

Efeito dos genótipos para α_{S1} -caseína sobre as frações proteicas e lipídicas do leite de cabra

[Effect of genotypes for α_{S1} -casein on proteic and lipidic fractions in goat milk]

M.M.C. Silva¹, R.A. Torres², M.T. Rodrigues², M.A.M. Soares³, A.C.M. Magalhães⁴,
S.P. Silva¹, T.S. Silveira⁵

¹Aluna de pós-doutorado - UFV – Viçosa, MG

²Departamento de Zootecnia - UFV – Viçosa, MG

³Colegiado de Ciências Biológicas - Unioeste – Cascavel, PR

⁴Universidade Federal da Bahia – Vitória da Conquista, BA

⁵Aluno de pós-graduação - UFV – Viçosa, MG.

RESUMO

O alto polimorfismo encontrado no locus do gene da α_{S1} -caseína em caprinos, classificado em quatro níveis de expressão - alto, médio, baixo e nulo -, está associado à produção de 3,6; 1,6; 0,6 e 0g/L/alelo, respectivamente. O estudo foi realizado para investigar possíveis variações na produção de leite e seus constituintes, no perfil de caseínas e na lipólise da gordura. Quarenta e quatro cabras foram distribuídas em cinco genótipos: dois homocigotos, um para alta (AA) e outro para produção intermediária (EE), e três heterocigotos chamados AE, AF e EF, para α_{S1} -caseína. Para a lipólise, o leite foi subamostrado em quatro alíquotas que sofreram tratamento térmico no momento da ordenha e após 24h de resfriamento. Diferenças entre genótipos foram observadas para a produção de caseína e de suas frações. As demais variáveis não diferiram entre genótipos. O genótipo AA apresentou os maiores conteúdos de caseína (28,6g/L) e de α_{S1} -cn (22,3%). Os demais genótipos apresentaram média de 20,4g/L. Os grupos AE e AF apresentaram média de 12,1, EE-10,1 e EF-9,1% de α_{S1} -cn. O resfriamento do leite por 24 horas aumentou a taxa de lipólise no leite. A genotipagem das cabras para α_{S1} -cn pode ser usada como ferramenta de seleção com objetivo de obter produtos lácteos com distintos perfis de proteínas.

Palavras-chave: cabra, constituintes lácteos, caseína, genótipo, lipólise

ABSTRACT

A high polymorphism is found in the locus of goat α_{S1} -casein gene and it is classified in four levels of expression, named high, medium, and low, associated with production of 3.6, 1.6, 0.6, and 0 g/L/allele, respectively. The study was conducted to investigate possible variations on milk yield and components, profile of casein, and lipolysis of fat. Forty-four goats were assigned to five distinct genotypes as two homozygous, one for high (AA) and the other for intermediate yield (EE); and three heterozygous named AE, AF, and EF for the α_{S1} -casein. For lipolysis, milk was sampled in four aliquots which were treated soon after milking and 24 hours after cooling. Differences were observed for both casein yield and its fractions. No difference was found for other variables. The AA genotype presented the higher content of both casein (28.6g/L) and α_{S1} -cn (22.3%). Other genotypes averaged 20.4g/L for casein content. Values of α_{S1} -cn were 12.1% for heterozygous and 10.1 and 9.1% for both EE and EF genotype respectively. Cooling the milk for 24 hours increased the rate of lipolysis. Genotyping goats for the α_{S1} -cn can be used as a tool for selecting animal targeting milk products with distinct profiles of proteins.

Keywords: goat, milk constituent, casein, genotypes, lipolysis

Recebido em 20 de fevereiro de 2008

Aceito em 3 de fevereiro de 2009

E-mail: mmcsilv@yahoo.com.br

Apoio: FAPEMIG

INTRODUÇÃO

A qualidade do leite de cabra e de seus derivados pode ser avaliada, entre outros fatores, por seus conteúdos de proteínas e lipídios. Variações nos teores de proteína e gorduras do leite de cabra, com diferentes genótipos para α_{S1} -caseína (α_{S1} -cn), podem afetar características tecnológicas do leite, tais como velocidade de coagulação, rendimento, sabor e consistência dos produtos.

A espécie caprina apresenta um intenso e complexo polimorfismo genético presente no locus do gene da α_{S1} -cn que pode estar associado à variabilidade quantitativa das frações de proteínas e gorduras. Esse aspecto peculiar do leite caprino deve ser investigado para favorecer a seleção genética com o objetivo de melhorar as características físico-químicas, nutricionais e tecnológicas do leite de cabra.

