



## Modificações estruturais nas proteínas do soro do leite induzidas por homogeneização de alta pressão

Jamile F. Leonardo, Danilo C. Vidotto, Guilherme M. Tavares



### Resumo

As proteínas do soro do leite apresentam propriedades tecnofuncionais diretamente relacionadas com suas estruturas proteicas, as quais podem ser modificadas quando submetidas ao tratamento de homogeneização a alta pressão. A exposição dos grupos reativos proteicos promovida pelo tratamento pode, por exemplo, favorecer interações hidrofóbicas entre as proteínas e compostos bioativos. Por isso, foi avaliado como os parâmetros de concentração proteica, número de ciclos e intensidade de pressão impactavam na hidrofobicidade superficial e tamanho das proteínas. Foi observado que as amostras de  $\beta$ -lactoglobulina ( $\beta$ -LG) são mais sensíveis a homogeneização a alta pressão quando comparadas com o isolado proteico de soro de leite (WPI), uma vez que o tratamento impactou significativamente tanto seus grupos sulfidrila livre superficiais e totais como sua hidrofobicidade de superfície. Nota-se ainda que o aumento da concentração proteica sugere um aumento do tamanho da estrutura da proteína por perturbar as interações que participam na estabilização da estrutura nativa.

**Palavras-chave:** proteínas do soro do leite, homogeneização à alta pressão, modificações estruturais.

### INTRODUÇÃO

As proteínas do soro apresentam propriedades tecnofuncionais como a alta solubilidade, capacidade emulsificante, espessante, gelificante e de modificação de textura, as quais são de interesse no processamento de alimentos<sup>1</sup>. A  $\beta$ -LG (18,3 kDa) representa aproximadamente 50% do WPI. Sua estrutura nativa é estabilizada por ligações dissulfeto e apresenta um grupo sulfidrila livre não exposto e uma cavidade hidrofóbica intacta (calix), o que a conferem alta capacidade reativa<sup>1</sup>. Além das características intrínsecas das moléculas de proteínas, outros fatores extrínsecos, como a concentração de proteína na solução e a intensidade do tratamento aplicado também podem influenciar sua estrutura e propriedades funcionais. Com isso, o estudo do tratamento de homogeneização a alta pressão faz-se necessário, uma vez que é um tratamento emergente, o qual pode promover alterações físico-químicas e conformacionais que resultariam em alterações de suas propriedades<sup>1</sup>. Tais alterações poderiam ser, por exemplo, exploradas para permitir a ligação das proteínas com compostos bioativos, aumentando sua estabilidade em alimentos formulados.

### MATERIAIS E MÉTODOS

As fontes proteicas utilizadas foram o WPI comercial e a  $\beta$ -LG isolada a partir do WPI pelo método de *salting out*. As amostras foram reidratadas em água Milli-Q nas concentrações de 20 e 50 g/L e então submetidas ao tratamento de homogeneização às pressões de 600 e 1200 bar, por 12 e 20 ciclos. As modificações estruturais das proteínas foram caracterizadas pela determinação da hidrofobicidade superficial, quantificação dos grupos sulfidrila livres superficiais e totais e pela cromatografia de exclusão de tamanho.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### Hidrofobicidade de superfície (HS)

Nas amostras de WPI não foram observadas alterações significativas na HS ( $P < 0,05$ ). Já para as amostras de  $\beta$ -LG constatou-se um aumento na HS com o aumento da intensidade do tratamento para as amostras a 20 g/L, o que sugere um desdobramento da estrutura proteica.

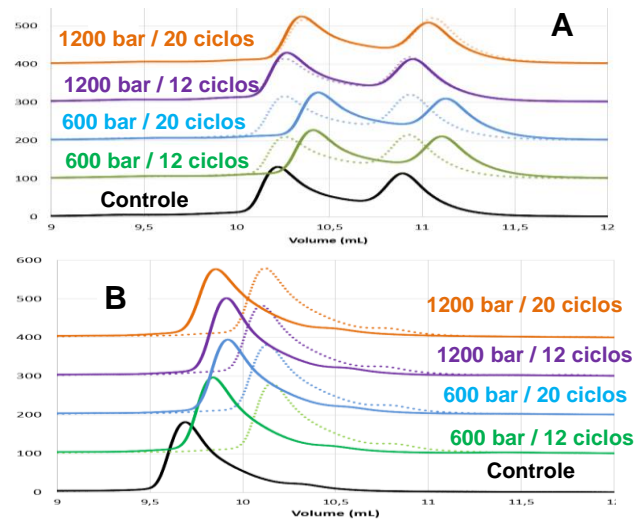
#### Grupos sulfidrila livres superficiais e totais

A concentração dos grupos sulfidrila livres superficiais na amostra de WPI aumentou em relação às amostras sem tratamento, o que pode ser justificado pela exposição dos grupos SH livres da  $\beta$ -LG. Já o aumento dos grupos SH livres totais pode ser explicado pelo possível rompimento de ligações dissulfeto.

Para as amostras de  $\beta$ -LG, não houve alteração significativa na concentração de grupos SH superficiais, diferentemente da diminuição observada para os grupos SH totais, o que pode ser justificado pela formação de ligações dissulfeto.

#### Cromatografia de exclusão de tamanho (SEC)

Nas amostras de WPI, o primeiro pico do cromatograma (Figura 2A) representa a  $\beta$ -LG (18,3 kDa) e o segundo a  $\alpha$ -LA (14,2 kDa). Em todas amostras tratadas, foi observado um deslocamento do pico da curva para a direita do gráfico em relação ao controle, o que significa que suas moléculas ficaram retidas na coluna por mais tempo, em consequência da redução no tamanho das estruturas proteicas. Já a amostra de  $\beta$ -LG sem tratamento (Figura 2B) ficou retida por 9,6 minutos, enquanto as amostras com maior concentração proteica apresentaram um deslocamento do pico do cromatograma para a esquerda, o que indica um aumento do tamanho da estrutura proteica. Esse aumento da estrutura proteica sugere, no entanto, a prevalência de rearranjo estrutural, sem formação de agregados.



**Figura 1.** Cromatogramas de SEC para (A) WPI e (B)  $\beta$ -LG. Curva contínua: 50 g/L. Curva tracejada: 20 g/L.

### CONCLUSÃO

Conclui-se que as amostras de  $\beta$ -LG são mais sensíveis a homogeneização a alta pressão quando comparadas com o WPI. Embora mais estudos sejam necessários, os tratamentos indicam potencial aplicação no desenvolvimento de novos produtos alimentícios, já que as estruturas proteicas formadas propiciam novas interações hidrofóbicas.

### AGRADECIMENTOS

Grupo de pesquisa “Propriedades Tecnológicas e Funcionais de Proteínas Alimentares”, CNPq e CAPES