



ATIVIDADES ANTIOXIDANTES DE HIDROLISADOS DE PROTEÍNA ISOLADA DE SOJA¹

NAIARA JACINTA CLERICI^{2,3}, LAÍS ANDRESSA FINKLER⁴, ANDRÉIA MONIQUE LERMEN⁵, DANIEL JONER DAROIT^{3,6*}

1 Introdução

A soja é utilizada na alimentação como uma importante fonte de proteínas, visto que o valor nutricional destas proteínas é comparável àquele de proteínas animais, como a caseína. Além disso, a hidrólise de proteínas alimentares vem recebendo atenção devido ao reconhecimento de que os hidrolisados obtidos podem exercer importantes funções biológicas, atribuídas a peptídeos liberados durante o processo de proteólise (Singh et al., 2014).

Particularmente, as propriedades antioxidantes apresentam-se relevantes considerando as ações deletérias do estresse oxidativo em sistemas biológicos e de reações nocivas de oxidação em alimentos (Sarmadi e Ismail, 2010).

Usualmente, a hidrólise enzimática é o processo de escolha para a produção de hidrolisados proteicos. Neste sentido, diferentes proteases vêm sendo avaliadas quanto à adequação para processos de hidrólise de proteínas alimentares, incluindo a proteína isolada de soja (PIS), visando obter hidrolisados bioativos (Singh et al., 2014; Oliveira et al., 2014).

2 Objetivos

Este trabalho teve como objetivos: (i) hidrolisar proteína isolada de soja utilizando uma protease bacteriana e (ii) avaliar as atividades antioxidantes dos hidrolisados obtidos.

¹ Vinculado ao projeto “Bioconversão microbiana de penas de frango e catálise enzimática como estratégias para a produção de hidrolisados proteicos bioativos”, aprovado na Chamada Universal Nº 01/2016.

² Graduanda do Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária, Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), *campus* Cerro Largo, **Bolsista IC-CNPq**. Contato: naiaraj.clerici@gmail.com.

³ Grupo de Pesquisa: Biociências (UFFS).

⁴ Graduanda do Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária, UFFS, *campus* Cerro Largo.

⁵ Mestranda, Programa de Pós-Graduação em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis, UFFS.

⁶ Doutor em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, UFFS, *campus* Cerro Largo, **Orientador**.

* Contato: daniel.daroit@uffs.edu.br.



3 Material e Métodos

A PIS foi hidrolisada utilizando a protease bruta produzida por *Bacillus* sp. CL18. Para tanto, suspensão de PIS (5 g/L) foi preparada em tampão Tris-HCl (0,1 M, pH 8,0) e levada a banho-maria (50 °C) por 10 min para estabilização da temperatura. A hidrólise foi iniciada pela adição da protease bruta (4% v/v; 3.700 U/mL), e então realizada a 50 °C por até 6 h. Amostras foram coletadas durante a hidrólise e a reação finalizada por aquecimento (100 °C, 15 min). Após resfriamento e centrifugação (10.000 g, 20 min), os sobrenadantes, denominados hidrolisados de PIS (HPIS) foram avaliados quanto às atividades antioxidantes. O potencial antioxidante foi mensurado através de diferentes métodos, realizados em triplicata. A captura dos radicais 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS) e 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) foi determinada através da redução da absorbância (Abs) dos radicais em solução a 734 nm e 517 nm, respectivamente. O poder redutor dos hidrolisados foi avaliado através de sua capacidade em reduzir Fe^{3+} a Fe^{2+} , monitorada em Abs a 700 nm (Abs_{700}). A habilidade dos HPIS em quelar íons ferrosos (Fe^{2+}) foi mensurada através do método da ferrozina, em Abs de 562 nm. Em todos os experimentos, controles adequados foram realizados utilizando água destilada em substituição aos HPIS.