No locus do gene da α_{S1} -cn já foram identificados cerca de 15 alelos associados a diferenças quantitativas e qualitativas no perfil de proteínas do leite (Ramunno et al., 2004). Até o presente, considera-se a ocorrência de sete classes de proteínas (A, B, C, D, E, F e G) e quatro níveis de expressão da α_{S1} -cn no leite da espécie caprina. O nível de alta expressão, associado aos alelos A, B, C, L e H, apresenta-se com 3,6-4,2g de α_{S1} -cn/litro de leite/alelo, o nível de expressão intermediária (alelo E e I) com 1,6g/litro/alelo, o de baixa expressão (alelos D, F e G) com 0,6g/litro de leite/alelo (Mahé e Grosclaude, 1989; Ramunno et al., 2000; Neveu et al., 2002) e o nível nulo (alelo 0), sem expressão de α_{S1} -caseína (Martin et al., 1999; Cozenza et al., 2003).

Os lipídeos são componentes importantes da qualidade tecnológica e dietética dos produtos lácteos caprinos por influenciarem no rendimento, textura, coloração e sabor destes (Chilliard, 1997; Chilliard et al., 2003). Variações no teor de gordura dos leites provenientes dos diferentes genótipos para α_{S1} -caseína também têm sido observadas, sendo esse teor mais elevado no leite de cabras homocigotas para o genótipo AA (35g/kg) do que no leite de cabras do genótipo FF (32g/kg) (Chilliard et al., 2003).

A intensidade do sabor, característico dos produtos lácteos caprinos, resulta da interação de fatores tais como composição de ácidos graxos da gordura do leite, estrutura dos triglicerídeos contendo alta proporção de ácidos graxos de cadeia média e peculiaridades do sistema lipolítico no leite (Chilliard et al., 2003).

A lipólise do leite pode ocorrer por ação de enzimas microbianas ou por ação de enzimas próprias do leite como a lipoproteína lipase (LPL). No leite de cabra, a atividade da LPL encontra-se mais relacionada ao processo de lipólise espontânea do que no leite de vaca. A maior afinidade dessa enzima aos glóbulos de gordura no leite de cabra e a forte ligação dela às micelas de caseínas do leite de vaca explicam, em parte, essas diferenças.

Dessa forma, este estudo teve os objetivos de identificar o polimorfismo genético da α_{S1} -caseína no leite de cabras e verificar a sua influência na composição das frações proteicas e lipídicas do leite, incluindo os perfis das caseínas (α , β e κ) e as características da lipólise espontânea do leite.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 44 cabras as quais foram mantidas em baias coletivas, com piso de cama e livre acesso à água, sal mineral e solário, de acordo com o manejo normal do rebanho do setor de caprinos da Universidade Federal de Viçosa. Os animais receberam dieta à base de silagem de milho e mistura concentrada fornecida duas vezes ao dia.

Foram coletados da circulação periférica, aproximadamente, 10mL de sangue de cada animal de onde foram separados os leucócitos por centrifugação a 2.000xg durante 15 minutos. A partir destes, amostras de DNA genômico foram obtidas como descrito em Soares et al. (2007). Para a amplificação das regiões de interesse e determinação dos genótipos dos animais quanto aos alelos do gene da α_{S1} -caseína, foram utilizados protocolos específicos, como descrito em Mognol (2005), Santos (2005) e Namba et al. (2008).

De acordo com os resultados dessas análises, foi possível classificar os animais em seis grupos: homocigoto para alta produção (AA);

homozigoto para produção intermediária (EE); heterozigoto para produção intermediária – alto/intermediário (AE); heterozigoto para produção intermediária – alto/baixo (AF); heterozigoto para baixa produção – intermediário/baixo (EF) e homozigoto para baixa produção (FF). No genótipo classificado como AA, também estão incluídos animais com alelos B e C, no entanto, essa diferenciação não interfere nos resultados já que ambos são classificados como de alta produção para α_{S1} -caseína. Os animais do último grupo (FF) não foram incluídos nas análises estatísticas em razão do pequeno número de animais encontrados.

Os animais foram monitorados individualmente a partir do parto, e amostras individuais de leite foram coletadas quando os animais se encontravam aos 21 e aos 100 dias de lactação. A ordenha foi realizada manualmente, duas vezes ao dia, e as coletas ocorreram na ordenha da tarde e na da manhã do dia seguinte, para facilitar o processamento do leite. O leite amostrado na ordenha da tarde foi mantido sob refrigeração. Após a coleta da manhã do dia seguinte, preparou-se uma amostra composta por animal (300mL), proporcionalmente à produção mensurada. Duas alíquotas foram separadas para os procedimentos analíticos. Uma alíquota (72mL) foi distribuída em quatro frações de 18mL para análise da lipólise espontânea do leite. O restante foi utilizado para a mensuração da densidade do leite, por meio de um termolactodensímetro, da gordura do leite, com uso do equipamento MK2.50, calibrado previamente para análise de leite de cabra e da proteína e caseínas do leite.

