

## Interação entre as proteínas do isolado proteico de soro de leite (WPI) e o ácido fólico: impacto do pH e da estrutura das proteínas

Douglas V. A. Silva\*, Guilherme M. Tavares.

### Resumo

O presente estudo avaliou duas estratégias de modificação estrutural das proteínas do WPI na modulação de sua interação com o ácido fólico (AF). As proteínas nativas do WPI (P-N) foram submetidas a (i) tratamento térmico em via seca (50°C/48h) (P-TTS) e (ii) homogeneização a alta pressão (1200 bar/12 ciclos) (P-HAP). As modificações das proteínas foram avaliadas por cromatografia líquida de fase reversa (CL-FR) e espectroscopia RAMAN. A interação entre as proteínas e o AF foi avaliada em pH 6,0 e 2,0. Em pH 6,0, um fraca constante de associação ( $K_a$ ) entre o AF e as P-N foi determinada. Neste mesmo pH o TTS afetou negativamente a interação entre as proteínas e o AF. Em pH 2,0 as P-N foram capazes de diminuir a intensidade de precipitação do AF.

### Palavras-chave:

Isolado proteico de soro de leite (WPI), ácido fólico (AF), interação.

### Introdução

O ácido fólico (AF; Vitamina B9) é um composto essencial responsável por diversas funções fisiológicas no organismo humano. Todavia, a baixa solubilidade deste composto, sobretudo em pH ácido, é um entrave tecnológico no desenvolvimento de alimentos fortificados com essa vitamina. A interação entre AF e proteínas tem sido apontada como uma alternativa para contornar sua limitação de solubilidade<sup>1</sup>. Neste contexto o objetivo deste trabalho foi estudar a interação entre o ácido fólico e as proteínas do WPI em seu estado nativo e não nativo, em pH 6,0 e 2,0.

### Resultados e Discussão

As P-N foram submetidas a dois diferentes tratamentos: TTS e HAP. A Figura 1 exibe os resultados de CL-FR e RAMAN das PN antes e após os tratamentos.

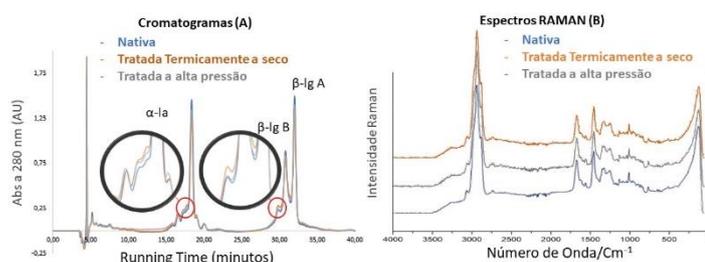


Figura 1. CL-FR (A) e RAMAN (B) das P-N, P-TTS e P-HAP.

De acordo com os resultados da Figura 1, os tratamentos aplicados induziram apenas sutis modificações nas P-N. A interação entre as proteínas e o AF foi avaliada em pH 6,0 por meio da quantificação do AF livre utilizando membranas semipermeáveis. Nestes experimentos, a razão molar igual a 5 entre o AF e cada uma das proteínas (P-N, P-TTS e P-HAP) foi fixada. Globalmente uma fraca interação entre o AF e as proteínas foi verificada.

Nas misturas AF/P-N e AF/P-TTS  $86,93 \pm 6,69\%$  e  $86,99 \pm 3,35\%$  do AF estava livre. Na mistura AF/P-TTS uma proporção ainda maior de AF livre foi verificada, igual a  $94,95 \pm 4,66\%$ .



Por meio da quantificação do AF livre em razões molares diferentes de 5 foi possível extrapolar a constante de associação ( $K_a$ ) igual a  $3,3 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$  e a estequiometria ( $n$ ) de 0,6 entre AF e P-N (pH 6,0)<sup>1</sup>. O efeito negativo do TTS na interação entre as proteínas e o AF impediu a determinação da  $K_a$  e da  $n$  desta reação.

A interação entre AF e P-N foi igualmente estudada em pH 2,0. Devido à retenção não específica do AF, a utilização de membrana semipermeável não foi possível. No entanto, como mostra a Figura 2, nas misturas AF/P-N com razões molares 5 (R5) e 10 (R10), em comparação com os controles na ausência de P-N (R5C e R10C), houve uma nítida diminuição da precipitação do AF. Apesar deste forte indício de interação entre AF e P-N em pH 2,0, os espectros UV das moléculas separadas ou em mistura não se alterou, como acontece em certos sistemas de interação proteína/ligante (Figura 2).

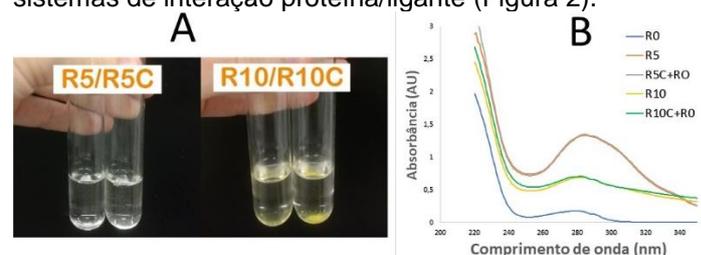


Figura 2. Misturas AF/P-N (pH 2,0) em razões molares 5 (R5) e 10 (R10) e seus respectivos controles na ausência de P-N. (A) Aspecto visual e (B) Espectros UV da mistura e a soma dos espectros individuais.

### Conclusões

- O TTS afetou negativamente a interação entre as proteínas e o AF em pH 6,0.
- Uma fraca  $K_a$  entre o AF e as P-N em pH 6,0 foi observada ( $3,3 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ).
- As P-N diminuíram a intensidade de precipitação do AF em pH 2,0.

### Agradecimentos

CNPq, PRP-UNICAMP e NEEM/UFJF.

\*Tavares, G. M., Croguennec, T., Lê, S., Leriche, O., Hamon, P., Carvalho, A. F., & Bouhallab, S. Langmuir **2015**, 31(45), 12481