo de modificação pós-tradução apresenta alteração do seu ponto isoelétrico (pI) e do peso molecular. Com isso, podem ser avaliadas as presenças de proteínas fosforiladas (YAMAGATA *et al.*, 2002).

Modificações do tipo acetilação, glicosilação, hidrólise e isoformas específicas de determinados peptídeos podem ser detectadas com base nos géis 2D. Em estudos de proteômica quantitativa, a análise comparativa dos proteômas obtidos tem por objetivo identificar e quantificar as possíveis alterações ao nível da abundância relativa de cada espécie proteica separada (YAMAGATA *et al.*, 2002).

Com efeito, as técnicas de eletrforese possibilitam a separação das frações proteicas. Uma vez separadas, quantificadas e analisadas, essas moléculas precisam ser submetidas à espectrometria de massa atômica, para certificar suas identidades.

Espectrometria de massa atômica

As características de espectrometria de massa obtiveram uma posição de destaque entre os métodos analíticos devido à sua alta sensibilidade, aos limites de detecção, à velocidade e diversidade de sua aplicação. Em química analítica, as aplicações mais recentes são principalmente orientadas para os problemas de bioquímica, tais como o proteoma, metaboloma e na descoberta de medicamentos (HOFFMANN E STROOBANT, 2007). Novos espectrômetros de massa de alto rendimento foram desenvolvidos para atender as necessidades da proteômica (REINDERS *et al.*, 2004), metabolômica e genômica (NAYLOR E KUMAR, 2003; VILLAS-BOAS *et al.*, 2005).

O primeiro passo na análise por espectrometria de massa dos compostos, é a produção de íons em fase gasosa. A maioria dos íons positivos têm uma carga correspondente a perda de um elétron, porém para moléculas grandes íons de cargas múltiplas também podem ser obtidos. Os íons são separados e detectados de acordo com a relação massa-carga. Todos estes íons são separados no espectrômetro de massa e detectados em proporção à sua abundância (HOFFMANN E STROOBANT, 2007).

A clara de ovo de galinha tem sido objeto de intensas análises químicas e bioquímicas. Recentemente o arsenal de ferramentas nos estudos dos componentes proteicos da clara de ovo foi complementada por espectrometria de massa baseada em tecnologias de proteômica. A aplicação desses métodos rápidos e sensíveis permitiu a identificação de um grande número de novas proteínas (MANN E MANN, 2011).

Utilizando a espectrometria LTQ, foi possível identificar 158 proteínas em clara de ovo de galinha com duas ou mais sequências de peptídeos únicos. Esse grupo de proteínas identificadas com alta confiança incluíram 79 proteínas identificadas pela primeira vez, concluindo que a tecnologia de espectrometria está suficientemente avançada para permitir a identificação direta de componentes menores de proteoma (MANN E MANN, 2011).

A identificação de peptídeos em clara de ovos de avestruzes auxiliou na investigação e compreensão das propriedades farmacêuticas, onde os peptídeos isolados e identificados por espectrometria apresentaram propriedades antioxidantes, proporcionando novos horizontes para definir os mecanismos envolvidos na cicatrização de feridas pelos produtos elaborados com esses peptídeos, bem como os efeitos desses

contra o estresse oxidativo celular (HOMAYOUNI-TABRIZI *et al.*, 2015).

Proteínas do ovo

Proteínas conhecidas

As proteínas de clara representam mais de 80% da matéria seca. Portanto, as investigações sobre as características físico-químicas, como por exemplo, o ponto isoelétrico destas proteínas, têm promovido a elucidação de suas relações de estruturas e funções em benefício do processamento de alimentos (STRIXNER E KULOZIK, 2011).

Entre os constituintes proteicos da clara de ovos mais comumente relatados tem-se a ovalbumina, ovotransferrina, ovomucóide, ovoinibidor, ovomucina, lisozima, ovoglicoproteína, ovoflavoproteína, ovomacroglobulina e avidina (SGARBIERI, 1996). Porém, após a utilização de novas metodologias de identificação das frações proteicas dos ovos, através de técnicas moleculares, isoformas das proteínas originalmente relatadas foram identificadas.