Aproximadamente 150mL de leite foi desnatado, utilizando-se centrifuga refrigerada (4°C) a 2000xg, durante 20 minutos. O leite desnatado foi armazenado em potes plásticos e submetido aos procedimentos para análise de N total e das caseínas totais e individuais. O N total foi determinado, em amostra de leite desnatado, pelo método Kjeldahl, sendo o resultado multiplicado pelo fator 6,38 para conversão em proteína bruta (Official..., 1984).

Para a preparação das caseínas, 80mL de leite desnatado foi submetido à precipitação isoelétrica em pH 4,6, de acordo com as recomendações de Trujillo et al. (2000). As caseínas precipitadas foram acondicionadas em

potes plásticos, previamente pesados, e dissolvidas em solução tampão fosfato 20mM, sendo aquecidas a 80°C por 30 minutos para inativação da plasmina. As caseínas tamponadas foram congeladas (-70°C), liofilizadas e pesadas para quantificação.

As frações das caseínas (α_{S1} , α_{S2} , β e κ) foram determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência e fase reversa, conforme descrito por Moatsou et al. (2004). Os picos correspondentes às frações de caseínas foram identificados por absorvância na luz ultravioleta a 214nm. Na análise dos cromatogramas, obtiveram-se a identificação e a quantificação das caseínas individuais pela área do pico correspondente em relação ao valor total de caseínas, bem como sua comparação com os padrões de caseínas totais e individuais utilizados¹.

Para a determinação da lipólise espontânea do leite, as amostras do leite foram subdivididas em quatro alíquotas de 18mL e armazenadas em recipientes plásticos identificados. Essas quatro alíquotas foram submetidas a quatro tratamentos distintos. Imediatamente após a preparação da amostra composta, a primeira alíquota foi congelada (-20°C) e a segunda foi aquecida a 60°C em banho-maria por 30 minutos e congelada (-20°C). A terceira e quarta alíquotas foram armazenadas em geladeira por 24h e, após o término desse período, submetidas aos tratamentos das alíquotas 1 e 2, respectivamente.

As análises do conteúdo de ácidos graxos livres (AGL) foram realizadas pelo método descrito por Deeth et al. (1975). O conteúdo de ácidos graxos livres (AGL) de leite foi obtido a partir da fórmula:

$$AGL (\mu\text{equiv/mL}) = \frac{T \times N}{P \times V} \times 10^3, \text{ em que:}$$

T = é o volume da titulação;

N = normalidade do KOH metanólico;

P = proporção da camada superior titulada (ou seja, volume da alíquota retirada/volume total da camada superior);

V = volume (em mL) do leite.

Os resultados obtidos foram analisados pelo procedimento GLM do programa computacional SAS/1999, aplicando-se o teste Student-

¹Sigma Chemical Co. Saint Louis, EUA.

Newman-Keuls ($P < 0,05$), para comparação de médias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os genótipos dos animais avaliados revelaram a presença de alelos para alta, intermediária e baixa produção de α_{S1} -cn, em frequências diferenciadas. Os alelos do grupo de alta (A, B, C), intermediária (E) e baixa (F) apresentaram, respectivamente, as seguintes frequências gênicas: 0,35, 0,39 e 0,26, isto é, maior frequência dos alelos E.

As frequências dos alelos para produção intermediária e baixa representaram 65% do total. Maior frequência desses alelos, embora em proporções diferentes, também foi observada por Martin (1993), quando em pesquisa da frequência alélica, no locus do gene da α_{S1} -cn, em rebanhos caprinos das raças Saanen e Alpina. Esse autor verificou a predominância dos alelos de expressão intermediária (40%) e baixa (40%), enquanto o alelo A, de alta expressão, apresentou-se na frequência de 10%. Grosclaude

et al. (1987), na França, observaram predominância dos alelos de expressão intermediária e baixa. A proporção dos alelos E e F foi de 34 e 41%, na raça Alpina, e 41 e 43%, na raça Saanen, respectivamente.

