

HIDRÓLISE DE PLASMA SUÍNO COM ALCALASE E PEPSINA E AVALIAÇÃO DA MASSA MOLECULAR DOS PEPTÍDEOS OBTIDOS UTILIZANDO A TÉCNICA DE ELETROFORESE EM GEL DE POLIACRILAMIDA (SDS-PAGE).

Eduarda Baggio Paglia¹, Cristine Vogel², Liziane Schittler Moroni³, Aniela Pinto Kempka⁴

¹ Acadêmica do Curso de Engenharia Química (CEO).

² Acadêmica do Curso de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos (CEO)

³ Pesquisador participante, Departamento de Engenharia de Alimentos e Engenharia Química (CEO)

⁴ Orientador, Departamento de Engenharia de Alimentos e Engenharia Química (CEO) –

aniela.kempka@udesc.br

Palavras-chave: Eletroforese. Massa molecular. Endopeptidases.

Hidrolisados são produtos obtidos por meio proteínas clivadas através de reações de despolimerização, denominadas hidrólise, resultando em peptídeos de diversos tamanhos e aminoácidos com menores massas moleculares. Nas reações de hidrólise, ocorre uma alteração no número de grupos ionizáveis e exposição de grupos hidrofóbicos que estavam contidos na estrutura inicial da proteína. Existem diversos métodos para realização desta reação, como a hidrólise ácida, a hidrólise alcalina e hidrólise enzimática. O uso de enzimas para a obtenção de hidrolisados tem sido cada vez mais escolhido devido à reação preservar os aminoácidos com valores nutricionais importantes, dessa forma permitindo a obtenção de substâncias específicas para determinadas aplicações. De uma maneira geral a hidrólise de proteínas tem como principais objetivos alterar as propriedades funcionais e produzir aminoácidos e pequenos peptídeos. O processo enzimático é mais simples, eficiente e rápido, permitindo o controle do processo, ocasionando a obtenção de produtos com melhores propriedades. Os hidrolisados proteicos contribuem no melhoramento de propriedades funcionais, podendo ser aplicados em produtos alimentícios, além de possuírem diversos efeitos benéficos para a saúde humana. Inúmeras fontes podem ser utilizadas como substrato para a hidrólise enzimática. Atualmente têm-se estudado a utilização de resíduos industriais com alto teor proteico. O sangue animal, subproduto agroindustrial, se descartado como resíduo, contribui com um alto potencial contaminante, entretanto devido seu teor de proteínas elevado fracionado, e suas frações (plasma e hemácia), pode ser hidrolisado através de proteases. As enzimas utilizadas para realizar a hidrólise de proteínas são denominadas proteases, como bromelina, tripsina, neutrase e enzimas comerciais como a Alcalase® (produzida pela fermentação submersa do microrganismo *Bacillus licheniformis*) e Pepsina (extraída da mucosa gástrica de animais, como suínos). Este trabalho teve como objetivo obter hidrolisados proteicos utilizando como matéria-prima o plasma suíno e determinar o tamanho dos peptídeos obtidos por meio de eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE). A eletroforese se baseia na separação de proteínas através de forças eletroforéticas e eletroosmóticas, possuindo dois polos com cargas distintas (ânodo – negativo e cátodo-positivo) promovendo uma diferença de potencial que gera a migração das proteínas em direção ao ânodo. Essa migração varia de acordo com a massa molecular e a carga elétrica, assim diferentes bandas são geradas. Essas frações que são separadas podem ser observadas a partir de

corantes sensíveis às proteínas. A taxa de migração é afetada por fatores como pH, força iônica e composição do sistema tampão usado. Para realização da técnica, os hidrolisados foram obtidos após hidrólise enzimática utilizando duas proteases, Pepsina e Alcalase®, sob condições ótimas/específicas relacionadas a concentração enzima/substrato, pH, temperatura, agitação do meio e tempo de hidrólise. As amostras foram aplicadas em gel na concentração de 5 mg.ml^{-1} , com gradiente de poliacrilamida de 4-15% e o marcador de massa molecular de ultrabaixo alcance (1.060–26.600 kDa) foi utilizado. Após os géis foram corados com *blue de Coomassie*. Os resultados obtidos, mostrados nas Figuras 1 e 2, demonstraram que a enzima Pepsina produziu extensas bandas de frações peptídicas de baixa massa molecular ($<3,5 \text{ kDa}$), mostrando um acúmulo de peptídeos de baixa massa molecular no final do gel. Os hidrolisados obtidos nos tempos 15 min, 30 min, 60 min, 90 min e 120 min de reação, mostraram uma ordem decrescente quanto ao tamanho dos fragmentos formados com o decorrer do tempo, ou seja, quanto maior o tempo de hidrólise, menor os peptídeos formados pela Pepsina. A Alcalase® produziu frações peptídicas de maior massa molecular quando comparadas com a Pepsina, mostrando bandas acima do padrão de 26,6 kDa, e evidenciando a diferença na ação de endopeptidases aplicadas ao mesmo substrato. Estudos mais aprofundados devem ser realizados com ambas as enzimas, para caracterizar o hidrolisado produzido e posteriormente determinar suas aplicações comerciais.

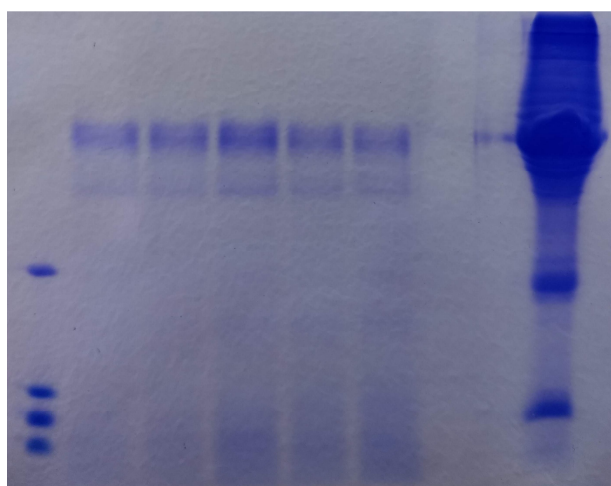


Fig.1 Bandas resultantes da eletroforese do plasma hidrolisado com Alcalase

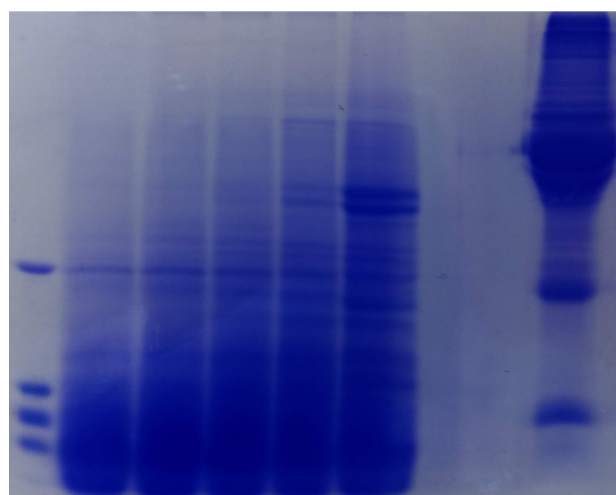


Fig.2 Bandas resultantes da eletroforese do plasma hidrolisado com Pepsina