



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS SOCIAIS E AGRÁRIAS
BACHARELADO EM AGROINDÚSTRIA

AMANDA MAYARA BEZERRA DA SILVA GOMES

**SORO DE LEITE ASININO: COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ALTERAÇÕES PÓS
DIGESTÃO SIMULADA *IN VITRO***

BANANEIRAS-PB
2024

AMANDA MAYARA BEZERRA DA SILVA GOMES

**SORO DE LEITE ASININO: COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ALTERAÇÕES PÓS
DIGESTÃO SIMULADA *IN VITRO***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Coordenação do Curso de Graduação em Bacharelado em
Agroindústria da Universidade Federal da Paraíba, em
atendimento às exigências parciais para a obtenção do
Título de Bacharel em Agroindústria.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Amanda Marília da Silva Sant'Ana

Co-orientador: Marcelo Wesley da Silva Barbosa

BANANEIRAS-PB

2024

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

G633s Gomes, Amanda Mayara Bezerra da Silva.
Soro de leite asinino: Composição química e alterações pós digestão simulada in vitro / Amanda Mayara Bezerra da Silva Gomes. - Bananeiras, 2024. 40 f. : il.

Orientação: Amanda Marília da Silva Sant'Ana.
Coorientação: Marcelo Wesley da Silva Barbosa. TCC (Graduação) - UFPB/CCHSA.

1. Bioatividade. 2. Composição. 3. Digestão. 4. Jumenta.
5. Soro. I. Sant'Ana, Amanda Marília da Silva. II. Barbosa, Marcelo Wesley da Silva. III. Título.

UFPB/CCHSA-BSPAT CDU 613.287.6 (043)

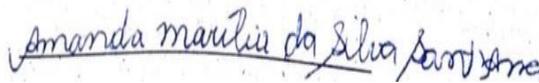
AMANDA MAYARA BEZERRA DA SILVA GOMES

**SORO DE LEITE ASININO: COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ALTERAÇÕES PÓS
DIGESTÃO SIMULADA *IN VITRO***

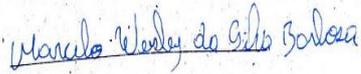
Trabalho de conclusão de curso apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Bacharelado em Agroindústria da Universidade Federal da Paraíba, em atendimento às exigências para obtenção do Grau de Bacharel em Agroindústria.

Monografia julgada e aprovada em 23/10/2024.

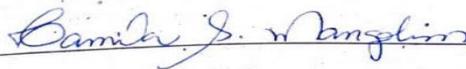
BANCA EXAMINADORA



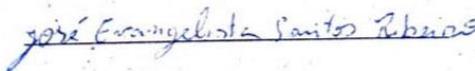
Prof. Dr^a. Amanda Marília da Silva Sant'Ana
DGTA/UFPB
(Orientadora)



Marcelo Wesley da Silva Barbosa
MESTRANDO/UFPB
(Co-orientador)



Prof. Dr^a. Camila Sampaio Mangolim
DGTA/UFPB
(Avaliadora)



Prof. Dr. José Evangelista Ribeiro
DGTA/UFPB
(Avaliador)

BANANEIRAS-PB

2024

A Deus.

A minha mãe, Rutilene, que nunca mediu esforços para me proporcionar o melhor dessa vida e ser inspiração para que eu concluísse minha graduação.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por sempre estar ao meu lado e me encher de fé, permitindo superar qualquer obstáculo, desafio e nunca me deixar fraquejar. Toda honra e glória é dada ao Senhor.

A minha mãe Rutilene, por ser meu colo, meu amparo e minha vida, todo amor, paz, coragem e apoio que me repassa para que eu consiga realizar meus sonhos. Por ter me ensinado a gostar de estudar, e me ajudar com todas as dificuldades. Agradeço por ser minha inspiração de vida, tudo que eu sou e serei é graças a senhora.

Ao meu pai Marcos Antônio (*in memorian*), que durante sua estadia na terra, me educou, me encheu de amor, ensinou valores e princípios que contribuíram para minha evolução pessoal e profissional. Saudades eternas.

Ao meu irmão Anderson, por ser meu porto seguro e me mostrar que sempre serei capaz de conseguir tudo que almejo.

A Simba, meu cachorro, por ser meu companheiro fiel, meu alicerce e minha paz, pelo amor demonstrado a mim em cada olhar, cada abanada de rabo e brincadeiras, me ensinando o significado de amor e lealdade. Sou grata por ter você em minha vida.

As minhas amigas de curso, que se tornaram irmãs, Carolaine Moura e Nathalia Ferreira, por estarem comigo me encorajando e dando força para nunca desistir, por termos passado por todas as dificuldades juntas com um sorriso no rosto, fazendo com que esses anos de jornada fossem mais leves.

Agradeço aos professores que ao longo desse período me passaram ensinamentos, em especial à minha orientadora Prof. Dr^a. Amanda Marília por todo apoio durante o tempo que trabalhamos juntos, sua fé, sabedoria, paciência e competência são inspirações para o meu eu pessoal e profissional. Ao meu co-orientador Marcelo e aos avaliadores Prof. Dr^a Camila, e Dr. José, minha sincera gratidão por fazer parte desta etapa da minha vida.

Por fim, mas não menos importante, meus agradecimentos a todos que de alguma forma fizeram parte desta etapa tão importante da minha vida. Cada palavra de apoio, cada gesto de carinho e cada sorriso de incentivo foram essenciais para que eu chegasse até aqui. Levarei comigo cada lembrança desses longos quatro anos.