Diferenças entre a frequência de alelos no locus da α_{S1} -cn entre raças têm sido descritas. Jordana et al. (1996) relataram a frequência dos alelos em algumas raças caprinas na Espanha e encontraram predominância do alelo E nas raças Murciana-Granadina, Malaguenha e Payoya (59%, 65%, e 76%, respectivamente). Na raça Canária, observaram predominância dos alelos A e B (60%), de alta expressão de α_{S1} -cn. Clark e Sherbon (2000) observaram diferenças nos teores de α_{S1} -cn entre raças, isto é, foram mais altos nas raças Saanen, Nubiana e LaMancha, em relação às raças Alpinas, Toggenburg, Oberhasli.

Na Tab. 1 são apresentados os valores obtidos de produção e composição do leite das cabras nos diferentes genótipos.

Tabela 1. Produção e composição do leite de cabras com diferentes genótipos para α_{S1} -cn

Item	Genótipos					Fase		CV
	AA	EE	AE	AF	EF	1	2	
PL(kg/dia)	2,16a	1,66a	1,85a	2,00a	2,29a	2,20a	1,77b	37,42
Densidade	1,028a	1,027a	1,028a	1,027a	1,027a	1,027	1,027a	0,15
Gordura(%)	3,64a	3,99a	3,98a	3,84a	3,93a	4,47a	3,27b	20,03
Proteína(%)	2,99a	2,99a	3,19a	2,88a	3,17a	2,98a	3,09a	14,00

Não houve diferenças significativas entre genótipos. Médias na mesma linha seguidas de letras distintas diferem a 5% de probabilidade pelo teste SNK

AA: homocigoto de alta produção; EE: homocigoto de produção intermediária; AE: heterocigoto de produção intermediária; AF: heterocigoto de produção intermediária; EF: heterocigoto de baixa produção. Fase 1: 21 dias de lactação; Fase 2: 100 dias de lactação.

Não foram encontradas diferenças significativas ($P > 0,05$) para a produção de leite bem como para os teores de proteína e de gordura do leite, expressos em percentagem. Entre as fases de lactação, observaram-se reduções significativas ($P < 0,05$) de 19 e 27% para a produção de leite e teor de gordura do leite, respectivamente. O elevado coeficiente de variação obtido com a produção de leite pode ter contribuído para a falta de respostas significativas para essa variável.

Magalhães (2007), ao trabalhar com cabras do mesmo rebanho com diferentes genótipos para

α_{S1} -caseína (AA, EE, EF, AF), não observou diferenças entre as produções de leite. Mahé e Grosclaude (1993) também não observaram efeito dos genótipos para α_{S1} -caseína sobre a produção de leite das cabras. No entanto, efeitos do polimorfismo da α_{S1} -caseína sobre a produção de leite de cabras Alpinas foram observados por Barbieri et al. (1995), em que o genótipo AA apresentou produção significativamente mais baixa que os genótipos AE, AF, EE e EF.

A composição do leite de cabra varia em razão de alterações genéticas entre raças, e também dentro da mesma raça, reforçando a necessidade

de avaliações genéticas para a identificação de possíveis diferenças nessas variáveis. Os constituintes do leite também podem ser afetados pelo estágio e ordem de lactação, estação do ano, tipo de dieta, estágio fisiológico e saúde animal e do úbere (Chilliard et al., 2003). Dessa forma, o elevado teor de gordura do leite observado na primeira fase da lactação sugere que, provavelmente, nesse período, os animais estariam mobilizando as suas reservas corporais para atender à maior exigência energética, comum no início da lactação (Nutrient..., 1981).

Os conteúdos de proteínas e lipídeos constituem fatores determinantes da qualidade do leite de cabra e de seus derivados. A diversidade genética das caseínas no leite da espécie caprina associada à variabilidade quantitativa existente nas frações

de proteínas e gorduras oferece uma oportunidade para a seleção com fins de melhoria das características físico-químicas, organolépticas, nutricionais, terapêuticas, tecnológicas e imunológicas do leite de cabra.

A média do conteúdo de gordura do leite obtida neste experimento, de 38,76g/kg, foi muito próxima à observada por Schmidely et al. (2002), 38,8g/kg. Chilliard et al. (2003) relataram variações no teor de gordura do leite provenientes dos genótipos AA e FF para α_{S1} -caseína, valores de 35g/kg e 32g/kg, respectivamente.

Na Tab. 2, são apresentados os resultados da quantificação das caseínas do leite de cabra.

