

PEPTÍDEOS BIOATIVOS DE PLASMA SUÍNO: CARACTERIZAÇÃO E POTENCIAL DE INIBIÇÃO DAS ENZIMAS DIGESTIVAS α -AMILASE E α -GLUCOSIDASE¹

Nathana Zamboni Barilli², Aniela Pinto Kempka³, Cristine Vogel⁴, Eduarda Baggio Paglia⁵.

¹ Vinculado ao projeto “Hidrólise mecânica e enzimática de proteínas para obtenção de peptídeos bioativos”

² Acadêmico (a) do Curso de Engenharia Química – CEO – Bolsista PROBIC

³ Orientador, Departamento de Engenharia de Alimentos e Engenharia Química – CEO – aniela.kempka@udesc.br

⁴ Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos – CEO

⁵ Acadêmico (a) do Curso de Engenharia Química – CEO.

O uso de subprodutos agroindustriais associado ao uso de enzimas, tem se mostrado muito promissor para a obtenção de compostos bioativos, através de reações de hidrólise, realizadas por proteases, que são enzimas que clivam ligações peptídicas em proteínas, peptídeos e aminoácidos. Os peptídeos compostos por fragmentos de proteínas de 2 a 20 sequências de aminoácidos, são conhecidos como peptídeos bioativos. O sangue suíno obtido em matadouros, que representa de 3 a 5% do peso vivo de um animal, é caracterizado como um subproduto reutilizável, sendo dividido em duas frações principais: hemoglobina e proteína plasmática. O sangue suíno coletado sanitariamente pode ser processado para a obtenção de diferentes hemoderivados, que podem ser usados em produtos alimentícios para melhorar as propriedades tecnológicas e modificados para fornecer propriedades bioativas promotoras da saúde. A atividade antidiabética de um composto, quando determinada *in vitro*, é caracterizada pela inibição de uma série de enzimas, dentre elas estão a α -amilase e α -glucosidase. Os medicamentos utilizados por pacientes com *Diabetes mellitus* tipo 2 (DM2), caracterizado como um distúrbio metabólico, são responsáveis pela inibição reversível nestas enzimas, retardando a absorção de carboidratos e suprimindo a hiperglicemia pós-prandial. O objetivo deste trabalho foi caracterizar hidrolisados de plasma suíno, obtidos com uso de uma protease alcalina derivada de *Bacillus licheniformis* e determinar o seu potencial de inibição das enzimas α -amilase e α -glucosidase. As condições de hidrólise do plasma foram otimizadas em 65°C, pH 8,5, 125 rpm, relação enzima/substrato de 5% (m/m), para os tempos de 15 min, 30 min, 60 min, 90 min e 120 min de reação. O tamanho molecular dos hidrolisados foi determinado por meio da eletroforese SDS-PAGE e as ligações químicas por meio da Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), com a dispersão da amostra em comprimidos de KBr e leitura dos espectros (4000 - 400 cm⁻¹) e resolução de 4 cm⁻¹, varrendo 64 vezes para determinar as transmitâncias. A inibição da α -amilase da saliva humana (tipo IX-A, 1.000-3.000 U mg⁻¹, Sigma-Aldrich) pelos hidrolisados, diluídos para 0,1; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 mg/mL (em relação a proteína solúvel), foi quantificada de acordo com Bernfeld (1951) e Oboh et al. (2011), utilizando amido de milho como substrato. A inibição da α -glucosidase de *Saccharomyces cerevisiae* (Tipo I, ≥ 10 U mg⁻¹, Sigma-Aldrich), pelos mesmos hidrolisados, foi quantificada de acordo com o método descrito por Apostolidis et al. (2007), utilizando pNPG (5 mM) como substrato. O hidrolisado apresentou grau de hidrólise máximo de 45,28%. Por meio da SDS-PAGE, verificou-se que os peptídeos apresentaram tamanhos moleculares abaixo de 15 kDa, o que pode caracterizar peptídeos bioativos. O FTIR (Figura 1) mostrou intensificação das bandas de 900 e 1000 cm⁻¹,

