



XXVI Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica 2022

Obtenção e purificação de peptídeos com propriedades antihipertensivas obtidos da caseína do leite de cabra ¹

Raíza Paiva Barbosa ²
Evaldo Cardoso de Souza Júnior ³

RESUMO

O leite de cabra é o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de animais da espécie caprina sadios, bem alimentados e descansados. A caseína é o principal componente proteico do leite, constituindo aproximadamente 80% da fração total de proteínas do leite. O controle dos parâmetros hidrolíticos da caseína do leite é uma etapa importante para se obter produtos com qualidade nutricional elevada, propriedades funcionais desejáveis e características organolépticas agradáveis ao consumidor. A caseína foi escolhida como fonte proteica na preparação de peptídeos com atividade anti-hipertensiva, onde serão obtidos por precipitação isoelétrica e submetida à hidrólise enzimática usando-se tripsina, papaina e pepsina em solução e imobilizadas em carvão ativado. O efeito do tipo de imobilização, tempo e relação enzima: substrato sobre o grau de hidrólise serão avaliados de acordo com um delineamento composto central rotacional (DCCR). Posteriormente, serão definidas as melhores condições de trabalho para a partição dos peptídeos em termos de massa molar de polímero, do tipo sal, da concentração de polímero e de sal e temperatura, também serão determinados dados de atividade do peptídeo, do fator de purificação e do coeficiente de partição do mesmo, em diferentes sistemas aquosos bifásicos.

PALAVRA CHAVE: Carvão, Hidrólise e Purificação.

Production and purification of peptides with antihypertensive properties obtained from goat milk casein¹

ABSTRACT

Goat milk is the product of complete, uninterrupted milking, under hygienic conditions, of healthy, well fed and rested goats. Casein is the main protein component of milk, constituting approximately 80% of the total milk protein fraction. The control of the hydrolytic parameters of milk casein is an important step to obtain products with high nutritional quality, desirable functional properties and pleasant organoleptic characteristics to the consumer. Casein was chosen as a protein source in the preparation of peptides with antihypertensive activity, where they will be obtained by isoelectric precipitation and submitted to enzymatic hydrolysis using trypsin, papain and pepsin in solution and immobilized on activated carbon. The effect of immobilization type, time and enzyme:substrate ratio on the degree of hydrolysis will be evaluated according to a central composite rotational design (DCCR). Subsequently, the best working conditions for peptide partitioning in terms of polymer molar mass, salt type, polymer and salt concentration and temperature will be

1: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia- FAPESB entidade financiadora da pesquisa.

2: Discente do Curso de Engenharia Ambiental da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia -UESB; E-mail: raizapaivabarbosa16@gmail.com.

3: Professor Adjunto da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia- UESB ; E-mail: evaldocsj@yahoo.com.br.

defined, also peptide activity data, purification factor and peptide partition coefficient will be determined in different aqueous biphasic systems.

KEYWORDS: Coal, Hydrolysis and Purification.

INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares são a principal causa de mortes no mundo, representando 32% dos óbitos em 2019, sendo que a hipertensão arterial é considerado uma condição de risco para o desenvolvimento dessas doenças (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2021; SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2013).

Por isso, quando diagnosticado a hipertensão como uma uma forma de tratamento as pessoas acometidas por essa condição passam a fazer o uso de antihipertensivas, com isso, a descoberta e obtenção de substâncias naturais com propriedades capazes de controlar a hipertensão é necessária para o auxílio dessas pessoas.

Com isso, as proteínas presentes no leite de cabra são compostas de aproximadamente 80 % de caseínas possuindo importantes propriedades para o combate de doenças degenerativas (PINHEIRO, 2012).

Com isso, se faz necessário a obtenção de peptídeos bioativos da caseína do leite de cabra com função anti-hipertensiva através da hidrólise enzimática utilizando enzimas digestivas em solução e imobilizadas em carvão ativado e também avaliar a partição dos peptídeos em sistemas aquosos bifásicos.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Engenharia de Processos (LEP) na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) no campus Juvino Oliveira em Itapetinga-BA.

As caseínas do leite de cabra foram obtidas segundo metodologia de Egito et al. (2006). Após coletadas as amostras foram imediatamente acondicionadas e mantidas a -20°C . O leite foi centrifugado a 2100 g por 30 min a 32°C , a caseína total foi preparada por precipitação solução de HCl, sendo o precipitado solubilizado com solução de NaOH e dialisado com água deionizada a 4°C , após isso as soluções de caseína foram liofilizadas.

Os caroços de cajá foram lavados em água corrente, secas em estufa a 105°C por 24 h, triturados em moinho e peneirados em uma peneira de $420\ \mu\text{m}$, após isso, o precursor do carvão foi impregnado com ácido fosfórico na razão mássica de 3:1 e carbonizado em forno mufla a temperatura final de 500° (taxa de aquecimento de $5^{\circ}\text{C}\ \text{min}^{-1}$) por 1 hora sob fluxo de nitrogênio ($50\ \text{mL}\ \text{min}^{-1}$). O carvão ativado obtido foi lavado com água aquecida e agitada por períodos de 30 min no agitador orbital fazendo a troca desta água até atingir pH 7,0, ao alcança-lo o carvão foi seco e armazenado em embalagem hermética.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O carvão ativado possui uma superfície porosa sendo capaz de adsorver moléculas em fase gasosa ou líquida, permitindo assim um maior sítio para a ligação das proteínas, além de permitir que uma maior quantidade de braços espaçadores se liguem a superfície durante a funcionalização (SANTOS et al., 2020; SOUZA Jr, 2019).