Tabela 2. Produção de caseínas e frações no leite de cabras selecionadas quanto ao genótipo para α_{S1} -cn no leite

Item	Genótipo					CV(%)
	AA	EE	AE	EF	AF	
Caseína total (g/L)	28,64a	21,02b	20,70b	19,94b	19,89b	21,65
	%					
Kappa	14,88b	18,38a	15,64b	19,04a	16,06b	12,58
Alpha s1	22,33a	10,07c	19,13b	9,07c	19,12b	19,67
Alpha s2	18,24b	22,14a	18,69b	20,80a	17,04b	10,67
Beta	44,55c	49,40ab	46,54bc	51,08a	47,77abc	7,79
	g/L					
Kappa	4,23a	3,84ab	3,24b	3,78ab	3,13b	22,69
Alpha s1	6,44a	2,13c	3,88b	1,84c	3,83b	32,75
Alpha s2	5,23a	4,66ab	3,86bc	4,13bc	3,35c	22,30
Beta	12,73a	10,39ab	9,71b	10,18ab	9,57b	24,32

Médias na mesma linha seguidas de letras distintas diferem a 5% de probabilidade pelo teste SNK.

AA: homozigoto de alta produção; EE: homozigoto de produção intermediária; AE: heterozigoto de produção intermediária; AF: heterozigoto de produção intermediária; EF: heterozigoto de baixa produção. Fase 1: 21 dias de lactação; Fase 2: 100 dias de lactação.

Houve efeito do genótipo ($P < 0,05$) sobre a produção de caseínas do leite e no percentual das frações de caseínas (κ , α_{S2} , α_{S1} e β). Nas cabras do genótipo AA, ocorreu a maior produção de caseína total (28,6g/L) em relação aos demais genótipos (20,4g/L). A fração de α_{S1} -cn também foi mais elevada nos animais do genótipo AA (22,3%). Os heterozigotos AE e AF apresentaram comportamento semelhante, com média de 12,1%, e os menores valores ocorreram nos animais dos genótipos EE e EF (10,1 e 9,1%). Não houve efeito da fase da lactação sobre a produção de caseínas e de suas frações ($P > 0,05$).

A concentração média de α_{S1} -cn nos animais do genótipo AA, de 22,3%, mostrou-se muito próxima às da literatura, que relatou 25% como o teor de α_{S1} -caseína associado aos genótipos de alta expressão. Morgan et al. (2001) verificaram, para animais do genótipo AA, concentrações percentuais de α_{S1} , α_{S2} , β e κ caseínas de, respectivamente, 25,9, 14,6, 46,8, e 12,7. Estas são próximas às observadas neste experimento.

Comparando-se os genótipos homozigotos AA e EE, pode-se constatar redução na concentração relativa de α_{S1} -cn no leite dos animais contendo alelos homozigotos de média expressão (EE), apesar de não serem na mesma proporção do

aumento quantitativo na concentração das demais caseínas. Este aspecto já foi citado como determinante das diferenças na estrutura das micelas de caseínas e nas suas propriedades de coagulação e de digestibilidade. A proporção das caseínas do leite apresenta importante relação com as características tecnológicas dos produtos lácteos, por serem estas as principais proteínas coaguláveis do leite. A produção de queijo baseia-se na liberação do domínio polar das κ -caseínas e consequente exposição das caseínas sensíveis ao cálcio (α_{S1} , α_{S2} , e β), aumentando, assim, a superfície hidrofóbica das micelas e favorecendo a sua coagulação (Moioli et al., 1998).

Apesar de se considerar os efeitos isolados dos genótipos para α_{S1} -caseína, sabe-se que as caseínas α_{S1} , β , α_{S2} e κ são codificadas, respectivamente, pelos genes CSN1S1, CSN2, CSN1S2 e CSN3 localizados em *cluster* no cromossomo 6 caprino (Rijnkels, 2002; Cozenza et al., 2003; Szymanowska et al., 2003; Ramunno et al., 2004). A possível interferência dos demais genótipos sobre as caseínas analisadas não pode ser quantificada, a menos que a análise genética abrangesse todo o haplótipo.

Segundo Szymanowska et al. (2003), a estreita relação de proximidade e similaridade desses genes pode influenciar sua herança comum, acompanhada apenas por pequenos fenômenos de recombinação. Ojala et al. (1997) relataram, em bovinos, os efeitos dos genótipos das caseínas κ , β e α_{S1} usando modelo estatístico de características múltiplas e verificaram que alguns genótipos isoladamente não influenciavam o conteúdo das proteínas do leite, mas, quando associados, apresentavam aumentos consideráveis. Os autores justificam esse fato como um forte indício da ocorrência de efeitos epistáticos entre os *loci* desses genes.

Nos genótipos estudados estão presentes alelos com níveis de expressão para α_{S1} -cn no leite de cabra descritos na literatura, sendo o alelo A de alta expressão de α_{S1} -cn e associado com o nível de 3,6 a 4,2g de α_{S1} -caseína/litro de leite, o alelo E de expressão intermediária com 1,6g de α_{S1} -caseína /litro de leite e o alelo F de baixa expressão com 0,6g de α_{S1} -caseína/litro de

leite (Mahé e Grosclaude, 1989; Ramunno et al., 2000; Neveu et al., 2002).