A gema de ovo, por sua vez, é um ingrediente essencial na preparação de uma grande variedade de emulsões alimentares. Apresenta-se como uma dispersão de partículas de diferentes tamanhos numa fase aquosa contínua ou plasma. Estas partículas podem ser classificadas como gotículas de gema, uma mistura de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), representando 50% das lipoproteínas e apresentando tamanhos com diâmetros entre 20 μm a 150 μm , lipoproteínas de alta densidade (HDL), lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) e grânulos compostos de proteínas, lipídeos e minerais com diâmetros de 0,3 μm a 1,6 μm , os quais possuem um tamanho

inferior e são mais uniformes que as gotículas de gema (FENNEMA, 1976).

Para as proteínas constituintes da gema de ovos, são relatadas principalmente a fosfovitina, lipovitelinina, lipovitelina, livetina e riboflavina (LINDEN E LORIENT, 1996).

Proteínas identificadas e isomorfas

A primeira investigação de nível de proteoma de clara de ovo de galinha foi realizada por Desert *et al.* (2001). Subsequentemente, Raikos *et al.* (2006) investigaram todas as proteínas do ovo usando as técnicas de eletroforese SDS-PAGE, eletroforese 2D e espectrometria de massa.

A ovalbumina foi identificada por comparação com padrões de migração (isomorfas), apresentando três faixas, e compondo a maior banda no gel (RAIKOS *et al.*, 2006), pois essa é a proteína mais abundante em clara de ovo (54%) (LI-CHAN E NAKAI, 1989). Alguns pesquisadores relataram até 20 isoformas em ovos com desenvolvimento embrionário (QIU *et al.*, 2012).

As outras bandas de proteína detectadas na fração da clara corresponderam à conalbumina e à lisozima, em proporções relativas de clara de ovo de (12% e 3,5%, respectivamente), nas quais não foram verificados padrões de migração (RAIKOS *et al.*, 2006). Seus pesos moleculares estimados foram ligeiramente mais baixos do que os valores teóricos de 14,3 e 76 kDa, respectivamente (SGARBIERI, 1996).

Vários fatores podem determinar a abundância de determinada proteína e eventuais isoformas. Ovos férteis durante a fase inicial do desenvolvimento embrionário e inférteis apresentaram seis pontos de proteínas Y relacionados à ovalbumina e são 10 vezes mais

abundantes em clara de ovos férteis comparados à ovos inférteis, concluindo que a diferença na quantidade de ovalbumina ocorreu e que a família dessas proteínas, especialmente relacionadas com a proteína ovalbumina Y (QIU *et al.*, 2013).

Os fatores de estresse nos quais as aves são submetidas também podem interferir na composição proteica dos ovos. Ambientes estressantes podem afetar não apenas a qualidade de ovos, bem como o gene e abundância da proteína no ovário e oviduto em galinhas poedeiras, principalmente na região do magno. Os glicocorticoides (como exemplo: cortisol e corticosterona) aumentam a expressão de mRNA e a produção de proteína ovalbumina no oviduto da galinha (LE BOUC *et al.*, 1985).

A abundância da proteína ovalbumina X (OVAX) pode aumentar na clara de ovo de galinhas tratadas com corticosterona na ração, e a expressão das proteínas ovalbumina e ovalbumina Y (OVAY) permanecem inalterados (KIM E CHOI, 2014).

As estruturas secundárias da ovalbumina e da ovalbumina X (OVAX) são semelhantes, mas o modelo tridimensional da OVAX é diferente, revelando a presença de um aglomerado de cargas positivas expostas (REHAULT-GODBERT *et al.*, 2013).

A OVAX, ao contrário de ovalbumina, desempenha atividades antibacterianas contra *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* Enteritidis, e pode estar presente na clara do ovo em cerca de 2,4 mg/mL (REHAULT-GODBERT *et al.*, 2013). A presença desta proteína foi também verificada na gema. (FARINAZZO *et al.*, 2009)

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A composição coloidal da clara e da gema dos ovos de aves possuem muitas proteínas,

algumas amplamente pesquisadas e outras ainda não estudadas ou mesmo caracterizadas.

Através da proteômica aplicada nos estudos de clara e gema em seus componentes proteicos, foi possível identificar algumas dezenas de proteínas até então desconhecidas ou relatadas em ovos e eventuais isoformas. Proteínas como OVAY, OVAX, TENP foram identificadas e estão sendo estudadas quanto as suas bioatividades. Outras proteínas recentemente identificadas, ainda necessitam de mais estudos para compreensão de suas características biológicas relativas ao ovo.

