

QUANTIFICAÇÃO PROTEICA COMO ETAPA INICIAL DA AVALIAÇÃO DE PEPTÍDEOS BIOATIVOS DA PROTEÍNA DE ERVILHA

Vitória Alana Esposito de Saibro, Sander Souza Farias, Aniela Pinto Kempka

INTRODUÇÃO

As proteínas são macronutrientes essenciais às funções biológicas, garantindo a manutenção dos processos vitais (Liao et al., 2022). Com as crescentes preocupações com a saúde e o alto custo das proteínas animais, aumenta o interesse por fontes vegetais sustentáveis, alternativas para suprir a escassez proteica e ampliar o uso de ingredientes funcionais (Poeggeler et al., 2023). Nesse contexto, leguminosas como a ervilha (*Pisum sativum* L.) se destacam por conter aminoácidos essenciais, como a lisina, e compostos bioativos, como peptídeos. Estudos relatam propriedades fisiológicas desses peptídeos, sugerindo potencial no manejo de doenças crônicas (Laguna et al., 2017). Eles podem ser obtidos por hidrólise enzimática, fermentação microbiana ou digestão simulada, gerando moléculas com efeitos benéficos. Nesta etapa inicial, utilizou-se o método de Bradford para avaliar a concentração proteica, definindo as condições experimentais para análises futuras de digestão e bioatividade.

DESENVOLVIMENTO

Para avaliar proteínas solúveis, foi elaborada uma curva de calibração pelo método de Bradford (1976), usando albumina de soro bovino (Merck) como padrão. Inicialmente, preparou-se uma solução de 1 mg/mL pela dissolução de 10 mg do composto em 10 mL de água destilada sob agitação até completa homogeneização. A partir dela, realizaram-se diluições seriadas com concentrações finais de 5 a 50 µg. De cada diluição, 100 µL foram coletados em triplicata e adicionados a tubos com 2,5 mL do reagente de Bradford. Após homogeneização e 2 minutos de incubação, as amostras foram analisadas em espectrofotômetro UV-Vis a 595 nm, comprimento de onda da coloração azul formada. Para avaliar a influência da preparação da amostra na precisão do método, analisaram-se proteínas de ervilha em duas condições: homogeneizada (PH) e não homogeneizada (PNH). A homogeneização favorece a dispersão uniforme das moléculas, reduz interferências e aumenta a confiabilidade das leituras. Essa etapa foi essencial para verificar se a preparação física influencia na quantificação e reprodutibilidade dos resultados.

RESULTADOS

A curva de calibração com a proteína padrão (Figura 1) apresentou equação linear $y = 0,0098 + 0,0438x$ e coeficiente de correlação (R^2) de 0,9678, indicando boa linearidade. Ao aplicar nas amostras, observou-se diferença entre proteína homogeneizada (PH) e não homogeneizada (PNH). A PH apresentou equação $y = 0,0115 + 0,064x$ ($R^2 = 0,9891$), evidenciando excelente correlação e reforçando a confiabilidade da preparação. Já a PNH teve correlação fraca ($y = 0,0105 + 0,0012x$; $R^2 = 0,8181$), sugerindo maior variabilidade e menor precisão na estimativa. Em altas concentrações (ex.: 45 µg), a diferença foi marcante: PH teve absorbância de 0,534 (50,74 µg) e PNH de 0,516 (44,34 µg). Em

concentrações baixas, como 5 µg, a PH indicou 4,11 µg, e a PNH superestimou com 5,53 µg. Nas faixas intermediárias (20–25 µg), a PNH não apresentou valores consistentes, com leituras sem correlação significativa, indicando limitações do método nessas condições.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A construção das curvas analíticas foi essencial para converter absorbância em concentrações reais de proteínas solúveis, confirmando a precisão do método de Bradford e sua aplicabilidade em análises futuras, como digestão simulada e hidrólise enzimática. A proteína homogeneizada (PH) apresentou melhor correlação linear do que a não homogeneizada (PNH), que mostrou inconsistências em concentrações intermediárias (20 e 25 µg). Os resultados indicam que a homogeneização é decisiva para a qualidade analítica, assegurando maior linearidade, sensibilidade e reprodutibilidade — aspectos fundamentais para o prosseguimento do projeto e a avaliação da bioatividade de peptídeos da proteína de ervilha.

Palavras-chave: peptídeos bioativos; proteína de ervilha; método de Bradford.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, v. 72, p. 248–254, 1976.

LAGUNA, L. et al. In vitro gastrointestinal digestion of pea protein isolate as a function of pH, food matrices, autoclaving, high-pressure and re-heat treatments. *LWT*, v. 84, p. 511-519, 2017.

LIAO, W. et al. Pea Protein-Derived Peptides Inhibit Hepatic Glucose Production via the Gluconeogenic Signaling in the AML-12 Cells. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 19, n. 16, p. 10254, 2022.

POEGGELER, B. et al. Nitric Oxide as a Determinant of Human Longevity and Health Span. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 24, n. 19, p. 14533, 2023.

DADOS CADASTRAIS

BOLSISTA: VITÓRIA ALANA ESPOSITO DE SAIBRO

MODALIDADE DE BOLSA: VOLUNTÁRIO (IC)

VIGÊNCIA: 05/2025 a 08/2025 – Total: 3 meses

ORIENTADOR(A): Anielia Pinto Kempka

CENTRO DE ENSINO: CEO

DEPARTAMENTO: Departamento de Engenharia de Alimentos e Engenharia Química.

ÁREAS DE CONHECIMENTO: Engenharias / Engenharia Química

TÍTULO DO PROJETO DE PESQUISA: Peptídeos encriptados de subprodutos agroindustriais: caracterização, desenho e atividades biológicas *in silico* e *in vitro*.

Nº PROTOCOLO DO PROJETO DE PESQUISA: NPP4000-2022