Com gratidão,
Amanda Mayara

RESUMO

Na indústria leiteira, o soro de leite é o subproduto gerado em maior volume, tradicionalmente descartado, mas hoje reconhecido como matéria-prima para a inovação de novos produtos. O soro de leite asinino, ainda que pouco estudado, tem despertado interesse devido ao seu alto valor proteico, tecnológico e biológico. A digestibilidade de proteínas e a biodisponibilidade de aminoácidos são fatores cruciais na avaliação nutricional de alimentos proteicos, porém, estudos sobre as modificações durante a digestão do soro asinino são escassos. Este estudo teve como objetivo avaliar a composição química, a atividade antioxidante e as mudanças na digestibilidade de proteínas do soro de leite asinino durante a digestão *in vitro* simulada. Para a quantificação das proteínas foi utilizado o método de Kjeldahl, Bradford para proteínas solúveis, SDS-PAGE para a obtenção do perfil proteico e RP-HPLC para análise de hidrofobicidade dos peptídeos. Os resultados indicaram que o soro de leite asinino possui alta umidade, baixos teores de proteínas e cinzas, quantidade relevante de açúcares redutores e pH ácido. Durante a digestão, o soro intestinal apresentou maior atividade antioxidante, enquanto o soro gástrico mostrou a menor. Na digestibilidade das proteínas houve uma diminuição ao longo do processo digestivo, conforme observado por eletroforese, que demonstrou a redução progressiva da β -lactoglobulina. A análise de hidrofobicidade tem como funcionalidade a análise de compostos químicos, com isso, foram identificados peptídeos de diferentes características, de baixa a alta hidrofobicidade, conforme o tempo de eluição. Este estudo revela o potencial do soro de leite asinino como fonte de peptídeos bioativos com propriedades antioxidantes, sugerindo sua aplicação em alimentos funcionais e seu valor para a indústria alimentícia, especialmente na região Nordeste do Brasil.

Palavras-chave: Bioatividade; Composição; Digestão; Jumenta; Soro.

ABSTRACT

In the dairy industry, whey is the byproduct generated in the largest volume, traditionally discarded, but today recognized as a raw material for the innovation of new products. Donkey whey, although little studied, has aroused interest due to its high protein, technological and biological value. Protein digestibility and amino acid bioavailability are crucial factors in the nutritional evaluation of protein foods, however, studies on the modifications during the digestion of donkey whey are scarce. This study aimed to evaluate the chemical composition, antioxidant activity and changes in protein digestibility of donkey whey during simulated *in vitro* digestion. For protein quantification, the Kjeldahl method was used, Bradford for soluble proteins, SDS-PAGE to obtain the protein profile and RP-HPLC to analyze the hydrophobicity of peptides. The results indicated that donkey whey has high moisture, low protein and ash contents, relevant amount of reducing sugars and acidic pH. During digestion, intestinal serum showed the highest antioxidant activity, while gastric serum showed the lowest. Protein digestibility decreased throughout the digestive process, as observed by electrophoresis, which demonstrated a progressive reduction in β -lactoglobulin. Hydrophobicity analysis is used to analyze chemical compounds, thus identifying peptides with different characteristics, from low to high hydrophobicity, depending on the elution time. This study reveals the potential of donkey whey as a source of bioactive peptides with antioxidant properties, suggesting its application in functional foods and its value for the food industry, especially in the Northeast region of Brazil.

Key-words: Bioactivity; Composition; Digestion; Donkey; Whey

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Composição proteica do leite asinino.....	17
Quadro 2. Componentes minerais do leite asinino.....	18

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição básica, pH e acidez do soro asinino.....	26
Tabela 2. Proteínas totais, solúveis e digestibilidade proteica do soro asinino antes e após digestão simulada <i>in vitro</i>	27

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Eletroforese SDS-PAGE das amostras de soro asinino.....	29
Figura 2 - Perfil de hidrofobicidade por cromatografia de fase reversa (RP-HPLC) do soro asinino antes e após digestão simulada in vitro.....	31
Figura 3 - Atividade antioxidante ABTS do Soro asinino e dos digeridos gástrico e intestinal.....	33

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 OBJETIVO GERAL	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	16
3.1 LEITE	16
3.2 LEITE ASININO: CARACTERÍSTICAS E COMPOSIÇÃO.....	16
3.3 SORO DO LEITE: FORMAÇÃO E COMPOSIÇÃO	19
3.4 POTENCIAL FUNCIONAL E TECNOLÓGICO DO SORO DE LEITE ASININO	20
4 MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1 LOCAL DO EXPERIMENTO	22
4.2 OBTENÇÃO DO LEITE	22
4.3 PREPARAÇÃO DO SORO DE LEITE ASININO (SLA).....	22
4.4 DIGESTÃO SIMULADA <i>IN VITRO</i>	22
4.5 CARACTERIZAÇÃO DO SORO DE LEITE ASININO.....	23
4.6 DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS SOLÚVEIS.....	23
4.7 DIGESTIBILIDADE DAS PROTEÍNAS	24
4.8 PERFIL PROTEICO POR ELETROFORESE SDS-PAGE.....	24
4.9 PERFIL DE HIDROFOBICIDADE RP-HPLC	24
4.10 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE	25
4.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS	25
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
5.1 COMPOSIÇÃO BÁSICA, pH E ACIDEZ DO SORO	26
5.2 DIGESTIBILIDADE DE PROTEÍNAS TOTAIS E SOLÚVEIS.....	27
5.3 ELETROFORESE SDS-PAGE	28
5.4 PERFIL DE HIDROFOBICIDADE.....	30
5.5 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	32
6 CONCLUSÕES	34
REFERÊNCIAS	35

1 INTRODUÇÃO

O soro de leite é um subproduto (ou resíduo) caracterizado como um líquido translúcido de cor amarelada a esverdeada, obtido após a coagulação do leite durante o processo de fabricação do queijo. Ele representa cerca de 85 a 95% do volume total do leite utilizado e contém mais de 55% dos seus nutrientes, incluindo minerais, proteínas e lactose (Lo; Argin-Soysal; Hsu, 2007; Oliveira; Bravo; Tonial, 2012).

A valorização de subprodutos pode ser entendida como um processo que transforma esses materiais por meio de métodos físicos, térmicos, químicos ou biológicos, com o objetivo de integrá-los à economia circular nas cadeias produtivas (Léon-López *et al.*, 2022). A gestão de resíduos e subprodutos é um desafio significativo para as indústrias agroalimentares, que enfrentam elevados custos econômicos para o seu tratamento e descarte adequado e, por isso, é fundamental a valorização econômica do soro do leite por meio do desenvolvimento de novos produtos com potenciais benefícios à saúde humana (Pires *et al.*, 2021).