1: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia- FAPESB entidade financiadora da pesquisa.

2: Discente do Curso de Engenharia Ambiental da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia -UESB; E-mail: raizapaivabarbosa16@gmail.com.

3: Professor Adjunto da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia- UESB ; E-mail: evaldocsj@yahoo.com.br.

O carvão funcionalizado quando comparado ao carvão ativado tende a apresentar uma menor superfície porosa, pois será fixado os braços espaçadores que irão obstruir os poros diminuindo assim a área superfície (RAMANI et al, 2012). A imobilização da pepsina será feita pelo método da adsorção, usando o carvão ativado, e por ligação covalente, usando o carvão funcionalizado, para que possa avaliar a influência do tipo de imobilização. Após será realizado diversas lavagens para que assim possa-se avaliar qual método necessita de um maior número de lavagem para remover as enzimas não ligadas. Segundo dados obtidos por Matheus Pereira Flores Santos (2018) o método de ligação covalente necessita de menos lavagens por possuir maior força de ligação.

A atividade da pepsina será avaliadas para diferentes tempos de hidrólise, em sua forma livre e imobilizada. A enzima na forma livre tende a ter maiores valores de atividade e se manter quase constante, isso se dar, pelo fato dela possuir uma maior mobilidade. Contudo, as enzimas imobilizadas terão um crescimento da sua atividade com o aumento do tempo da hidrólise (SANTOS, 2018).

CONCLUSÕES

Não foi possível terminar a pesquisa no tempo estipulado, por isso, ela será continuada para que assim obtenha-se os resultados necessários para avaliar a funcionalidade do carvão na obtenção e purificação de peptídeos. No entanto, de acordo os estudos realizados por Evaldo Cardoso de Souza Júnior, 2019, ambos os métodos de imobilização devem-se comprovarem eficientes, porém, a atividade proteolítica das pepsinas imobilizadas por ligação covalente apresenta melhor resultado que a da imobilizada por adsorção e o carvão ativado funcionalizado um potencial suporte na imobilização de enzimas.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a FAPESB por me proporcionar a oportunidade de adquirir novos conhecimentos através da iniciação científica. Ao meu orientador por me selecionar e por está sempre presente para nos auxiliar. Agradeço também aos outros orientados pelo companheirismo e aos outros estudantes que fazem parte do Laboratório de Engenharia de Processos (LEP) por sempre estarem dispostos a sanar nossas dúvidas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- PINHEIRO, Janeto Gurguel. **CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE CAPRINO NA ÉPOCA SECA E CHUVOSA NA MICRORREGIÃO DE MOSSORÓ-RN**. Mossoró, 2012.
- RAMANI, K.; KARTHIKEYAN, S.; BOOPATHY, R.; KENNEDY, L.; MANDAL, A.B.; SEKARAN, G. Mesoporous activated carbon surface functionalized for the immobilization of lipase and its application acidic hydrolysis waste oil prepared: Isotherm and kinetic studies. **Process Biochemistry**, v.47, p.435-445, 2012.
- SANTOS, M. P. F., SILVA, J. F., FONTAN, R. C. I., BONOMO, R. C. F., SANTOS, L. S., VELOSO, C. M. New insight about the relationship between the main characteristics of precursor materials and activated carbon properties using multivariate analysis. **Canadian Journal of Chemical Engineering**. 98 :1501–1511, 2020.

1: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia- FAPESB entidade financiadora da pesquisa.
2: Discente do Curso de Engenharia Ambiental da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia -UESB; E-mail: raizapaivabarbosa16@gmail.com.
3: Professor Adjunto da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia- UESB ; E-mail: evaldocsj@yahoo.com.br.

Santos, M. P. F. **Carvão ativado: influência das características químicas do precursor de carbono nas suas propriedades e aplicação na imobilização da pepsina.** Itapetinga: UESB, 2018.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. **I Diretriz Brasileira De Prevenção Cardiovascular.** ISSN-0066-782X, volume 101, Nº 6, Supl. 2, Dezembro 2013.

SOUZA Jr, E. C. de. **Biocatalisadores produzidos pela imobilização de proteases em carvões ativados e sua aplicação na hidrólise de caseína para obtenção de peptídeos com propriedades anti-hipertensivas.** Itapetinga-BA: UESB, 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Doenças cardiovasculares (DCV).** 2021.

Disponível em: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)). Acesso em: 01 de outubro de 2022.

1: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia- FAPESB entidade financiadora da pesquisa.
2: Discente do Curso de Engenharia Ambiental da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia -UESB;
E-mail: raizapaivabarbosa16@gmail.com.
3: Professor Adjunto da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia- UESB ; E-mail: evaldocsj@yahoo.com.br.