

ANÁLISE PEPTIDÔMICA DE LEITE BOVINO FERMENTADO POR *Lacticaseibacillus casei* LBC 237¹

Ingrid Militão da Costa², Aniela Pinto Kempka³, Eduarda Eliza Redin⁴, Isabel Johann Correia⁴, Emyr Hiago Bellaver⁵, Liziane Schittler Moroni⁶

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

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

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

⁴ Acadêmico do Curso de Engenharia Química – CEO.

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

⁶ Pesquisadora participante.

Peptídeos bioativos são moléculas capazes de promover efeitos positivos na saúde humana devido a capacidade de interferir nas funções cognitivas/neurológicas, atividades hormonais, nutricionais e metabólicas. Fermentados a base de leite podem conter uma diversidade de peptídeos bioativos. A identificação e caracterização dos peptídeos obtidos em leites fermentados pode auxiliar no desenvolvimento de produtos nutracêuticos. O objetivo desta pesquisa foi realizar a análise peptidômica de leite bovino fermentado por *Lacticaseibacillus casei* LBC 237 e caracterizar os peptídeos obtidos quanto aos aspectos químicos e a toxicidade. A cepa *L. casei* LBC 237 foi obtida do acervo de culturas bacterianas do Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Universidade do Estado de Santa Catarina (Pinhalzinho, Brasil). Esta cepa foi originalmente isolada de leite cru e identificada como *L. casei* com base no sequenciamento parcial dos genes 16S rRNA. A cepa foi reativada em TSB inoculado com 0,1% da cultura estoque e incubado a 37°C por 24 h. O inóculo primário foi transferido para 10 mL de caldo MRS e incubado a 37°C por 24 h, sem agitação. O inóculo secundário foi padronizado para 0,5 McFarland (10⁸ log UFC/mL) e armazenado a 10°C por não mais que 15 dias. 1% (m/m) do inóculo secundário foi adicionado ao leite bovino integral reconstituído e esterilizado. O meio fermentativo foi incubado a 37 °C por 16 h. O leite bovino fermentado foi centrifugado a 6000×g por 10 min para remoção das células LBC 237 e, posteriormente, liofilizado a -60 °C e 0,05 mTorr por 36 h. A identificação de peptídeos foi por NanoLC-MS/MS. Os espectros de massa foram analisados utilizando o software PEAKS® XPRO. A busca foi realizada no banco de dados *Bos taurus*, seguida pela utilização da lista de peptídeos "De novo only" (peptídeos identificados apenas pelo algoritmo de sequenciamento de novo PEAKS® XPRO e não identificados no banco de dados bovino). Os resultados, quanto à estrutura dos peptídeos, foram expressos no formato FASTA. A análise peptidômica compreendeu a determinação dos aspectos químicos e de toxicidade dos peptídeos identificados no fermentado. Os peptídeos foram divididos em dois grupos, sendo os que não correspondem a nenhuma sequência do banco de dados *Bos taurus* (fração 1) e os que correspondem a uma sequência no banco de dados *Bos taurus* (fração 2). A caracterização química dos peptídeos incluiu a determinação do peso

molecular, carga elétrica e hidrofobicidade por meio do PepDraw e a calculadora de propriedades peptídicas Innovagen. A toxicidade foi prevista usando CSM-Toxin. A conversão dos peptídeos do formato FASTA para SMILES foi realizada com o software Open Babel. A pesquisa está cadastrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e Conhecimento Tradicional Associado sob o código A235B7A e possui financiamento pela Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (2023TR564). Foram identificados 144 peptídeos, sendo destes, 48 que não correspondem a uma sequência no banco de dados *Bos taurus* e 96 que correspondem a uma sequência no banco de dados *Bos taurus*. Portanto, no fermentado, ocorre a presença de peptídeos oriundos da hidrólise das proteínas do leite pelas enzimas exógenas secretadas pelo *L. casei* e de peptídeos oriundos da metabolização do meio pelo *L. casei*. Os peptídeos da fração 1 apresentaram estruturas com 5 a 12 aminoácidos, com massas moleculares que variaram de 634,40 Da a 1.355,58 Da, e os peptídeos da fração 2 apresentaram estruturas com 4 a 15 aminoácidos, com massas moleculares que variaram de 630,74 Da a 1648.79 Da. Para as duas frações, os peptídeos apresentaram cargas elétricas positivas, negativas e neutras, e hidrofobicidade variável, com predominância de valores negativos. Do total de peptídeos das duas frações, 134 apresentaram não toxicidade. A caracterização dos peptídeos permitiu a obtenção de informações importantes para a determinação, nas etapas subsequentes da pesquisa, das atividades biológicas e do potencial nutracêutico do fermentado de leite bovino obtido com o *L. casei*.

Palavras-chave: Peptídeos bioativos. Fermentado de leite. Nutracêutico.