Um dos principais fatores que influenciam a saúde humana é a alimentação, pois os alimentos são fonte de nutrientes e compostos bioativos. Por exemplo, o soro de leite é composto por nutrientes essenciais, como lactose, proteínas (Léon-López *et al.*, 2022) e minerais, tais como cálcio, magnésio, fósforo e sódio (Besediuk *et al.*, 2024). Nos últimos anos, o interesse por alimentos de alto valor nutricional e com propriedades benéficas para a saúde tem aumentado. Nesse contexto, o interesse pelo leite asinino e seus produtos derivados tem crescido em todo o mundo, devido às suas propriedades funcionais, incluindo a presença de peptídeos bioativos que podem ser obtidos de várias maneiras, incluindo hidrólise enzimática, fermentação com bactérias do ácido láctico e digestão gastrointestinal (Akan, 2021).

O elevado teor proteico é uma das características de destaque nos produtos lácteos. As proteínas são reconhecidas como uma das principais fontes de peptídeos bioativos, que, após a ingestão, podem exercer efeitos benéficos sobre os sistemas cardiovascular, digestivo, endócrino, imunológico e nervoso. As proteínas presentes no soro são nutrientes fundamentais que podem ser hidrolisados em uma ampla gama de peptídeos durante a digestão gastrointestinal (Léon-López *et al.*, 2022).

Modelos de digestão *in vitro* têm sido amplamente empregados para estudar as alterações estruturais, a digestibilidade e a liberação de componentes alimentares sob condições simuladas do trato gastrointestinal, sendo considerados ferramentas valiosas e amplamente utilizadas para a análise de alimentos (Hur *et al.*, 2011). Estes modelos são uma alternativa

interessante aos ensaios *in vivo*, especialmente devido ao elevado custo e às questões éticas associadas ao uso de animais e seres humanos (Sousa *et al.*, 2020).

Embora estudos da digestibilidade *in vitro* do leite e derivados asininos tenham sido publicados (Tidona *et al.*, 2011; Bidasolo *et al.*, 2012; Aspri *et al.*, 2018; Akan, 2021), são escassas as informações sobre as modificações que ocorrem durante a digestão do soro de leite asinino com enzimas gastrointestinais. Assim, este estudo objetivou avaliar a composição química do soro asinino, a atividade antioxidante e as mudanças na digestibilidade de proteínas durante a digestão simulada *in vitro*.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a composição química do soro de leite asinino e as alterações ocorridas após a digestão simulada *in vitro*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter o soro de leite asinino (SLA);
- Realizar a digestão simulada *in vitro* do soro e obter os digeridos resultantes da digestão simulada nas fases gástrica e intestinal;
- Determinar as características físico-químicas do SLA.
- Quantificar as proteínas totais e solúveis no soro de leite asinino antes e após a digestão;
- Obter o perfil proteico do soro de leite asinino, antes e após a digestão simulada, utilizando a técnica de eletroforese.
- Determinar o perfil de hidrofobicidade do SLA e dos digeridos gástrico e intestinal.
- Avaliar a atividade antioxidante do SLA e dos digeridos gástrico e intestinal.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 LEITE

De acordo com a Instrução Normativa nº 51 de 2002, entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas. O leite de outros animais deve denominar-se segundo a espécie de que proceda. O leite é composto de água; carboidratos; gorduras; proteínas; sais minerais; enzimas e vitaminas. De acordo com Souza *et al.*, (2009) a importância do leite ocorre devido seu alto nível de nutrientes, sendo um ótimo substrato para o crescimento de microrganismos, podendo ser desejáveis ou indesejáveis. A qualidade do leite, forma de manejo e cuidados necessários com os animais, é essencial para definir a qualidade do produto final.

O leite tem importante papel na nutrição humana, no que se refere ao crescimento e fortalecimento de ossos e dentes, diminuindo também a possibilidade de adquirir osteoporose (Macdonald, 2008). O cálcio tem importante papel no organismo, contribuindo na formação do tecido ósseo, promovendo crescimento, deixando o sistema regulado e aumentando a resistência contra infecções (Muniz, *et al.*, 2013).

3.2 LEITE ASININO: CARACTERÍSTICAS E COMPOSIÇÃO

Os *Equus asinus* são conhecidos por diferentes nomes regionais como jumento, jegue, asno e burro. As distintas raças e variedades desta espécie encontradas no continente europeu teriam surgido e se diversificado de acordo com as condições climáticas, geográficas e ecológicas de cada região (Machado, 2015). Estes animais apresentam características específicas como força, resistência e rusticidade, principalmente se tratando de climas quentes, se adequando a regiões semiáridas (Câmara, 2021). Em termos de padrão morfológico, os animais desta raça são corpulentos e robustos, com a cabeça volumosa, perfil reto, frente larga, face curta e orelhas grandes e largas (Aepga, 2005; Quaresma *et al.*, 2005). Destacam-se três raças de asininos, os quais foram trazidos pelos colonizadores: o asinino Nordestino (ecótipo), o asno Brasileiro e o asno Pêga (Mariante; Cavalcante, 2006; Almeida, 2009).

O desenvolvimento do leite de jumenta pode mudar dependendo das condições genéticas, fisiológicas, ambientais e nutricionais devido a produção e composição do leite serem influenciadas por fatores relacionados ao regime de manejo, ordem de entrega e fisiologia

(Martini *et al.*, 2014; Rangel *et al.*, 2015). O leite demonstra um alto potencial como matéria-prima para a fabricação de produtos de beleza e cosmética. Médicos e nutricionistas têm demonstrado interesse no leite asinino, devido suas características terapêuticas, sendo um bom substituto para o leite humano materno e para o leite bovino, resultante para o tratamento de crianças que sofrem de alergia à proteína do leite de vaca (APLV) (Salimei; Fantuz, 2010).

A produção de leite asinino pode ser vista em menor escala, pois a produção é em média apenas 100-150 litros de leite em cada período de lactação (colostro, leite de transição e leite maduro) (Martini *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2018). Segundo D'Alessandro e Martemucci (2012), os equídeos têm uma capacidade de armazenamento menor quando comparados aos ruminantes.