Esses estudos estão sendo delineados para identificação como também para a compreensão dos processos de embriogênese dos ovos, avaliação das diferenças entre ovos férteis e inférteis, eventuais variações nos ovos provenientes de aves tratadas com determinados manejos alimentares ou fármacos.

A identificação, a quantificação e posteriormente a compreensão das propriedades bioativas e fisiológicas dos componentes proteicos, além de proporcionar um avanço para os processos de produção dos ovos, auxiliará a indústria de alimentos na utilização de proteínas na transformação de produtos alimentícios de qualidade e para exigências alimentares específicas.

REFERÊNCIAS

ANTON, M. **Composition and structure of hen egg yolk**. Berlin: Springer, 2006.

BERK, Z. **Introduction to the biochemistry of foods**. New York: Elsevier, 69-71 p. 1976.

BERTENCHINI, A. G. **Nutrição de Monogástricos**. Lavras: UFLA, 2006, 301 p.

BROWN, T. A. **Genomes**. Genomes Transcriptomes and Proteomes. Manchester: Wiley-Liss. 2: 18-20 p. 2002.

BURLEY, R. W.; VAHEDRA, D. V. **The avian egg: Chemistry and biology** New York, Wiley, p. 35-37 p. 1989.

DEEMING, D. C. **Incubação de ovos de avestruz, ema, emu e casuar**. Viçosa: 1997. 257 p.

DESERT, C.; GUERIN-DUBIARD, C.; NAU, F.; JAN, G.; VAL, F.; MALLARD, J. Comparison of different electrophoretic separations of hen egg white proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 4553-4561, 2001.

FARINAZZO, A.; RESTUCCIA, U.; BACHI, A.; GUERRIER, L.; FORTIS, F.; BOSCHETTI, E.; FASOLI, E.; CITTERIO, A.; RIGHETTI, P. G., A. Chicken egg yolk cytoplasmic proteome mined via combinatorial peptide ligand libraries. **Journal Chromatography**, v. 1216, p. 1241-1252, 2009.

FENNEMA, O. R. **Principles of food science**. Food Chemistry. DECKER, M.: 660-673 p. 1976, 1158 p.

GONG, D.; WILSON, P. W.; BAIN, M. M.; MCDADE, K. K., J.; HERVE-GREPINET, V.; NYS, Y.; DUNN, L. C. Gallin an antimicrobial peptide member of a new aviandefensin family the ovodefensins has been subject to recent gene duplication. **BMC Immunology**, p. 11-12, 2010.

GUERIN-DUBIARD, C.; PASCO, M.; MOLLE, D.; DESERT, C.; CROGUENNEC, T.; NAU, F. Proteomic analysis of hen egg white. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.54, p. 3901-3910, 2006.

HANDA, A.; KURODA, A. Functional improvements in dried egg white through the Maillard reaction. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 1845-1850, 1999.

HERBERT, B.; GALVANI, M.; HAMDAN, M.; OLIVIERI, E.; MACCARTHY, J.; PEDERSEN, S.; AL, E. **Reduction and alkylation of proteins in preparation of two-dimensional map analysis**. Electrophoresis. 22, p. 2046-2057, 2001.