Nos genótipos homozigotos AA e EE, observaram-se os níveis de expressão de α_{S1} -cn de 6,44 e 2,13g/L de leite, respectivamente, podendo-se inferir que a expressão por alelo, nestes casos, foi de, respectivamente, 3,22 e 1,06g/L de leite.

Chanat et al. (1999), ao analisarem a morfologia das células epiteliais do tecido mamário de cabras com genótipos para produção intermediária (EE), baixa (FF) e nula (O) de α_{S1} -caseína, verificaram, para esses genótipos, aumento relativo de volume no retículo endoplasmático rugoso e em vesículas do complexo de Golgi, quando comparado à morfologia das células epiteliais para genótipos de alta expressão para α_{S1} -cn (AA), possivelmente, devido ao acúmulo das demais caseínas produzidas. Dessa forma, sugeriu-se uma disfunção no mecanismo de secreção das caseínas totais, dependente da participação da α_{S1} -cn, já que o mesmo acúmulo não foi observado em cabras com genótipos nulos para β -caseína (Chanat et al., 1999). A conclusão de que a α_{S1} -cn interfere no mecanismo de transporte das demais caseínas precisa de confirmação, pois Morgan et al. (2001), ao compararem a composição do leite de cabras homozigotas AA e FF, não observaram diferenças na quantidade absoluta das caseínas α_{S2} , β e κ , sendo as diferenças observadas nas proporções relativas, explicadas pela menor concentração de α_{S1} -cn no leite do genótipo FF.

Os animais do genótipo AA apresentaram os menores teores de κ -caseína, e este fato, associado ao maior percentual de α_{S1} -caseína, pode estar relacionado ao maior rendimento industrial atribuído ao leite dos animais desse genótipo.

No processamento industrial do leite, a κ -caseína tem papel fundamental pela sua efetiva participação no mecanismo de produção de queijos. Essa participação dá-se durante o processo de coagulação do leite devido à liberação do domínio polar das κ -caseínas, localizadas na parte externa das micelas, e consequente aumento da superfície hidrofóbica, diminuindo a repulsão entre elas e favorecendo a

precipitação (Moioli et al., 1998). Assim, o menor conteúdo de κ -caseína facilita a coagulação das micelas de caseína.

A avaliação do perfil de caseínas por cromatografia líquida de alta eficiência do leite das cabras dos genótipos estudados mostrou-se complementar à análise genética realizada previamente e forneceu

informações de grande valia tanto para a caracterização da composição do leite quanto de seu potencial efeito sobre as propriedades nutricionais, tecnológicas e terapêuticas do leite de cabra.

Na Tab. 3, são apresentados os dados obtidos para a avaliação da lipólise do leite.

Tabela 3. Produção de ácidos graxos livres (AGL) para avaliação do grau de lipólise do leite de cabras de diferentes genótipos para α_{S1} -caseína

Item	Genótipo					Fase da lactação		CV
	AA	EE	AE	AF	EF	1	2	
AGL (μ equiv/mL)	3,11a	3,22a	3,09a	3,16a	3,41a	3,14a	3,23a	27,50

Médias na mesma linha seguidas de letras distintas diferem a 5% de probabilidade pelo teste SNK

AA: homozigoto de alta produção; EE: homozigoto de produção intermediária; AE: heterozigoto de produção intermediária; AF: heterozigoto de produção intermediária; EF: heterozigoto de baixa produção. Fase 1: 21 dias de lactação; Fase 2: 100 dias de lactação.

Os genótipos não influenciaram ($P>0,05$) a taxa de lipólise no leite caprino, que também não sofreu influência da fase da lactação. A lipólise do leite pode ocorrer por ação de enzimas microbianas ou por ação de enzimas próprias do leite como a lipoproteína lipase (LPL). No leite de cabra, a atividade da LPL encontra-se mais relacionada ao processo de lipólise espontânea do que no leite de vaca. A maior afinidade dessa enzima aos glóbulos de gordura no leite de cabra e a forte ligação dela às micelas de caseínas do leite de vaca explicam, em parte, essas diferenças.

As diferenças de composição fazem com que as características lipolíticas, de desnate, consistência e sabor do queijo do leite de cabra apresentem variações entres os diferentes genótipos para α_{S1} -caseína.

De acordo com Chilliard et al. (2003), a lipólise no leite de cabra varia em razão da raça e do genótipo, estágio de lactação (menor no início e no final da lactação) e dieta (diminui em animais que recebem suplementos de óleos vegetais).