O leite asinino tem como característica a cor branca, textura fina e leitosa, com aroma e sabor moderadamente doce e agradável (Madhusudan *et al.*, 2017). Quando comparado a composição proteica, o leite asinino é mais semelhante ao leite humano, onde a proteína mais interessante é a lisozima, presente em ambos os leites e com nível de similaridade parecido (Businco *et al.*, 2000; Carroccio *et al.*, 2000).

Seus principais componentes são: proteínas, lipídios, carboidratos, minerais e vitaminas. As proteínas do leite asinino podem ser classificadas em três classes: caseínas, proteínas do soro do leite e proteínas de membrana do glóbulo de gordura do leite (Aspri; Aconomou; Papademas, 2017). Possuindo também α -lactoglobulina que se assemelha ao do leite humano, e possui β -lactoglobulina (Vincenzetti *et al.*, 2017).

Quadro 1. Composição proteica do leite asinino

Componentes	(g/100 mL)
Proteínas totais	1,74
Caseína total	0,66
α S1-caseína	0,02 – 0,1
α S2-caseína	0,02
β -caseína	0,39
κ -caseína	nd*
Proteínas do soro	0,75
β -lactoglobulina	0,32 – 0,37
α -lactalbumina	0,18 – 0,3

*nd – não detectado.

Fonte: Adaptado de Mati *et al.* (2017); Vincenzetti *et al.* (2017).

A composição e concentração de lipídeos são diferentes em períodos de lactação; possuindo baixo teor de gorduras totais, mas com uma excelente fonte de ácidos graxos

insaturados, baixo teor de gordura e colesterol (li; liu; guo, 2017; massouras *et al.*, 2017). Obtendo cerca de 1,21 g/100mLs (Mati *et al.*, 2017; Vincenzetti *et al.*, 2017).

A lactose é o principal carboidrato presente em leites, incluindo o leite asinino. É um dissacarídeo formado por glicose e galactose e sua concentração é em cerca de 6,23 g/100 mL (Mati *et al.*, 2017; Vincenzetti *et al.*, 2017). Segundo Martini (2018), estudos apontam que ao utilizar a lactose como um substrato para a multiplicação da microbiota intestinal, ela age como um probiótico.

Os minerais são importantes no desenvolvimento de processos biológicos e na estrutura esquelética, por isso é essencial para a manutenção de uma boa saúde, os minerais afetam a estabilidade, propriedades e as características nutricionais do leite, entre os macrominerais que podem ser encontrados em grande quantidade no leite asinino é o potássio, cálcio, magnésio, fósforo, zinco e sódio (Malacarne *et al.*, 2017).

Quadro 2. Componentes minerais do leite asinino

Componentes	Leite asinino	
Minerais (g/L)	Mínimo	Máximo
Potássio	0,24	0,96
Cálcio	0,36	0,18
Magnésio	0,02	0,11
Zinco	2,16	4,56
Fósforo	0,32	0,84
Sódio	0,11	0,26

Fonte: Adaptado de Altomonte *et al.* (2019).

Segundo Altomonte *et al.* (2019) em relação às vitaminas do leite asinino, quem ganha destaque é a vitamina C possuindo cerca de 12000 a 57000 µg/L, em seguida a vitamina B1 possuindo 210 a 2550 µg/L, vitamina B2 40 a 970 µg/L e vitamina E com 59,4 a 807 µg/L. Vincenzetti *et al.*, (2021) relata que o leite asinino é uma boa fonte de vitamina C para crianças e adultos, devido essa vitamina possuir atividade antioxidante, eliminando radicais livres, absorvendo o ferro do intestino e protegendo contra a dermatite atópica.

Nas vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) destaca-se a vitamina E, conhecida como 26 tocoferol, um excelente antioxidante natural pois protege as membranas celulares contra a

oxidação e a peroxidação. Já as vitaminas B1 (tiamina) e B2 (riboflavina), do complexo B, estão em maior quantidade e são frequentemente associadas a melhora da saúde humana quando incluídas na dieta (Aspri *et al.*, 2017).

O leite asinino vem adquirindo uma maior visibilidade para a produção tecnológica de derivados lácteos. Faccia *et al.* (2018) apresentaram um queijo fresco oriundo do leite asinino, que foi aprovada e aceita pela qualidade sensorial, feita a partir do coalho de vitelo, sendo ajustado os parâmetros de coagulação, a utilização de leite asinino e leite caprino juntos mostra que é possível preparar um produto misto, resultando em queijo semiduro. Também vem sendo elaborado a partir do leite de jumenta com adição de cepas probióticas, cepas produtoras de ácido fólico, produtos como os leites fermentados (Coppola *et al.*, 2002; Perna *et al.*, 2015; Tidona *et al.*, 2015; Turchi *et al.*, 2017; Aspri *et al.*, 2018; Charfi *et al.*, 2018).

3.3 SORO DO LEITE: FORMAÇÃO E COMPOSIÇÃO

O soro é a porção aquosa liberada do coágulo no decorrer da fabricação de queijos ou caseína. (Mizubuti, 1994; Bieger e Rinaldi, 2009). De acordo com os estudos de Haraguchi *et al.*, (2006) o soro do leite pode ser obtido através de três principais processos: separação física das micelas de caseína por microfiltração, onde obtém um composto de micelas e proteínas do soro; coagulação enzimática, ocasiona a precipitação de caseínas, servindo de matéria-prima para a fabricação de queijos; precipitação ácida, pela obtenção da baixa do pH ao ponto isoeletrico da caseína (Krissansen, 2007).

Cerca de 90 % do volume do leite usado para a obtenção de queijos ocasiona em soro, o qual contém, quase metade dos sólidos totais do leite, incluindo sais, proteínas e lactose (Pacheco *et al.*, 2005; Chaves *et al.*, 2010). A composição e o tipo de soro de leite produzido industrialmente vão depender do tipo de queijo que será fabricado e da tecnologia de processamento realizada durante a produção (Silveira; Abreu, 2003).

