

IMPACTO DA FERMENTAÇÃO E DIGESTÃO *IN VITRO* NA DEGRADAÇÃO DA β -CASOMORFINA-7 EM LEITE¹

Eduarda Degani Araújo², Aniela Pinto Kempka³, Leandra Oliveira Xavier Albiero⁴, Rafaela Ansiliero⁵, Gustavo Felipe da Silva⁶

¹ Vinculado ao projeto “Peptídeos encriptados de subprodutos agroindustriais: caracterização, desenho e atividades biológicas *in silico* e *in vitro*”

² Acadêmica do Curso de Engenharia Química – CEO – Bolsista PIVIC.

³ Orientador(a), Departamento de Engenharia de Alimentos e Engenharia Química – CEO –

aniela.kempka@udesc.br

⁴ Mestranda do Programa Multicêntrico de Pós-graduação em Bioquímica e Biologia Molecular – CAV.

⁵ Doutoranda do Programa Multicêntrico de Pós-graduação em Bioquímica e Biologia Molecular – CAV.

⁶ Pesquisador - CAV.

A β -casomorfina-7 (BCM-7), um peptídeo bioativo derivado da digestão da β -caseína A1, tem atraído atenção crescente devido à sua associação com efeitos adversos à saúde, como inflamação, distúrbios gastrointestinais e possíveis implicações em doenças neurológicas. A busca por estratégias que reduzam a liberação desse peptídeo durante a digestão de produtos lácteos é de grande relevância para o desenvolvimento de alimentos funcionais mais seguros e saudáveis. Este estudo investigou o impacto de fermentados de leite integral e desnatado com *Lactocaseibacillus casei* LBC 237 e *Lactobacillus fermentum* 433 seguidos da digestão *in vitro* na liberação da β -casomorfina-7 (BCM-7). As fermentações foram realizadas separadamente utilizando *L. casei* LBC 237 e *L. fermentum* 433. Os leites em pó integral e desnatado foram reconstituídos, esterilizados e inoculados com 1% do inóculo bacteriano. As fermentações ocorreram a 37°C por 16 horas. Após esse período, as amostras foram centrifugadas para remover as células bacterianas. A digestão *in vitro* foi realizada em duas fases: gástrica e intestinal. Na fase gástrica, 50 mL de leite fermentado foram misturados com 50 mL de solução gástrica simulada (HCl e pepsina, pH 1,3) e incubados a 37°C por 60 minutos. Em seguida, a mistura foi neutralizada em banho-maria. Na fase intestinal, 50 mL do extrato gástrico foram combinados com 15 mL de solução intestinal (pancreatina e solução eletrolítica, pH 6,8), incubados a 37°C por 120 minutos e liofilizados. O teste ELISA foi utilizado para detectar a contaminação de β -caseína A1 nos fermentados antes e após a digestão. As amostras foram submetidas à análise com placas de poliestireno revestidas com 96 μ L de tampão de revestimento e 4 μ L das amostras previamente diluídas em NaOH (1:10). As placas foram incubadas a 4°C durante a noite, bloqueadas com 200 μ L de tampão de bloqueio com 1% de BSA em PBS a 37°C por 1 hora, e posteriormente o anticorpo anti- β -caseína A1 IgY foi diluído e adicionado às placas, seguido de incubação por 45 minutos a 37°C. Após lavagens com tampão de lavagem, foi adicionado o anticorpo secundário anti-IgY-HRP, incubado por 45 minutos. A reação foi desenvolvida com 50 μ L de substrato TMB e interrompida com 50 μ L de H₂SO₄, com leitura de absorbância a 450 nm. Os testes ELISA mostraram que, antes da digestão, as amostras de fermentado apresentavam absorbância entre 0,196 e 0,210. Após a digestão *in vitro*, esses valores reduziram, variando de 0,70 a 0,75. Embora a digestão tenha diminuído a concentração de BCM-7, as fermentações com *L. casei* e *L. fermentum* não resultaram em degradação adicional da β -caseína, comparada às amostras não fermentadas. A redução da BCM-7 após a digestão *in vitro* pode ser atribuída à

ação enzimática, que cliva as ligações peptídicas da β -caseína. No entanto, a fermentação com *L. casei* LBC 237 e *L. fermentum* 433 não apresentaram um efeito expressivo na degradação da BCM-7. Isso sugere que as condições de fermentação, como pH, temperatura e especificidade enzimática, não foram suficientes para potencializar a degradação da BCM-7 nas amostras fermentadas. O estudo encontra-se em andamento e está avaliando novas estratégias que envolvem a associação de enzimas para potencializar a degradação da β -casomorfina-7 (BCM-7) em produtos lácteos.

Palavras-chave: Fermentação láctea. Digestão *in vitro*. β -casomorfina-7.