Na Tab. 4, são apresentados os dados obtidos para a avaliação da lipólise do leite.

Os tratamentos realizados no leite alteraram o seu grau de lipólise. Como esperado, não houve influência do tratamento térmico no grau de lipólise do leite, no entanto, o tratamento do leite mantido em geladeira por 24 horas resultou em valor de lipólise mais alto que no leite tratado no momento da ordenha. Os valores obtidos neste experimento foram mais altos que os relatados por Jandal (1995), ao submeter os leites de cabra e vaca a diferentes tratamentos térmicos.

Tabela 4. Produção de ácidos graxos livres (AGL) para avaliação do grau de lipólise no leite de cabra submetido a diferentes tratamentos

Item	Tratamento			
	1	2	3	4
AGL (μ equiv/mL)	2,85b	2,98b	3,57a	3,32a

Médias na mesma linha seguidas de letras distintas diferem a 5% de probabilidade pelo teste SNK

Trat 1: congelamento imediato após ordenha; Trat 2: aquecimento a 60°C por 30 minutos e congelamento; Trat 3: armazenamento em geladeira por 24h seguido de congelamento; Trat 4: armazenamento em geladeira por 24h seguido de aquecimento a 60°C por 30 minutos e congelamento.

CONCLUSÕES

A genotipagem de animais com diferentes alelos para o gene da α_{S1} -caseína permite a seleção de animais com produção total e frações de caseínas

diferenciadas; a fase da lactação não altera as características físico-químicas e de lipólise do leite de cabra e a refrigeração do leite por 24 horas aumenta o número de ácidos graxos livres no leite de cabra.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARBIERI, M.E.; MANFREDI, E.; ELSÉN, J.M. et al. Influence du locus de la caseine α_{S1} sur les performances laitières et les paramètres génétiques des chevres de RACE Alpine. *Genet. Sel. Evol.*, v.27, p.437-450, 1995.
- CHANAT, E.; MARTIN, P.; OLLIVIER-BOUSQUET, M. Alpha_(S1)-casein is required for the efficient transport of beta and kappa casein from the endoplasmic reticulum to the Golgi apparatus of mammary epithelial cells. *J. Cell Sci.*, v.112, p.3399-3412, 1999.
- CHILLIARD, Y. Caractéristiques biochimiques des lipides du lait de chèvre. Comparaison avec les laits de vache et humain. In: LE LAIT DE CHEVRE, UN ATOUT POUR LA SANTE, 1996, Niort, France. *Actes du Colloque...* Paris: INRA Editions, 1997. p.51-66. (Colloques de l'INRA, 81)
- CHILLIARD, Y.; FERLAY, A.; ROUEL, J. et al. A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis. *J. Dairy Sci.*, v.86, p.1751-1770, 2003.
- CLARK, S.; SHERBON, J.W. Alpha_{S1}-caseína, milk composition and coagulation properties of goat milk. *Small Rumin. Res.*, v.38, p.123-134, 2000.
- COZENZA, G.; ILLARIO, R.; RANDO, A. et al. Molecular characterization of the goat CSN1_{S1}⁰¹ allele. *J. Dairy Res.*, v.70, p.237-240, 2003.
- DEETH, H.C.; FITZ-GERALD, C.H.; WOOD, A. A convenient method for determining the extent of lipolysis in milk. *Aust. J. Dairy Technol.*, v.30, p.109-111, 1975.
- GROSCLAUDE, F.; MAHÉ, M.F.; BRIGNON, G. et al. Mendelian polymorphism underlying quantitative variations of goat α_{S1} -casein. *Genet. Sel. Evol.*, v.19, p.399-412, 1987.
- JANDAL, J.M. Some factors affecting lipase activity in goat milk. *Small Rumin. Res.*, v.16, p.87-91, 1995.
- JORDANA, J.; AMILLS, M.; ANGULO, C. et al. Gene frequencies of caprine α_{S1} -casein polymorphism in Spanish goat breeds. *Small Rumin. Res.*, v.20, p.215-221, 1996.
- MAGALHÃES, A.C.M. *Metabolismo proteico e energético e estudo ultra-estrutural da glândula mamária de cabras lactantes de diferentes genótipos para α_{S1} -caseína*. 2007. 117f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- MAHÉ, M.F.; GROSCLAUDE, F. α_{S1} -CN_D another allele associated with a decreased synthesis rate at the caprine α_{S1} casein locus. *Genet. Sel. Evol.*, v.21, p.127-129, 1989.
- MAHÉ, M.F.; GROSCLAUDE, F. Polymorphism of α -casein in the Creole goat of Guadeloupe: evidence for a null allele. *Genet. Sel. Evol.*, v.25, p.403-408, 1993.
- MARTIN, P. Polymorphisme génétique des lactoprotéines caprines. *Lait*, v.73, p.511-532, 1993.
- MARTIN, P.; OLLIVIER-BOUSQUET, M.; GROSCLAUDE, F. Genetic polymorphism of caseins: a tool to investigate casein micelle organization. *Int. Dairy J.*, v.9, p.163-171, 1999.
- MOATSOU, G.; SALOMADA, M.; PANAGIOTOU, P. et al. Casein fraction of bulk milks from different caprine breeds. *Food Chem.*, v.87, p.75-81, 2004.
- MOGNOL, G.P. *Deteção de alelo F do gene da α_{S1} -caseína em cabras leiteiras das raças Saanen e Alpina*. 2005. 47f. Monografia (Bacharel) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste), Cascavel.
- MOIOLI, B.; PILLA, F.; TRIPALDI, C. Detection of milk genetic polymorphism in order to improve dairy traits in sheep and goat: a review. *Small Rumin. Res.*, v.27, p.185-195, 1998.
- MORGAN, F.; MICAULT, S.; FAUQUANT, J. Combined effect of whey protein and α_{S1} -casein genotype on the heat stability of goat milk. *Int. J. Dairy Technol.*, v.54, p.64-68, 2001.
- NAMBA, V.; SOARES, M.A.M.; RODRIGUES, M.T. et al. Estimativa da frequência do alelo o do gene da α_{S1} -caseína em caprinos da raça Saanen. *Rev. Bras. Biociênc.*, v.6, supl.1, p.52-54, 2008.
- NEVEU, C.; RIAUBLANC, A.; MIRANDA, G. et al. Is the milk secretion process observed in the goat species rooted in the perturbation of the intracellular transport mechanism induced by defective alleles at the α_{S1} -CN locus? *Reprod. Nutr. Dev.*, v.42, p.163-172, 2002.

