

Obata, C.M; Villas-Boas, M.B; Netto, F.M.
 Faculdade de Engenharia de Alimentos – Departamento de Alimentos e Nutrição - Unicamp – Campinas, SP.
 E-mail: ca.obata@gmail.com; flavia@fea.unicamp.br

Agências Financiadoras: CNPq/Fapesp

Palavras-chave: Protease - Solubilidade - Proteínas do soro do leite

INTRODUÇÃO

➤ Combinação dos tratamentos com a enzima transglutaminase (TG) e proteases
 ➡ diminui o potencial antigênico de proteínas

➤ Aplicado na β -lactoglobulina (β -Lg), proteína do soro de leite bovino

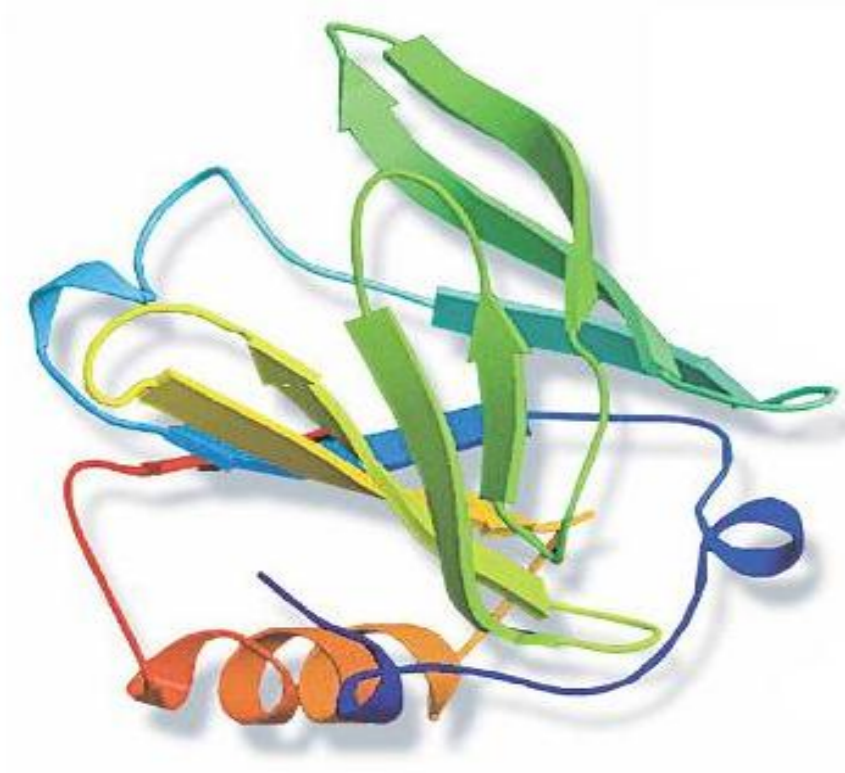


Figura1: Estrutura da β -Lg

➤ Para aplicação em sistemas alimentícios ➡ necessário avaliar as propriedades funcionais da proteína modificada.

➤ Solubilidade é uma importante propriedade funcional

OBJETIVOS

Avaliar a solubilidade da β -Lg polimerizada com TG na presença de cisteína e posteriormente hidrolisada com Alcalase, Neutrase ou bromelina, sob diferentes condições de pH.

MATERIAL E MÉTODOS

➤ Polimerização: β -Lg foi polimerizada (7% p/v em água destilada; 10 U TG g⁻¹ proteína, 50 °C/180 min) após tratamento térmico (TT) ou na presença de agente redutor Cys (0,1 mol L⁻¹).

➤ Hidrolisada com Alcalase, Neutrase ou bromelina (3% β -Lg p/v, 25 U enzima g⁻¹ de substrato, pH 7,5, 240 min).

➤ A solubilidade foi avaliada em pH 3,0, 5,0 ou 7,0, temperatura ambiente, por medida de absorbância a 280 nm.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

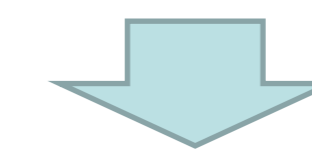
Tabela 1: Solubilidade da β -Lg nativa e polimerizada.