As pesquisas sobre o soro de leite indicam que o mesmo tem alto valor proteico, biológico e tecnológico, podendo ser transformados em novos produtos. Com o investimento em ciência e tecnologia aumentando cada vez mais, este mercado se mostra promissor, uma vez que um subproduto que há anos era destinado a alimentação de animais ou descartado no meio ambiente, hoje é um alimento altamente nutritivo.

Segundo Silva (2017), uma relevante quantidade de soro de leite é descartada no Brasil, gerando resíduo industrial que tem como consequência um significativo impacto ambiental. Considera-se que cerca de 40% do soro de leite gerado pelas pequenas indústrias de laticínios

é jogado em rios, sem tratamento prévio, o que resulta em danos ambientais elevados. O reaproveitamento dos resíduos tem sido estudado para melhorar a eficiência econômica dos laticínios e minimizar os impactos ambientais (Mizubuti, 1994; Bieger E Rinaldi, 2009).

Pesquisas recentes têm observado alternativas para o aproveitamento do soro, como a utilização do soro na fabricação de ingredientes para bebidas lácteas, agentes estabilizantes e suplementos alimentares, entre outras aplicações, o que resultaria em produtos oriundos desta matéria prima uma agregação de valor. Esses estudos buscam não apenas encontrar formas sustentáveis de aproveitamento de resíduos industriais, mas também explorar os benefícios proteicos presentes no soro de leite. Sendo assim, o uso desse soro nas indústrias de alimentos e também na área da saúde podem ajudar positivamente o desenvolvimento de produtos saudáveis e funcionais (Henriques *et al.*, 2020; Souza *et al.*, 2019; Silva *et al.*, 2017).

O soro do leite asinino tem despertado interesse devido às suas características similares ao leite humano. A investigação científica deste subproduto é de suma importância para a valorização da espécie animal, havendo a possibilidade de serem criados produtos de alto valor agregado, proporcionando inovação tecnológica e valorização da matéria prima.

3.4 POTENCIAL FUNCIONAL E TECNOLÓGICO DO SORO DE LEITE ASININO

Tsakali *et al.* (2015) apontam que o soro de leite asinino, um subproduto líquido decorrente do processo de fabricação de queijo, é caracterizado pela coagulação do leite e subsequente remoção da caseína. As características nutricionais dependem da espécie de origem. Mas, o desafio do estudo do soro de leite de jumenta como subproduto, é impelida devido a presença de níveis elevados de água, sais minerais e lactose.

A técnica de ultrafiltração (UF) é uma estratégia propícia para a concentração do soro de leite. Esta técnica elimina a exigência da utilização de altas temperaturas, preservando as propriedades proteicas do soro, o que é de grande importância pois as proteínas tem alto valor nutricional podendo ser utilizadas em aplicações alimentares (Iltchenko *et al.*, 2018). A técnica UF ocorre pela separação por membrana, permitindo a passagem de pequenas moléculas e de água, enquanto as proteínas são retidas como macromoléculas.

Blanca *et al.* (2019) corrobora de forma acentuada que as enzimas lisozima e lactoferrina são consideradas proteínas de alto valor bioativo, contendo propriedades antitumorais, ação antioxidante, atividade microbiana, diabetes, efeito imunomodulador, doenças cardiovasculares, entre outros. A lisozima pode exercer uma resposta imunológica intestinal devido a sua resistência ácidos e proteases (Tidona *et al.*, 2011) e atuar também no

acontecimento de infecções gastrointestinais em bebês (Cosentino *et al.*, 2015). Essa combinação de técnicas traz como efeito positivo a eliminação de componentes indesejados, como a lactose, o que torna mais atrativo para aplicações industriais e alimentos (Iltchenko *et al.*, 2018).

Mansueto *et al.* (2013) relata que devido possuir uma elevada quantidade de lactose, em termos qualitativos tendem a ser preferível para as indústrias farmacêuticas, pois lhe confere uma melhor palatabilidade, melhorando a mineralização dos ossos devido a absorção intestinal do cálcio.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 LOCAL DO EXPERIMENTO

O experimento foi realizado no Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias, localizado no Campus III da Universidade Federal da Paraíba, na cidade de Bananeiras – PB. A pesquisa e as análises físico-químicas foram conduzidas no Laboratório de Cromatografia e Espectrometria (LACE) do Programa de Pós Graduação e Tecnologia Agroalimentar (PPGTA) e no Laboratório de Análises Físico-Químicas dos Alimentos (LFQA).

4.2 OBTENÇÃO DO LEITE

O leite asinino foi obtido em Garanhuns, Pernambuco, de rebanhos da raça “Nordestina”, de jumentas saudáveis, primíparas e/ou múltiparas, sem limitação de idade, em diferentes fases de lactação. As coletas do leite passaram por ordenha manual e as amostras foram acondicionadas em garrafas de polietileno de 1 L. Após coleta, os leites transportados estavam em temperatura de refrigeração (4 ± 1 °C) e foram armazenados a -80 °C até a execução das análises.

4.3 PREPARAÇÃO DO SORO DE LEITE ASININO (SLA)

Para a preparação do SLA, o leite asinino foi centrifugado a 4700 g (4°C) por 30 min para separação da gordura. A gordura superior do leite foi descartada e o pH do leite desnatado restante foi ajustado para 4,6 com HCl 1 M, seguido de incubação em banho-maria (40 °C) por 20 min. Em seguida, o leite desnatado passou a ser centrifugado a 8.000 g a 4 °C por 20 min para obtenção do sobrenadante (soro de leite) e do pellet (caseína). O soro de leite (SLA) manteve-se armazenado a -18 °C até uso posterior (Zhou *et al.*, 2023).

4.4 DIGESTÃO SIMULADA *IN VITRO*

A digestão simulada *in vitro* do soro asinino foi realizada conforme o método proposto pelo consórcio INFOGEST (Brodkorb *et al.*, 2019). Para cada fase, foram utilizados fluidos simuladores específicos:

Fase Gástrica: Foi adicionado 7,5 mL do Simulador de Fluido Gástrico (SFG), 5 mL de CaCl₂ 0,3 M, 695 µL de água destilada junto com 0,128g da pepsina a uma concentração final

apropriada para replicar as condições gástricas. O pH da mistura foi ajustado para 3,0 usando ácido clorídrico (HCl), a incubação ocorreu a 37 °C por 2 horas com agitação, para simular a digestão gástrica.