- NUTRIENT requirements of domestic animals; nutrient requirements of goats. Washington, D.C: National Academy of Science, 1981. 91p.
- OFFICIAL methods of analysis. 14.ed. Arlington: AOAC, 1984. 1141p.
- OJALA, M.; FAMULA, T.R.; MEDRANO, J.F. Effect of milk protein genotypes on the variation for milk production traits of Holstein and Jersey cows in California. *J. Dairy Sci.*, v.80, p.1776-1785, 1997.
- RAMUNNO, L.; COZENZA, G.; PAPPALARDO, M. et al. Identification of the goat CSN1_{S1}F allele by means of PCR-RFLP method. *Anim. Genet.*, v.31, p.342-343, 2000.
- RAMUNNO, L.; COZENZA, G.; RANDO, A. et al. The goat α_{s1} casein gene: gene structure and promoter analysis. *Gene*, v.334, p.105-111, 2004.
- RIJNKELS, M. Multispecies comparison of the casein gene loci and evolution of casein gene family. *J. Mammary. Gland Biol. Neopl.*, v.7, p.327-345, 2002.
- SANTOS, D.S.F. *Estudo do alelo E do gene da α_{s1} -caseína em cabras leiteiras das raças Saanen e Alpina*. 2005. 31f. Monografia (Bacharel) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste), Cascavel.
- SCHMIDELY, P.; MESCHY, F.; TESSIER, J. et al. Lactation response and nitrogen, calcium, phosphorus utilization of dairy goats differing by the genotype for α_{s1} -casein in milk, and fed diets varying in crude protein concentration. *J. Dairy Sci.*, v.85, p.2299-2307, 2002
- SOARES, M.A.M.; MARQUES, D.S.; RODRIGUES, M.T. et al. Identificação do alelo A do gene da α_{s1} -caseína caprina em um rebanho leiteiro. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 44., 2007, Jaboticabal. *Anais...Jaboticabal: UNESP, 2007*. (CD-ROM).
- SZYMANOWSKA, M.; STRZALKOWSKA, N.; SIADKOWSKA, E. et al. Effects of polymorphism at 5'-noncoding regions (promoters) of α_{s1} and α_{s2} casein genes on selected milk production traits in Polish Black and White cows. *Anim. Sci. Pap. Rep.*, v.21, p.97-108, 2003.
- TRUJILLO, A.J.; CASALS, I.; GUAMIS, B. Analysis of major caprine milk proteins by reverse-phase high-performance liquid chromatography and electrospray ionization-mass spectrometry. *J. Dairy Sci.*, v.83, p.11-19, 2000.