

OBTENÇÃO E PURIFICAÇÃO DE PEPTÍDEOS COM PROPRIEDADES ANTI HIPERTENSIVAS OBTIDOS DA CASEÍNA DO LEITE DE CABRA¹

Raíza Paiva Barbosa², Evaldo Cardoso de Souza Júnior³

RESUMO

As doenças cardiovasculares são a principal causa de mortes no mundo, representando 32% dos óbitos em 2019, tendo como tratamento o uso de anti-hipertensivas. A caseína é o principal componente proteico do leite, constituindo aproximadamente 80% da fração total de proteínas do leite, possuindo propriedades para o combate de doenças degenerativas. A caseína do leite de cabra foi obtida segundo metodologia de Egito et al. (2006). Para a obtenção do carvão ativado os caroços foram lavados, secos (105oC por 24 h), triturados e peneirados (420 µm), impregnado com ácido fosfórico, carbonizado em forno mufla a temperatura final de 500o C e depois lavados e agitados até atingir pH 7,0. O carvão ativado possui uma superfície porosa sendo capaz de adsorver moléculas em fase gasosa ou líquida, contudo, o carvão funcionalizado tende a apresentar uma menor superfície porosa. A fim de determinar a influência da imobilização, avaliou-se o método da adsorção, usando o carvão ativado, e o método da ligação covalente, usando o carvão funcionalizado.

PALAVRAS CHAVE: Carvão, Hidrólise e Purificação.

PRODUCTION AND PURIFICATION OF PEPTIDES WITH ANTIHYPERTENSIVE PROPERTIES OBTAINED FROM GOAT MILK CASEIN1

ABSTRACT

Cardiovascular diseases are the main cause of deaths in the world, representing 32% of deaths in 2019, with the use of antihypertensive drugs as treatment. Casein is the main protein component of milk, constituting approximately 80% of the total protein fraction in milk, having properties to combat degenerative diseases. Casein from goat's milk was obtained according to the methodology of Egito et al. (2006). To obtain activated carbon, the seeds were washed, dried (105oC for 24 h), crushed and sieved (420 µm), impregnated with phosphoric acid, carbonized in a muffle furnace at a final temperature of 500o C and then washed and stirred until reaching pH 7.0. Activated carbon has a porous surface and is capable of adsorbing molecules in the gas or liquid phase, however, functionalized carbon tends to have a smaller porous surface. In order to determine the influence of immobilization, the adsorption method was evaluated, using activated carbon, and the covalent bond method, using functionalized carbon.

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 diagnosticada a hipertensão como uma forma de tratamento às pessoas acometidas por essa condição passam a fazer o uso de anti-hipertensivas, 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

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

²Discente 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.

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. **Obtenção da caseína do leite de cabra**

A caseína do leite de cabra foi obtida 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.

Obtenção do carvão ativado

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°C (taxa de aquecimento de $5^{\circ}\text{C min}^{-1}$) por 1 hora sob fluxo de nitrogênio (50mL 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 alcançá-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).

O carvão funcionalizado quando comparado ao carvão ativado tende a apresentar uma menor superfície porosa, pois será fixado nos 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 se 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 avaliada 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 dá, 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

O caroço de cajá surge como um material precursor promissor para a fabricação de adsorventes destinados a serem empregados em processos de separação e purificação de enzimas proteolíticas. Nesse contexto, é crucial considerar que o método de imobilização desempenha um papel determinante na influência sobre o rendimento, relação custo-benefício e eficiência desses processos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

EGITO, A. S. et al. Método eletroforético para detecção de adulteração do leite caprino com leite bovino. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 58, n. 5, p. 932-939, 2006.

PINHEIRO, Janeto Gurguel. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE CAPRINO NA ÉPOCA SECA E CHUVOSA NA MICRORREGIÃO DE MOSSORÓ- RN. Mossoró, 2012.

RAMANI, K. et al. 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.

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.