Fase Intestinal: A amostra resultante da fase gástrica foi misturada com 11mL do Simulador de Fluido Intestinal (SFI), 4μL de CaCl₂ 0,3 M, 0,04g de pancreatina e 0,2g de sais biliares para replicar as condições do intestino delgado. O pH foi ajustado para 7,0 utilizando NaOH, e a mistura foi incubada a 37 °C por 2 horas com agitação, simulando a ação das enzimas pancreáticas e bile no processo digestivo.

4.5 CARACTERIZAÇÃO DO SORO DE LEITE ASININO

A análise da composição centesimal do soro de leite asinino, que abrange os parâmetros de umidade, proteína, gordura, cinzas e sólidos totais, foi conduzida conforme as metodologias recomendadas pela Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2016) e pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008). A quantificação das proteínas, expressas como nitrogênio total, foi realizada pelo método Micro-Kjeldahl. Para a determinação dos sólidos totais, foi empregada a técnica de secagem em estufa a 105 °C por um período de 24 horas. As cinzas foram obtidas por meio de um processo de carbonização seguido de incineração em forno mufla estabilizado à temperatura de 550 °C. Os açúcares redutores foram determinados conforme o método de Lane e Eynon (1934). A acidez do soro foi avaliada utilizando a metodologia da AOAC (2012), sendo expressa em g/100 g de ácido lático. A determinação do pH foi realizada com o auxílio de um pHmetro de bancada modelo K39-1410A (Kasvi, Brasil).

4.6 DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS SOLÚVEIS

As proteínas solúveis foram dosadas no soro e nos digeridos gástrico e intestinal determinadas pelo método de Bradford (1976), por comparação com a resposta de cor dos padrões de ensaio de proteína, preparados com uma série de diluições conhecidas de albumina sérica bovina (BSA). Adicionou 100 μL de amostra mais 2500 μL do reagente de Bradford, em seguida foi feita a leitura em espectrofotômetro no comprimento onda de 595 nm.

4.7 DIGESTIBILIDADE DAS PROTEÍNAS

A quantificação da proteína digerível foi realizada por meio da seguinte metodologia: inicialmente, foi medida a proteína total do soro de leite asinino (SLA) antes da digestão. Em seguida, determinou-se a proteína total ao final da digestão intestinal. A diferença entre os valores de proteína total no início e ao final da digestão foi calculada e, posteriormente, dividida pela proteína total inicial. O resultado foi multiplicado por 100 para obter a porcentagem de digestibilidade da proteína. Da mesma forma, a proteína solúvel total foi medida antes da digestão e comparada à proteína solúvel total ao final do processo digestivo. A diferença entre esses valores foi dividida pela proteína total inicial, e o resultado também foi multiplicado por 100 para calcular a porcentagem de proteína solúvel digestível.

4.8 PERFIL PROTEICO POR ELETROFORESE SDS-PAGE

A análise foi realizada no soro de leite asinino (SLA) e seus digeridos gástrico e intestinal. A técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida na presença de dodecil-sulfato de sódio (SDS-PAGE) foi conduzida conforme o procedimento estabelecido por Leammili (1970). Para esse propósito, foi empregado como padrão, um marcador proteico de peso molecular variando de 12 kDa a 225 kDa (BenchMark™ Protein Ladder). Ao término da corrida eletroforética, os geis foram submetidos a uma série de etapas, incluindo incubação, coloração, descoloração e análise dos resultados.

4.9 PERFIL DE HIDROFOBICIDADE RP-HPLC

O perfil de hidrofobicidade foi determinado de acordo com Akan (2021), com modificações. 2 ml das amostras foram tratadas em um banho ultrassônico por 10 minutos e posteriormente centrifugadas a 2060 x g por 10 minutos.

Os sobrenadantes resultantes das amostras foram filtrados em papel de filtro e transferidos para uma seringa equipada com um filtro de poros de diâmetro de 0,45 µm. O perfil de hidrofobicidade foi obtido através da separação em uma coluna Nova-Pak C18 (4,6 mm x 250 mm, com partículas de 4 µm, Cartridge, Waters, Irlanda), conectada a um Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (Varian, Waters 2690, Califórnia, EUA).

A fase móvel utilizada foi composta pelo Eluente A, que consiste em ácido trifluoroacético a 0,1% em água ultrapura, e pelo Eluente B, que consiste em ácido

trifluoroacético a 0,1% em acetonitrila. A coluna foi equilibrada por 30 minutos utilizando 100% do tampão A. O volume de injeção do extrato solúvel foi de 20 µL, e um gradiente linear de eluente (A) e eluente (B) foi aplicado ao longo de 60 minutos, com um fluxo de 1 mL/min. As detecções foram realizadas a 214 nm.

4.10 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

A análise foi realizada no soro de leite asinino (SLA), no digerido gástrico e intestinal pelo método ABTS. A solução estoque de ABTS a 7 mM foi preparada dissolvendo 0,1920 g de ABTS em água MiliQ, completando o volume até 50 mL em um balão volumétrico, homogeneizado e armazenado em frasco de vidro âmbar sob refrigeração por até um mês. A solução de persulfato de potássio a 140 mM foi obtida dissolvendo 0,3784 g do composto em água MiliQ até 10 mL, também homogeneizada e armazenada em frasco âmbar.

Para o procedimento, foi utilizado tubos de ensaio de 5 a 10 mL e adicionado 3,0 mL da solução diluída de ABTS e 30 µL de Trolox ou dos extratos das amostras. A mistura foi agitada em vortex por 10 segundos e repousada por 6 minutos à temperatura ambiente. O espectrofotômetro foi ligado 30 minutos antes da leitura a 734 nm, zerado com um branco de etanol. A absorbância da solução controle de ABTS e da mistura foi registrada para cálculo da porcentagem de inibição.

