

Extração de Proteínas Alergênicas do Leite e do Soro de Leite Usando Sistemas Aquosos Bifásicos

Arquimedes Bento Dias Neto¹, Arlindo Ines Teixeira²

1. Aluno do IFSUDESTEMG - Câmpus Barbacena; 2. Professor do IFSUDESTEMG - Câmpus Barbacena.

arquimedes_medes@hotmail.com

1. Introdução

O leite é um alimento extremamente benéfico à saúde, sendo seu consumo recomendado à todas as faixas etárias. No Brasil, o consumo de leite é pequeno se comparado a países desenvolvidos e agrava esta situação o fato de algumas pessoas apresentarem alergias a determinadas proteínas encontradas no leite, como as caseínas (fosfoproteínas encontradas no leite de mamíferos), a beta-lactoglobulina e a alfa-lactoalbumina. Diante de tal problema propõe-se a tentativa de extração dessas proteínas de modo a obter um leite que possa ser usado para consumo ou para produção de subprodutos voltados para os portadores de alergia às proteínas do leite.

O método de extração utilizado foi baseado no uso de Sistemas Aquosos Bifásicos, conhecidos há muito tempo, embora pouco estudados. Consistem, basicamente, numa mistura entre soluções de um sal e de um polímero que após agitadas formarão um sistema engendrado de duas fases. O leite seria adicionado antes da agitação, de modo que quando as duas fases se formem particionando as proteínas ali presentes. Cada substância presente se deslocará até a fase de maior afinidade elétrica.

Palavras chave: Leite, Alergia, Proteínas.

Categoria/Área: Ciências Exatas e da Terra.

2. Objetivo

Objetiva-se com esse trabalho obter um sistema otimizado para partição de proteínas do leite e do soro de leite. Um sistema ótimo seria aquele no qual as proteínas alergênicas localizem-se em uma única fase, podendo ser posteriormente retiradas.

3. Material e métodos

Materiais e Reagentes:

- Pipeta automática
- Béqueres
- Tubos de ensaio
- Agitador magnético
- Balança analítica
- Bastão de vidro
- Polietilenoglicol 4000 (PEG 4000) e Polietilenoglicol 8000 (PEG 8000)
- Fosfato de Potássio
- Espectrofotômetro UV/VIS
- Centrífuga
- Tubos de centrífuga
- Ácido Clorídrico
- Potenciômetro
- Coomassie brilliant blue (BG-250)

Métodos:

Foram preparadas algumas soluções de diferentes concentrações de PEG 4000 e Fosfato de Potássio. Elas foram misturadas e levadas ao agitador magnético, onde foi adicionado, também, leite ou soro de leite, e em seguida foi levado à centrífuga, para produzir alguns Sistemas Aquosos Bifásicos (SABs) com diferentes quantidades de polímeros e sais.

Após este processo os SABs foram colocados em repouso por 24 horas. Cada fase foi coletada separadamente e o teor de proteínas totais foi analisado pelo método de Bradford, método espectrofotométrico que usa uma leitura de absorvância em um comprimento de onda de 595 nm e é baseado na interação entre o corante Coomassie brilliant blue (BG-250) e as moléculas de proteínas. No pH de reação, a interação entre a proteína de alto peso molecular e o corante BG-250 provoca o deslocamento do equilíbrio do corante para a forma aniônica, que absorve fortemente em 595 nm (ZAIA, ZAIA, LICHTIG, 1998), possibilitando quantificar as proteínas em cada fase.

Foram analisadas as concentrações de proteínas em cada uma das fases dos Sistemas Aquosos Bifásicos, encontrando dados que permitirão verificar a eficácia

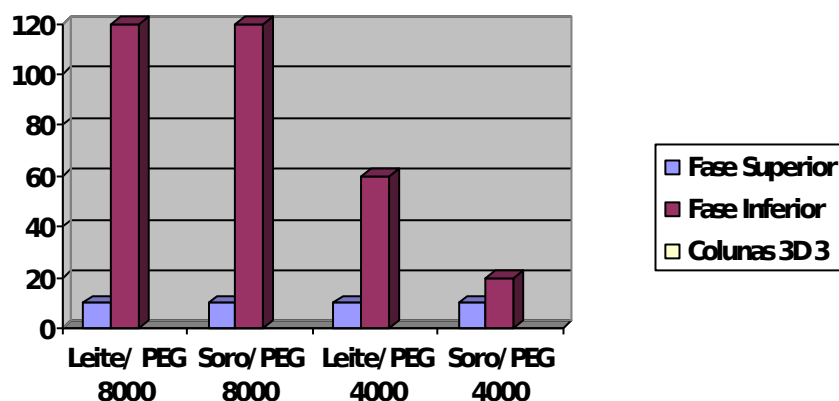
do uso deste método para extração de proteínas e otimizar a partição de proteínas do leite e do soro de leite através de Sistema Aquosos Bifásicos.

