Resumo nº 29

PROSPECÇÃO PEPTIDÔMICA PÓS-DIGESTÃO *IN VITRO* DE PROTEÍNA DE ERVILHA SUBMETIDA À HIDRÓLISE ENZIMÁTICA

Vitória Alana Esposito de Saibro[1], Sander Souza Farias[2], Rafaela Ansiliero[2], José Ricardo Machado dos Santos[2], Aniela Pinto Kempka[3]

1 Bolsista IC/UDESC/CEO

2 Estudantes UDESC/CEO

3 Professora Coordenadora do projeto UDESC/CEO

INTRODUÇÃO

O interesse por bebidas à base de proteínas vegetais tem ampliado a busca por ingredientes que apresentem qualidade nutricional, versatilidade tecnológica e comportamento adequado durante a digestão. Entre as fontes disponíveis, a proteína de ervilha (*Pisum sativum* L.) apresenta características interessantes para aplicação em diferentes matrizes alimentares e constitui uma fonte relevante de peptídeos (WANG et al., 2022). Além da composição da proteína utilizada como ingrediente, é importante compreender as transformações que ocorrem durante o processamento e, posteriormente, no trato gastrointestinal. A hidrólise enzimática prévia pode modificar a estrutura proteica e influenciar o conjunto de peptídeos gerados durante a digestão. Nesse contexto, a peptidômica associada a abordagens *in silico* permite identificar as sequências que permanecem após o processo digestivo e comparar seus perfis e propriedades físico-químicas. Essa abordagem amplia a compreensão sobre o destino das proteínas alimentares após diferentes tratamentos e pode contribuir para o desenvolvimento de ingredientes destinados a produtos de base vegetal. O objetivo deste trabalho foi avaliar, por meio de prospecção peptidômica e abordagens *in silico*, o perfil de peptídeos obtidos após digestão gastrointestinal simulada de proteína de ervilha previamente submetida a diferentes estratégias de hidrólise enzimática.

DESENVOLVIMENTO

O isolado proteico de ervilha foi submetido à hidrólise enzimática com Neutrase® (P-N), Flavourzyme® (P-F) ou à combinação sequencial de Flavourzyme® e Neutrase® (P-FN), mantendo-se uma amostra sem pré-hidrólise como controle (P-C). Posteriormente, todas as amostras foram submetidas à digestão gastrointestinal simulada, contemplando as fases gástrica e intestinal. Os peptídeos presentes após a digestão foram identificados por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS), sendo consideradas para as análises posteriores as sequências com *De Novo Score* ≥ 85. As sequências identificadas foram caracterizadas *in silico* quanto ao comprimento, massa molecular, ponto isoelétrico (pI), hidrofobicidade pelo índice GRAVY, índice alifático e índice de Boman. A organização e a comparação dos conjuntos peptídicos permitiram avaliar se os diferentes tratamentos aplicados antes da digestão influenciaram o perfil de peptídeos posteriormente identificado.

RESULTADOS

A análise por LC-MS/MS mostrou que as diferenças promovidas pela pré-hidrólise ainda podiam ser observadas no peptidoma após a digestão gastrointestinal. Foram identificados 2.178 peptídeos na amostra controle, 1.757 na amostra previamente hidrolisada com Neutrase®, 1.484 com Flavourzyme® e 2.953 no tratamento combinado Flavourzyme® + Neutrase®. A combinação das duas enzimas, portanto, resultou no maior número de sequências identificadas, indicando maior

diversidade peptídica após a digestão. Apesar das diferenças no número de sequências, os peptídeos apresentaram características físico-químicas médias relativamente próximas entre os tratamentos. O comprimento médio variou entre 11,33 e 11,57 resíduos de aminoácidos e a massa molecular média entre 1.272,22 e 1.304,60 Da. Todas as amostras apresentaram valores negativos de GRAVY, entre −1,11 e −0,94, indicando predominância de sequências com caráter hidrofílico. O tratamento combinado apresentou o maior índice alifático, com valor médio de 66,37, enquanto o índice de Boman permaneceu entre 2,67 e 2,82 kcal/mol. Características como composição de aminoácidos, carga e hidrofobicidade estão diretamente relacionadas às propriedades físico-químicas dos peptídeos e podem influenciar suas interações com proteínas e membranas biológicas (MADA; UGWU; ABARSHI, 2020; YANG; DIAS, 2023). A avaliação da composição dos peptídeos mostrou predominância de aminoácidos classificados como hidrofílicos (>60%) e pequenos (>50%) em todas as condições. Ácido glutâmico e leucina foram os resíduos encontrados em maiores proporções médias. De maneira geral, os resultados indicam que os tratamentos enzimáticos prévios tiveram maior impacto sobre a diversidade das sequências detectadas do que sobre suas propriedades físico-químicas médias. A identificação de peptídeos de menor massa molecular após a digestão é particularmente relevante para a caracterização de ingredientes proteicos, uma vez que o tamanho e a composição das sequências estão entre os fatores associados ao comportamento e às possíveis interações biológicas dos peptídeos (XU et al., 2024).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A prospecção peptidômica mostrou que a forma como uma proteína vegetal é modificada antes do consumo pode influenciar o conjunto de peptídeos encontrado após a digestão gastrointestinal. Entre as estratégias avaliadas, a combinação sequencial de Flavourzyme® e Neutrase® resultou na maior diversidade peptídica, embora as propriedades físico-químicas médias tenham permanecido relativamente semelhantes entre os tratamentos. A integração entre digestão *in vitro*, LC-MS/MS e análise *in silico* mostrou-se adequada para acompanhar essas transformações e caracterizar o peptidoma resultante. Os resultados contribuem para a compreensão do comportamento de proteínas vegetais modificadas enzimaticamente durante a digestão e fornecem subsídios para estudos voltados ao desenvolvimento de ingredientes proteicos para bebidas e outras formulações de base vegetal.

Palavras-chave: proteína de ervilha; peptidômica; digestão gastrointestinal; hidrólise enzimática; proteínas vegetais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ELBIRA, A.; HERNÁNDEZ-ÁLVAREZ, A. J.; BOESCH, C. Enhanced bioactive peptide release from pre-hydrolysed pea protein: impact of pepsin digestion on antidiabetic and antihypertensive functions. *Foods*, v. 14, n. 19, art. 3306, 2025.

MADA, S. B.; UGWU, C. P.; ABARSHI, M. M. Health promoting effects of food-derived bioactive peptides: a review. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, v. 26, p. 831–848, 2020.

WANG, J. et al. Recent advances in the health benefits of pea protein (*Pisum sativum*): bioactive peptides and the interaction with the gut microbiome. *Current Opinion in Food Science*, v. 48, art. 100944, 2022.

XU, B. et al. Advances in research on the activity evaluation, mechanism and structure-activity relationships of natural antioxidant peptides. *Antioxidants*, v. 13, n. 4, art. 479, 2024.

YANG, Y.; DIAS, C. L. Peptide–membrane binding: effects of the amino acid sequence. *The Journal of Physical Chemistry B*, v. 127, p. 912–920, 2023.