- HOFFMANN, E. D.; STROOBANT, V. **Mass spectrometry : principles and applications**. England: John Wiley & Sons Ltd, 2007, 493 p.
- HOMAYOUNI-TABRIZI, M.; ASOODEH, A.; ABBASZADEGAN, M.; SHAHROKHABADI, K.; NAKHAIE MOGHADDAM, M. An identified antioxidant peptide obtained from ostrich (*Struthio camelus*) egg white protein hydrolysate shows wound healing properties. **Pharmaceutical Biology**. v. 53, n. 8, p. 1155-1162, 2015.
- HUANG, T. L.; RICHARDS, M. Development of a high performance capillary isoelectric focusing technique with application to studies of microheterogeneity in chicken conalbumin. **Journal of Chromatography**, v. 757, p. 247-253, 1997.
- JIANG, L.; HE, L.; FOUNTOULAKIS, M. Comparison of protein precipitation methods for sample preparation prior to proteomic analysis. **Journal of Chromatography**, v. 1023, p. 317-320, 2004.
- KATO, A.; GAONKAR, A. **Interactions of egg white proteins. Ingredients interactions and effects on food quality**. New York: Marcel Dekker Inc, p. 357-375, 1997.
- KATO, K.; MINAKI, K.; KOBAYASHI, K. Improvement of emulsifying properties of egg white proteins by the attachment of polysaccharide through Maillard reaction in a dry state. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 41, p. 540-543, 1993.
- KIM, J.; CHOI, Y.-H. Differential Abundance of Egg White Proteins in Laying Hens Treated with Corticosterone. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 51, p. 12346-12359, 2014.
- KLOSE, J. Protein mapping by combined isoelectric focusing and electrophoresis of mouse tissues. A novel approach to testing for induced point mutations in mammals. **Humangenetik**, v. 26, n. 3, p. 231-43, 1975.
- LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage t4. **Nature** v. 227, n. 1, p. 680-685, 1970.
- LE BOUC, Y.; GROYER, A.; CADEPOND, F.; GROYER-SCHWEIZER, G.; ROBEL, P.; BAULIEU, E. E. Effects of progesterone and tamoxifen on glucocorticosteroid-induced egg white protein synthesis in the chick oviduct. **Endocrinology** v. 116, p. 2384-2392, 1985.
- LI-CHAN, E.; NAKAI, S. Biochemical basis for the properties of egg white. **Critical Review Poultry Biology**, v. 2, n. 1, p. 21 - 57, 1989.
- LINDEN, G.; LORIENT, D. **Revalorización Alimentaria de la producción agrícola**. Zaragoza: Acribia, 1996.
- MAEHASHI, K.; UEDA, M.; MATANO, M.; TAKEUCHI, J.; UCHINO, M.; KASHIWAGI, Y.; WATANABE T. Biochemical and functional characterization of transiently Expressed in Neural Precursor (TENP) Protein in Emu Egg White. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 62, p. 5156-5162, 2014.
- MANN, K.; MANN, M. In-depth analysis of the chicken egg white proteome using an LTQ Orbitrap Velos. **Proteome Science**. v. 9, p1-7, 2011.
- MINE, Y.; KOVACS-NOLAN, J. Biologically active hen egg components in human health and disease. **Journal of Poultry Science**, v. 41, n. 1, p. 1-29, 2004.
- MINE, Y.; NOUTOMI, T.; HAGA, N. Thermally induced changes in egg white proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 38, n. 2, p. 2122-2125, 1990.
- MORAES, C. D. S.; JUNIOR, F. O. R. D. O.; MASSON, G.; REBELLO, K. M.; SANTOS, L. D. O.; BASTOS, N. F. P.; FARIA, R. C.-R. **Métodos experimentais no estudo de proteínas**. Série em *Rev. Ciên. Vet. Saúde Públ.*, v. 4, n. 1, p. 061-072, 2017