Amostra	Solubilidade (%)		
	pH 3,0	pH 5,0	pH 7,0
β -Lg	90,3 ± 1,0 ^{A,a}	86,4 ± 2,9 ^{A,a}	89,0 ± 3,8 ^{A,a}
β -Lg TT TG	4,4 ± 0,3 ^{A,b}	4,4 ± 0,2 ^{A,b}	3,6 ± 0,2 ^{B,b}
β -Lg Cys TG	23,7 ± 0,9 ^{A,a,b}	4,6 ± 0,2 ^{A,B,a,b}	36,7 ± 3,2 ^{A,C,a,b}

Valores são as médias de seis determinações; *Avaliados por método não paramétrico (pós-teste Kruskal-Wallis); valores de P < 0,05 foram considerados significativos. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna e letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística (P < 0,05)

✓ Após polimerização ➡ redução da solubilidade da proteína

✓ β -Lg TT TG (P<0,05) ➡ aproximadamente 4,0% de solubilidade nos três valores de pH estudados.



TG ➡ catalisa a formação de ligações covalentes γ - ϵ (Glutamil)lisil que pode levar à formação de agregados de alta massa molar, de difícil solubilização.

Tabela 2: Solubilidade da β -Lg nativa e β -Lg polimerizada pré hidrólise com diferentes proteases.

Amostra	Solubilidade (%)		
	pH 3,0	pH 5,0	pH 7,0
β -Lg	90,3 ± 1,0 ^{A, a,b,c}	86,4 ± 2,9 ^{A,a}	89,0 ± 3,8 ^{A,a,b}
β -Lg TT TG/Alcalase	82,3 ± 1,5 ^{A,a,d}	77,6 ± 0,2 ^{B,a,b}	81,0 ± 0,3 ^{A,B,a,c}
β -Lg TT TG/Neutrase	24,2 ± 1,0 ^{A,d}	19,6 ± 2,0 ^{B,b,c}	24,1 ± 0,1 ^{A,B,c}
β -Lg TT TG/bromelina	95,6 ± 0,3 ^{A,a}	22,0 ± 1,6 ^{B,b}	94,4 ± 1,2 ^{A,B,a}
β -Lg Cys TG/Alcalase	81,7 ± 0,2 ^{A,b,c,d}	79,2 ± 0,4 ^{A,B,a,d}	83,5 ± 0,4 ^{A,C,a,c}
β -Lg Cys TG/Neutrase	30,5 ± 1,4 ^{A,c,d}	19,7 ± 1,3 ^{A,B,b,c}	41,9 ± 3,2 ^{A,C,b,c}
β -Lg Cys TG/bromelina	88,3 ± 0,6 ^{A,a,c}	39,7 ± 0,2 ^{A,B,a}	89,9 ± 0,1 ^{A,B,a}

* Avaliados por método não paramétrico (pós-teste Kruskal-Wallis) e valores de P < 0,05 foram considerados significativos. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna e letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística (P < 0,05). Os valores são as médias de seis determinações.

✓ Após a hidrólise com Alcalase e com bromelina ➡ a solubilidade das amostras polimerizadas em pH 3,0 ou 7,0 foi maior que 80%



Clivagem resulta em diminuição do tamanho da molécula e aumento das cargas dos peptídeos.

✓ Amostras polimerizadas e hidrolisadas com Neutrase (em comparação à nativa) ➡ redução significativa de solubilidade (P<0,05).

- β -Lg TT TG/bromelina também apresentou diferença significativa da solubilidade em pH 5,0

- Ao contrário do que ocorreu em pH 3,0 e 7,0, em que se apresentou altamente solúvel (95,6% e 94,4%, respectivamente).

✓ pH 5,0 ➡ β -Lg Cys TG/Alcalase apresentou maior valor de solubilidade (79,2%), porém sem diferença estatística (P>0,05) da amostra nativa.



Devido à ampla especificidade, a Alcalase pode ter liberado peptídeos menores que a bromelina.

✓ Polímeros β -Lg TT TG ou β -Lg Cys TG hidrolisados com a mesma protease ➡ diferença estatística quanto à solubilidade, em todos os valores de pH estudados.

CONCLUSÃO

A hidrólise com bromelina ou Alcalase resultou em importante aumento da solubilidade da β -Lg polimerizada, o que pode viabilizar sua aplicação em alimentos.