4. Resultados e discussão

Os sistemas escolhidos para o trabalho foram constituídos pelos polímeros Polietilenoglicol 4000, Polietilenoglicol 8000 e o sal escolhido foi o Fosfato de sódio. O leite e o soro de leite foram submetidos a ambos os sistemas. A concentração de proteínas em cada fase de cada sistema está representada na tabela abaixo:

	Concentração na fase superior (em mg/mL)	Concentração na fase inferior (em mg/mL)
Leite/PEG 8000	0,041	0,51
Soro/PEG 8000	0,015	0,186
Leite/PEG 4000	0,081	0,484
Soro/PEG 4000	0,072	0,155

Observa-se que a fase inferior apresenta, em todos os sistemas, maior concentração de proteínas. O quão maior é esta concentração está ilustrado no gráfico abaixo:



Observa-se, pelo gráfico, que as concentrações de proteínas entre cada fase dos sistemas respeita a tabela abaixo:

Leite/PEG 8000	Concentração da fase inferior 12 vezes maior que da fase superior.
Soro/PEG 8000	Concentração da fase inferior 12 vezes maior que da fase superior.

	maior que da fase superior.
Leite/PEG 4000	Concentração da fase inferior 6 vezes maior que da fase superior.
Soro/PEG 4000	Concentração da fase inferior 2 vezes maior que da fase superior.

5. Conclusão

Foi concluído que os Sistemas Aquosos Bifásicos são, de fato, eficientes na segregação de proteínas no leite e no soro de leite, sendo que os sistemas com o polímero de maior massa, PEG 8000, foi muito mais eficiente que os sistemas com polímero de menor massa, PEG 4000.

O sistema apesar de segregar com sucesso as proteínas ainda precisa ser estudo mais a fundo, de modo a identificar exatamente quais proteínas constituem cada fase de modo a verificar se há a possibilidade de otimizar ainda mais o sistema com variações de pH e temperatura, por exemplo.

6. Referências bibliográficas

- MACIEL, P. Alergia ao Leite de Vaca
<http://drpaulomaciel.com.br/alergia-ao-leite-de-vaca/>
- Extração líquido-líquido. <http://www.qmc.ufsc.br/organica/exp7/liquido.html>
Acesso em 04/06/2013.
- Beijerinck, M. W.; Zbl. Bakt. II Natur. 1896, 627, 698.
- Beijerinck, M. W.; Kolloid Z. Z. Polym. 1910, 7, 16
- FOX, P.F.; McSWEENEY, P.L.H. Dairy chemistry and biochemistry. London: Blackie Academic & Professional, 1998. 478p.
- KONTOPIDIS, G.; HOLT, C.; SAWYER, L. Invited review: beta-lactoglobulin: binding properties, structure and function. Journal of Dairy Science, v.87, p.785-796, 2004.
- BRADFORD, 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.
- Ryden, J.; Albertsson, P. A.; J. Colloid Interface Sci. 1971, 37, 219.
- OLIVEIRA, R. M. de, Equilíbrio de fases de sistemas aquosos bifásicos compostos por polietilenoglicol, sulfato de zinco, sulfato de cobre, e citrato de sódio sob diferentes temperaturas. Tese. Universidade Federal de Viçosa. 2006.

10. ALCÂNTARA, L. A. P., Otimização do fracionamento das proteínas de soro de leite por operação de extração líquido-líquido em sistemas aquosos bifásicos. Tese. Universidade Federal de Viçosa. 2009.
11. SILVA, L. H. M. de; LOH, W. Sistemas aquosos bifásicos: fundamentos e aplicações para partição/purificação de proteínas. Química Nova, Vol. 29, No. 6, pág. 1345-1351, 2006.
12. SILVA, M. do C. H.; SILVA, L. H. M. de; PAGGIOLI, F.J.; COIMBRA, J. S. R.; MINIM, L. A. Sistema aquoso bifásico: Uma alternativa para a extração de íons. Química Nova, Vol. 29, No. 6, pág 1332-1339, 2006.
13. BOTARO, B. G.; LIMA, I. V. R. de; AQUINO, A. A.; FERNANDES, R. H. R.; GARCIA, J. F. SANTOS, M. V. dos. Polimorfismo da beta-lactoglobulina não afeta as características físico-químicas e a estabilidade do leite bovino. Pesquisa Agropecuária Brasileira. Vol. 42. No. 5. Brasília. Maio, 2007.
14. ZAIA, D. A. M.; ZAIA, C. T. B. V.; LICHTIG, J. Determinação de proteínas totais via espectrofotometria: Vantagens e desvantagens dos métodos existentes. Química Nova. Vol. 21, No 6, pág 787 – 793, 1998.

Agradecimentos

Ao professor Arlindo pelo apoio, incentivo, paciência e principalmente pela oportunidade de realizar tal pesquisa. Meus agradecimentos ao CNPq pelo apoio e ao IF Câmpus Barbacena, pelo espaço e empenho dos funcionários do Núcleo de Química.

Apoio financeiro: CNPq, IFSUDESTEMG – Câmpus Barbacena.