- biologia celular e molecular. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2013, 84 p.
- NAYLOR, S.; KUMAR, R. Emerging role of mass spectrometry in structural and functional proteomics. **Advances in Protein Chemistry**, v. 65, p. 217-48, 2003.
- NEIDHARDT, F. C. **How microbial proteomics got started. Proteomics**, v. 11, p. 2943-2946 p. 2011.
- O'FARRELL, P. H. High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. **Journal of Biological Chemistry**, v. 250, n. 10, p. 4007-4021, 1975.
- OTTO, A.; BERNHARDT, J.; HECKER, M.; BECHER, D. Global relative and absolute quantitation in microbial proteomics. **Current opinion in Microbiology**, v. 15, n. 10, p. 364-372, 2012.
- QIU, N.; LIU, W.; MA, M.; ZHAO, L.; LI, Y. Differences between fertilized and unfertilized chicken egg white proteins revealed by 2-dimensional gel electrophoresis-based proteomic analysis. **Poultry Science**, v. 92, n. 3, p. 782-786, 2013.
- QIU, N.; MA, M.; ZHAO, L.; LIU, W.; LI, Y.; MINE, Y. Comparative Proteomic Analysis of Egg White Proteins under Various Storage Temperatures. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 31, p. 7746-7753, 2012.
- RABILLOUD, T.; CHARMONT, S. **Two-dimensional gel electrophoresis and identification methods**. Proteome Research. Berlin: Springer; p. 107-126, 2000.
- RAIKOS, V.; HANSEN, R.; CAMPBELL, L.; EUSTON, S. R. Separation and identification of hen egg protein isoforms using SDS-PAGE and 2D gel electrophoresis with MALDI-TOF mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 99, n. 4, p. 702-710, 2006.
- RÊGO, I. O. P.; CANÇADO, S. V.; FIGUEIREDO, T. C.; MENEZES, L. D. M.; OLIVEIRA, D. D.; LIMA, A. L.; CALDEIRA, L. G. M.; ESSER, L. R. Influência do período de armazenamento na qualidade do ovo integral pasteurizado refrigerado. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n.3, p.735-742. 2012.
- REHAULT-GODBERT, S.; LABAS, V.; HELLOIN, E.; HERVE-GREPINET, V.; SLUGOCKI, C.; BERGES, M.; BOURIN, M. C.; BRIONNE, A.; POIRIER, J. C.; GAUTRON, J.; COSTE, F.; NYS, Y. Ovalbumin-related Protein X Is a Heparin-binding Ov-Serpin Exhibiting Antimicrobial Activities. **Journal of Biological Chemistry**, v. 288, n. 24, p. 17285-17295, 2013.
- REINDERS, J.; LEWANDROWSKI, U.; MOEBIUS, J.; AL., E. Challenges in mass spectrometry based proteomics. **Proteomics**, v. 4, p. 3686-703, 2004.
- ROCHA, T. L.; COSTA, P. H. A. D.; MAGALHÃES, J. C. C.; EVARISTO, R. G. S.; VASCONCELOS, É. A. R. D.; COUTINHO, M. V.; PAES, N. S.; SILVA, M. C. M. D.; GROSS-DE-SÁ, M. D. F. **Eletroforese Bidimensional e análise de proteomas**. Brasília: Embrapa, p. 136: 2-4, 2005.
- SANTONI, V.; MOLLOY, M.; RABILLOUD, T. Membrane proteins and proteomics. **Electrophoresis** v. 21, p. 1054-1070, 2000.
- SGARBIERI, V. C. **Proteínas em Alimentos Protéicos**. São Paulo: Varela, p. 157-172, 1996.
- SHAW, M. M.; RIEDERER, B. M. **Sample preparation for twodimensional gel electrophoresis**. Proteomics. v. 3, p. 1408-1417, 2003.
- STANDELMAN, W. J.; COTTERILL, O. J. **Egg science and technology**. Westport, Avi Publishing, 1997. 323 p.

STRIXNER, T.; KULOZIK, U. **Handbook of Food Proteins**. G.O. Phillips and P.A. Williams, 2011, 418 p.

SURAI, P. F.; SPARKS, N. H. C. Designer eggs: from improvement of egg composition to functional foods. **Food Science and Technology**, v. 12, n. 7-16, 2001.

TISELIUS, A. **Electrophoresis in Practice**. Weinheim: Reiner Westermeier. v. 33, p. 524-531, 1937.

VILLAS-BOAS, S. G.; MAS, S.; AKESSON, M.; AL., E. Mass spectrometry in metabolome analysis. **Mass Spectrometry. Reviews**, v. 24, p. 613-46, 2005.

WILSON, K.; WALKER, J. **Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology**. Cambridge: United Kingdom at the University Press, v. 7, 2010, 744 p.

YAMAGATA, A.; KRISTENSEN, D. B.; TAKEDA, Y.; MIYAMOTO, Y.; OKADA, K.; INAMATSU, M.; YOSHIZATO, K. Mapping of phosphorylated proteins on two-dimensional polyacrylamide gels using protein phosphatase. **Proteomics**, v. 2, n. 9, p. 1267-1276, 2002.

YANG, W. G.; WANG, Z.; XU, S. Y. A new method for determination of antithrombotic activity of egg white protein hydrolysate by microplate reader. **Chinese Chemical Letters**, v. 18, p. 449-451, 2007.

ZHANG, X. **Briefings in bioinformatics**. Hubbard, S. J. E Jones, A. R. London: Oxford University Press, v. 12, p. 80-81, 2010.