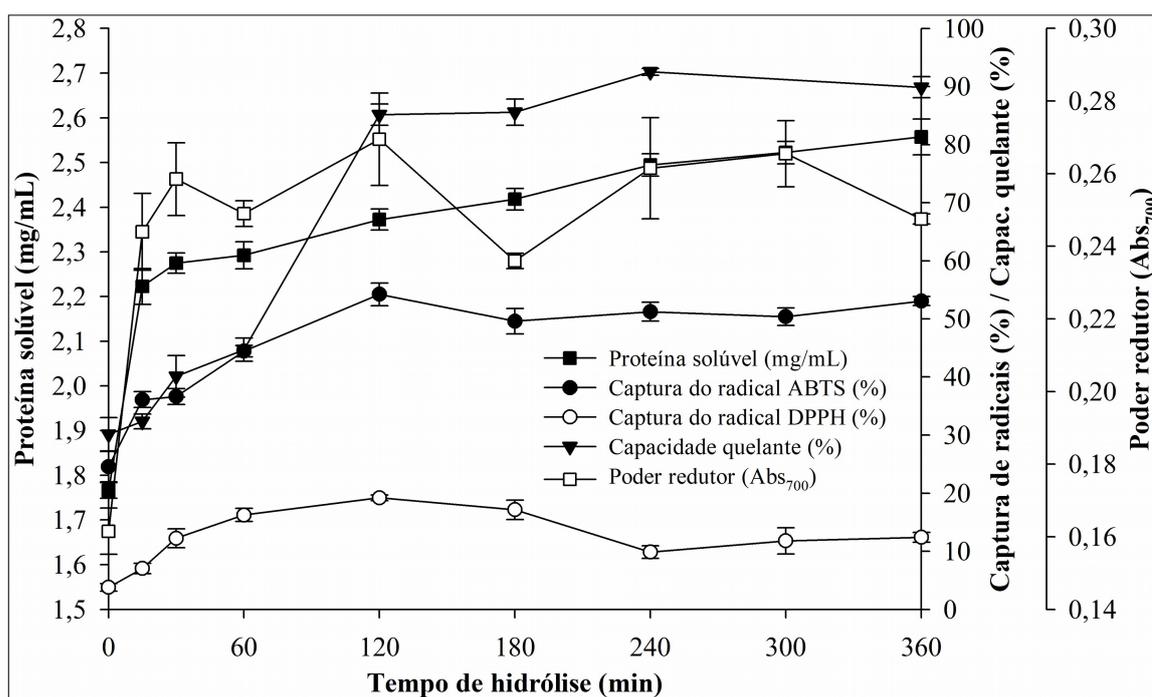
4 Resultados e Discussão

O tratamento enzimático resultou em elevação do conteúdo de proteínas solúveis, especialmente após os primeiros 30 min de hidrólise. Subsequentemente, a concentração de proteínas solúveis foi incrementada de forma menos proeminente. Especificamente, a proteína solúvel no início da hidrólise (1,76 mg/mL) foi elevada para 2,27, 2,37 e 2,56 mg/mL após 30, 120 e 360 min de hidrólise, respectivamente (Figura 1).

O potencial antioxidante dos HPIS foi avaliado através de quatro métodos complementares. A captura de ABTS no tempo “zero” (24,5%) foi elevada para 36,6 e 54,4% após 30 e 120 min de hidrólise, respectivamente (Figura 1), indicando a liberação de peptídeos com capacidade de transferir elétrons, estabilizando o radical ABTS. Nos ensaios de captura de DPPH, este radical é estabilizado pela transferência de átomos de hidrogênio. A hidrólise enzimática também atuou de forma desejável, uma vez que capturas superiores foram mensuradas (7,0-

19,2%) em comparação à PIS (3,8%). Particularmente, hidrólises realizadas por 120 min resultaram em 19,2% de captura (Figura 1).

Figura 1. Atividades antioxidantes de hidrolisados de proteína isolada de soja, mensuradas através da captura de radicais DPPH e ABTS, capacidade quelante de Fe²⁺ e poder redutor.



A hidrólise da PIS também resultou em incrementos no poder redutor. Valores de 0,26 e 0,27 Abs₇₀₀ foram observados aos 30 e 120 min de hidrólise, respectivamente, em comparação a 0,16 Abs₇₀₀ no tempo “zero” (Figura 1). Os HPIS demonstraram a capacidade de quelar Fe²⁺ em níveis superiores ao demonstrado pela PIS não hidrolisada. Enquanto que esta capacidade no tempo “zero” foi de 30,1%, capacidades quelantes de 44,7% e 85,1% foram mensuradas para HPIS obtidos após 60 e 120 min de hidrólise, respectivamente (Figura 1).

Assim, além capacidade de estabilizar diretamente radicais livres (ensaios ABTS e DPPH), a capacidade quelante dos HPIS apresenta importância considerando a participação de íons Fe²⁺ na geração de radicais hidroxila, principais radicais responsáveis por danos oxidativos. Já o poder redutor atua, potencialmente, na redução de intermediários oxidados que contribuem, entre outros, para processos de peroxidação lipídica (Sarmadi e Ismail, 2010).

A captura do radical ABTS também foi incrementada pela hidrólise de PIS utilizando uma



protease comercial (Coscueta et al., 2016), e o poder redutor de HPIS obtidos por hidrólise enzimática apresentou-se superior ao da PIS não hidrolisada (Wang et al., 2019). De forma similar, HPIS produzidos pela ação de uma protease bacteriana demonstraram capacidades antioxidantes superiores às da PIS, conforme avaliado pela captura dos radicais ABTS e DPPH, capacidade quelante e poder redutor (Oliveira et al., 2014).

5 Conclusão

A atuação da protease de *Bacillus* sp. CL18 originou hidrolisados proteicos que demonstraram atividades antioxidantes superiores à PIS. Nas condições utilizadas, hidrólises realizadas por 120 min resultaram, de modo geral, em indicadores superiores de atividade antioxidante.

Referências

- Coscueta, E. R., et al. Bioactive properties of peptides obtained from Argentinian defatted soy flour protein by Corolase PP hydrolysis. *Food Chem.*, v. 198, p. 36-44, 2016.
- Oliveira, C. F., et al. Antioxidant activity and inhibition of meat lipid oxidation by soy protein hydrolysates obtained with a microbial protease. *Int. Food Res. J.*, v. 21, p. 775-781, 2014.
- Sarmadi, B. H.; Ismail, A. Antioxidative peptides from food proteins: a review. *Peptides*, v. 31, p. 1949-1956, 2010.
- Singh, B.P., et al. Functional significance of bioactive peptides derived from soybean. *Peptides*, v. 54, p. 171-179, 2014.
- Wang, R., et al. Preparation of bioactive peptides with antidiabetic, antihypertensive, and antioxidant activities and identification of α -glucosidase inhibitory peptides from soy protein. *Food Sci. Nutr.*, v. 7, p. 1848-1856, 2019.

Palavras-chave: proteínas alimentares; *Bacillus*; protease; hidrólise; bioatividades.

Financiamento

CNPq (Apoio financeiro e Bolsa de Iniciação Científica - IC).