



## Aplicação da enzima Transglutaminase para aumentar a estabilidade das proteínas lácteas com a perspectiva de aplicação em produtos UHT

Camilla Giacometti, Alisson Borges, Guilherme M. Tavares.

### Resumo

O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da aplicação da enzima transglutaminase (TGase) na estabilidade proteica do leite para potenciais aplicações em produtos submetidos a tratamentos UHT. A TGase pode catalisar a formação de ligações covalentes intramicelares entre as caseínas, impedindo a degradação de sua estrutura supramolecular. Como a manutenção da estrutura da micela de caseína é apontada como o principal fator para garantir a estabilidade do leite submetido a tratamentos UHT, este estudo buscou avaliar condições de reticulação da micela de caseína para permitir a manutenção da sua estrutura e que fossem minimamente adequadas para realização previamente ao processamento UHT do leite.

**Palavras-chave:** micelas de caseína, transglutaminase, reticulação, tratamento UHT.

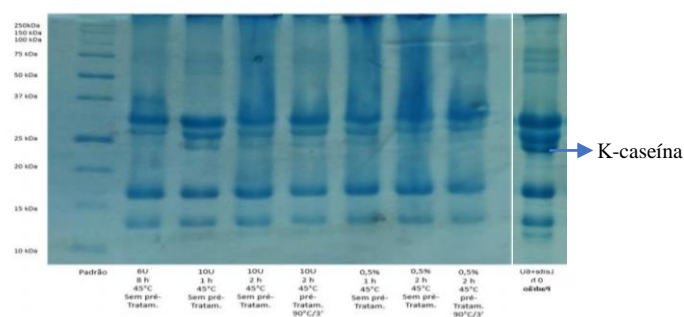
### Introdução

Apesar de promover a segurança microbiológica do leite e prolongar sua vida de prateleira, uma grande limitação do processamento UHT está ligada à desestabilização de proteínas durante o processo e a estocagem. A estabilidade das caseínas é especialmente afetada pelo processo UHT, uma vez que ele pode induzir a saída da  $\kappa$ -caseína da estrutura micelar, o que reduz a repulsão entre as micelas, tornando-as mais propensas à agregação, que pode levar à ocorrência de sedimentação proteica em produtos lácteos UHT.

A principal estratégia utilizada pela indústria para estabilizar as proteínas é a adição de sais quelantes que, no entanto, tem sido questionada frente a tendência de produtos *clean label* e com reduzido teor de sódio. Neste contexto, a aplicação da enzima TGase é apontada como uma alternativa para garantir a estabilidade das proteínas, uma vez que ela pode catalisar a formação de ligações covalentes intramicelares entre as caseínas, impedindo a degradação da estrutura micelar<sup>1</sup>.

### Resultados e discussão

As amostras foram preparadas utilizando leite em pó desnatado e visando teor de proteína total de 3%. O processo de reticulação foi realizado com concentrações de enzima de 3, 6, 8, 10 e 12U/g de proteína e tempo de aplicação entre 1h e 24h. As amostras foram incubadas a 45°C ou a 8°C. Foi realizada análise de eletroforese em gel de poliácridamida em condição redutora (Figura 1).



**Figura 1.** Eletroforese em gel de SDS-poliácridamida das amostras submetidas aos diferentes tratamentos enzimáticos.

Pode-se observar na Figura 1 que há aumento da concentração de proteínas de maiores tamanhos, entre 25 e 250 kDa, e verifica-se também que a banda do gel correspondente a  $\kappa$ -caseína torna-se menos evidente, principalmente nos tratamentos com altas concentrações enzimáticas à 45°C.

Assim, o desaparecimento da banda da  $\kappa$ -caseína em conjunto com o aumento da concentração de proteínas de maiores tamanhos indica que houve reticulação entre a  $\kappa$ -caseína e demais proteínas do leite, formando estruturas proteicas maiores.

A Tabela 1 mostra os resultados da análise de distribuição dos tamanhos das partículas para os tratamentos enzimáticos indicados como mais promissores na eletroforese.

**Tabela 1.** Diâmetro hidrodinâmico (Dh) das partículas contidas nas amostras e diluídas em citrato de sódio 100mM. A população majoritária está destacada em vermelho.

| Tratamento         | População 1 |          |             | População 2 |          |             | População 3 |          |             |
|--------------------|-------------|----------|-------------|-------------|----------|-------------|-------------|----------|-------------|
|                    | Dh (nm)     | % Volume | St dev (nm) | Dh (nm)     | % Volume | St dev (nm) | Dh (nm)     | % Volume | St dev (nm) |
| Controle + água    | 240,5       | 100      | 105,0       | -           | -        | -           | -           | -        | -           |
| Controle + citrato | 50,12       | 64,7     | 14,43       | 392,9       | 19,3     | 148,8       | 5457        | 15,9     | 636,2       |
| 0,5% 1h + citrato  | 48,86       | 9,7      | 11,04       | 145,2       | 45,2     | 45,12       | 379,2       | 45,1     | 140,5       |
| 0,5% 2h + citrato  | 46,14       | 27,0     | 11,01       | 290,7       | 73,0     | 151,9       | -           | -        | -           |
| 10U 2h + citrato   | 49,91       | 8,6      | 10,33       | 136,0       | 33,9     | 36,43       | 348,2       | 47,6     | 141,5       |

Pode-se observar que todas as amostras submetidas a tratamentos enzimáticos apresentaram populações majoritárias semelhantes à observada na amostra controle diluída em água destilada, indicando presença de um maior volume de partículas em torno de 200 nm, que corresponde ao diâmetro hidrodinâmico médio das micelas de caseína. Esse comportamento indica que, após os tratamentos enzimáticos analisados, as partículas estão mantendo o tamanho da micela em sua condição natural, mesmo na presença de agentes sequestrantes capazes de desestabilizá-la (citrato de sódio). Este fato indica o fortalecimento das ligações intramicelares envolvendo a  $\kappa$ -caseína, o que é corroborado pelos resultados obtidos na eletroforese.

### Conclusão

Observou-se, entre os tratamentos testados, que o processo de reticulação minimamente mais adequado no contexto do processamento UHT deve ser conduzido a 45 °C e no nível de 10U/g de caseína para redução no tempo de reticulação. Como perspectiva para este trabalho, permanece a validação do comportamento das micelas de caseína reticuladas frente ao processamento UHT.

### Agradecimentos

CNPq e CAPES

<sup>1</sup>Nogueira, M.H., Tavares, G.M., Silva, N.F.N., Casanova, F., Stringheta, P.C., Gaucheron, F., Teixeira, A.V.N.C., Perrone, I.T., Carvalho, A.F. Food Structure, 2019. 19: p. 1-6.