entre 1400 e 1500 cm⁻¹, e entre 3200 e 3400 cm⁻¹. A protease alcalina catalisa a hidrólise de ligações peptídicas, resultando na formação de terminais C (COO⁻) e terminais N (NH₃⁺), alterando a estrutura primária e secundária da proteína. As bandas mais importantes que registram essas mudanças incluem a deformação NH³⁺ (1516 cm⁻¹), o alongamento COO⁻ (1400 cm⁻¹), a amida I (~1650 cm⁻¹) e a amida II (~1550 cm⁻¹), que foram visivelmente alterados nas amostras de hidrolisado, demonstrando que houve a hidrolise da proteína plasmática. Os hidrolisados inibiram a α-amilase e não inibiram a α-glucosidase (Tabela 1). Os resultados evidenciam que para todas as concentrações testadas, exceto para a concentração a 1,0 mg mL⁻¹, não se obteve diferença estatística no percentual de inibição de α-amilase para os hidrolisados obtidos nos diferentes tempos. Para as concentrações acima de 1 mg mL⁻¹, a porcentagem de inibição da α-amilase aumentou. Para os ensaios de inibição da α-glucosidase, os resultados revelaram pouca ou nenhuma atividade inibitória dos hidrolisados, para as concentrações abaixo de 1 mg mL⁻¹.

Tabela 1. Inibições (%) da α-amilase e da α-glucosidase pelos hidrolisados de plasma suíno em diferentes concentrações.

Proteína solúvel (mg mL ⁻¹)	α-amilase				
	H ₁₅	H ₃₀	H ₆₀	H ₉₀	H ₁₂₀
2	1,88 ± 0,27 ^{aA}	2,09 ± 0,33 ^{aA}	2,08 ± 0,41 ^{aA}	2,16 ± 0,45 ^{aA}	2,21 ± 0,25 ^{aA}
1,5	1,32 ± 0,21 ^{abA}	1,50 ± 0,36 ^{abA}	1,55 ± 0,21 ^{abA}	1,71 ± 0,35 ^{abA}	1,78 ± 0,36 ^{abA}
1	1,04 ± 0,13 ^{bAB}	0,84 ± 0,13 ^{bcB}	1,17 ± 0,13 ^{bAB}	1,19 ± 0,12 ^{bcA}	1,29 ± 0,12 ^{bA}
0,5	0,32 ± 0,28 ^{cA}	0,39 ± 0,27 ^{cA}	0,34 ± 0,29 ^{cA}	0,46 ± 0,24 ^{dA}	0,61 ± 0,14 ^{cA}
0,1	0,24 ± 0,24 ^{cA}	0,39 ± 0,36 ^{cA}	0,25 ± 0,25 ^{cA}	0,15 ± 0,13 ^{dA}	0,15 ± 0,13 ^{cA}
α-glucosidase					
2	1,28 ± 0,51 ^{aA}	1,36 ± 0,56 ^{abA}	1,58 ± 0,48 ^{aA}	1,58 ± 0,50 ^{aA}	1,62 ± 0,52 ^{aA}
1,5	1,19 ± 0,03 ^{aA}	1,41 ± 0,52 ^{aA}	1,23 ± 0,02 ^{aA}	1,40 ± 0,47 ^{aA}	1,15 ± 0,03 ^{aA}
1	0,94 ± 0,82 ^{abA}	1,00 ± 0,86 ^{abA}	0,95 ± 0,82 ^{abA}	1,01 ± 0,87 ^{abA}	0,00 < 0,01 ^{bA}
0,5	0,00 < 0,01 ^{bB}	1,01 ± 0,76 ^{abA}			
0,1	0,00 < 0,01 ^{bA}				

Médias seguidas de diferentes letras minúsculas, na mesma coluna, diferem estatisticamente ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey com 95% de confiabilidade. Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas, na mesma linha, diferem estatisticamente pelo Tukey. H₁₅= hidrolisado de 15 min; H₃₀= hidrolisado de 30 min; H₆₀= hidrolisado de 60 min; H₉₀= hidrolisado de 90 min; H₁₂₀= hidrolisado de 120 min.

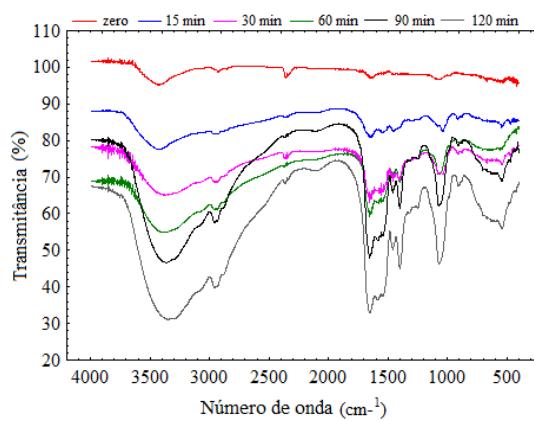


Figura 1. Espectros de infravermelho dos hidrolisados de plasma suíno.

Palavras-chave: Hidrólise. Protease alcalina. Peptídeos.