O radical ABTS•+ foi preparado misturando 5 mL da solução estoque de ABTS com 88 µL de persulfato de potássio, mantido no escuro por 16 horas e diluído em álcool etílico até uma absorbância de $0,70 \pm 0,05$ a 734 nm, sendo utilizado no mesmo dia. A solução padrão de Trolox a 2 mM foi feita dissolvendo 0,025 g de Trolox em álcool etílico até 50 mL e utilizada no dia da análise. A curva padrão foi estabelecida a partir dessa solução, com volumes pipetados em balões volumétricos de 10 mL, completando com etanol em triplicata.

4.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Todos os experimentos foram feitos em triplicata. Os resultados foram expressos como média±desvio padrão e comparados usando ANOVA e Tukey Post hoc test ($P < 0,05$). A análise estatística dos dados fez-se com o software SAS Ondemand for Academics (SAS Institute Inc., EUA) e com o Microsoft Excel.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 COMPOSIÇÃO BÁSICA, pH E ACIDEZ DO SORO

A composição básica, o pH e a acidez do soro de leite asinino, expressos como média e desvio-padrão, podem ser observados na Tabela 1. O soro de leite asinino contém um elevado teor de umidade ($91,88 \pm 0,29\%$), refletindo a alta presença de água, característica comum em soros lácteos. A concentração proteica é relativamente baixa, com um valor de $1,27 \pm 0,15\%$, o que sugere que a fração de proteínas do soro (predominantemente proteínas solúveis como a lactoalbumina e a lactoglobulina) está presente em quantidades moderadas, comparável a outros soros de leite de diferentes espécies.

Tabela 1. Composição básica, pH e acidez do soro asinino

Parâmetro	Soro Asinino (média \pm desvio-padrão)
Umidade (%)	$91,88 \pm 0,29$
Proteína (%)	$1,27 \pm 0,15$
Açúcares Redutores (%)	$3,47 \pm 0,21$
Cinzas (%)	$0,45 \pm 0,39$
pH	$3,5 \pm 0,00$
Acidez ¹	$0,24 \pm 0,00$

¹Acidez em ácido láctico. (%)=g/100mL

O teor de açúcares redutores, indica uma quantidade considerável de carboidratos, principalmente lactose, que desempenha um papel fundamental tanto no fornecimento de energia quanto nas características organolépticas do soro, como o sabor ligeiramente adocicado. O teor de cinzas, indica a presença de minerais, embora em baixa concentração. O pH foi determinado em $3,5 \pm 0,00$, revelando uma acidez relativamente alta para o soro, o que é consistente com a natureza dos produtos lácteos após a remoção de proteínas e gordura. A acidez titulável foi de $0,24 \pm 0,00$, corroborando o pH ácido observado.

Esses resultados fornecem um perfil abrangente da composição do soro de leite asinino, destacando seu alto teor de umidade, baixa concentração proteica e acidez pronunciada. Tais

características são relevantes para a exploração do soro em diversas aplicações industriais e alimentares, incluindo a produção de alimentos fermentados ou suplementos nutricionais. Além disso, sua composição pode ser comparada com a de soros de outras espécies, o que pode indicar potenciais usos diferenciados em função de suas propriedades específicas Pinto, (2010) ao fazer a composição do soro de leite bovino observou que havia 0,9% de proteína, o teor de umidade é próximo, com 93,5% e cinzas 0,7%. Sanmartin *et al.*, (2012) observou em suas análises que a quantidade de proteínas é 0,63% , o que consta que o soro de leite asinino permanece com a proteína maior que ambos os soros bovino e caprino. O pH é maior com 6,3% e cinzas 0,57%.

5.2 DIGESTIBILIDADE DE PROTEÍNAS TOTAIS E SOLÚVEIS

A digestibilidade da proteína foi avaliada a partir da quantificação das proteínas totais e solúveis. Observou-se que estas diminuíram bruscamente na fase gástrica, em relação à quantidade de proteínas presente no soro antes da digestão (Tabela 2). A concentração média de proteínas totais em SLA foi de 1,27g/100mL, com redução significativa do teor de proteína total observado em GA e IA durante o processo digestivo, indicando uma digestibilidade de 41,43% das proteínas.

A concentração média de proteínas solúveis foi de 0,55 g/100mL de soro. No GA e IA, a proteína solúvel foi de 0,03 g/100mL e 0,03 g/100mL, o que indica alta digestibilidade das proteínas solúveis (94,54%). Os aminoácidos eles formam os peptídeos e estes são capazes de formar as proteínas, a maior diferença entre aminoácidos, peptídios e proteínas, é a quantidade de aminoácidos que cada um contém, onde é justificável o decréscimo com base na extensão da hidrólise proteica no processo digestivo, transformando proteínas em peptídeos e aminoácidos.

Tabela 2. Proteínas totais, solúveis e digestibilidade proteica do soro asinino antes e após digestão simulada *in vitro*

Soro Asinino	Proteína total ¹ (g/100mL)	Proteína solúvel ² (g/100mL)
SA	1,27 ^a ± 0,15	0,55 ^a ± 0,25
GA	0,93 ^b ± 0,06	0,03 ^b ± 0,00
IA	0,73 ^b ± 0,15	0,03 ^b ± 0,01
Digestibilidade (%)	41,43 ± 13,90	94,54 ± 0,42

¹Método de Kjeldalh. ²Método de Bradford. SA = Soro Asinino; GA = Soro digerido gástrico; IA = Soro Digerido intestinal. Letras diferentes na mesma coluna diferem no teste de tukey a 5%

Esses dados fornecem informações importantes sobre a digestibilidade das proteínas do soro asinino, mostrando uma significativa redução nas frações proteicas ao longo da digestão com possível produção de peptídeos. Muitos peptídeos podem ser transportados para a corrente sanguínea e ter ação bioativa no tecido alvo, como também podem atuar bioativamente ainda no intestino delgado (Shimizu, 2004), modulando, por exemplo a absorção de minerais (Udenigwe; Aluko, 2011).

O método de Bradford se mostrou eficiente para a quantificação de proteínas solúveis, uma vez que o corante azul de Coomassie forma complexos com as proteínas em pH ácido, resultando no desenvolvimento de uma coloração azul intensa (Sapan, Lundblad e Price, 1999). Entretanto, conforme sugerido por Sapan et al. (1999), esse método pode não ser adequado para quantificar peptídeos com massa molecular inferior a 3 kDa, já que peptídeos de cadeias curtas não formam complexos suficientes para gerar a mudança de cor necessária. A progressiva diminuição das proteínas solúveis ao longo da digestão reflete a crescente degradação proteica, o que explica o aumento da digestibilidade, especialmente no estágio intestinal, conforme as proteínas são quebradas em peptídeos e aminoácidos menores.

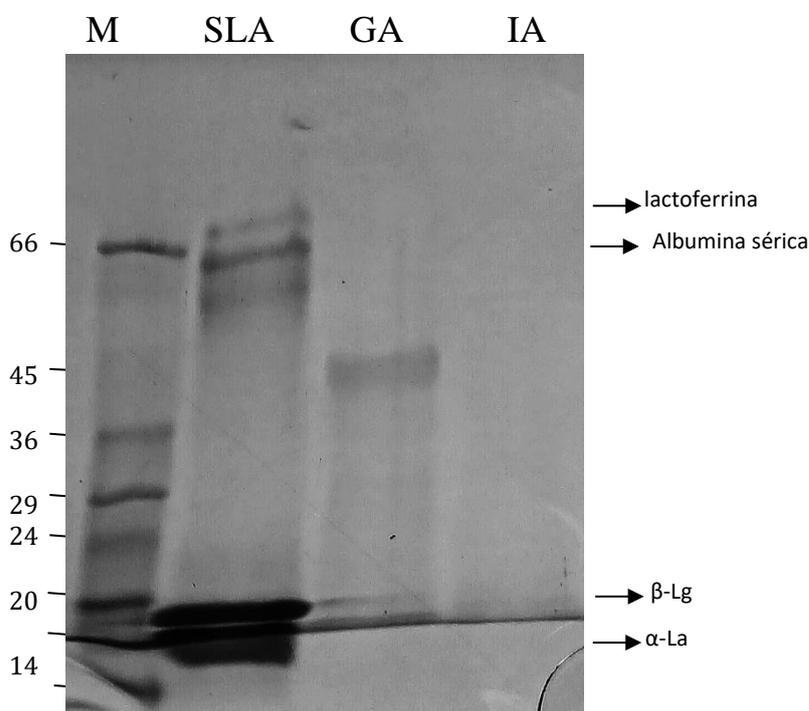
5.3 ELETROFORESE SDS-PAGE

Na análise de eletroforese em gel de poliacrilamida, as proteínas presentes na amostra foram separadas de acordo com seu peso molecular, conforme ilustrado na Figura 1. As proteínas foram identificadas com base na comparação de suas bandas com a escala de pesos moleculares (66 a 6,5 kDa) e com padrões proteicos conhecidos. No soro, a banda mais intensa observada, com aproximadamente 18 kDa, corresponde à β -lactoglobulina (β -Lg), sugerindo que esta é a fração proteica predominante na amostra inicial. Além da β -Lg, foram identificadas outras proteínas, como a α -lactoalbumina (α -La), com peso molecular de 14,2 kDa. No topo da escala de pesos moleculares, foram observadas bandas correspondentes à lactoferrina (~66 kDa) e à albumina sérica (~45 kDa), ambas apresentando menor intensidade relativa.

Durante o processo de digestão, no entanto, observou-se uma diminuição progressiva na intensidade das bandas proteicas ao longo das amostras digeridas, indicando que a pepsina e a pancreatina promoveram a hidrólise das proteínas presentes. Após digestão gástrica, observa-se apenas duas bandas proteicas com baixa intensidade, na faixa de 45 kDa e outra próxima a 20 kDa. Possivelmente, a clara redução das bandas, em especial das proteínas de maior peso molecular, como a lactoferrina e albumina sérica, resultou em fragmentos peptídicos de peso molecular menor. Além disso, é possível observar a presença, mesmo com intensidade

menor, da β -Lactoglobulina (18,4 kDa), pois esta é mais resistente à ação da pepsina (Vuolo, 2012).

Figura 1 - Eletroforese SDS-PAGE das amostras de soro asinino



M= marcador; SLA=Soro asinino; GA =Digerido gástrico; IA=Digerido intestinal

A predominância da β -Lg e α -La no início da análise é consistente com o perfil proteico típico de derivados do soro de leite. No entanto, após o processo digestivo, o desaparecimento da maioria das proteínas evidencia o impacto da hidrólise enzimática, tornando-se relevante para o entendimento da bioacessibilidade e biodisponibilidade dos aminoácidos provenientes dessas proteínas. Estudos anteriores indicam que a β -Lg, com peso molecular de aproximadamente 18,4 kDa e valor de pI de 5,1 (Tavares, 2011; Fee *et al.*, 2013), é uma importante fonte de aminoácidos essenciais. Além de suas propriedades nutritivas, ela é amplamente aplicada na nutrição esportiva e dietética (Toro-Sierra *et al.*, 2013), sendo seu grau de digestão um fator crucial para a sua funcionalidade nutricional.

A α -La, a segunda maior proteína do soro de leite, com peso molecular de cerca de 14,2 kDa e pI de 4,2 (Fee *et al.*, 2013), também demonstrou significativa redução na intensidade de suas bandas durante o processo digestivo, confirmando sua hidrólise pela ação das enzimas pepsina e pancreatina. Tal como a β -Lg, a α -La tem importância nutricional e tecnológica, e sua digestibilidade afeta diretamente sua absorção e aplicação em formulações alimentares.

Na fase intestinal, observa-se a hidrólise quase completa das proteínas do soro, com bandas muito claras que podem ser resíduos de peptídeos e aminoácidos, reforçando o fato de que as proteínas foram degradadas durante a digestão enzimática, como também observado na Tabela 2. O desaparecimento quase completo de algumas bandas na eletroforese confirma a ação hidrolítica das enzimas pepsina e pancreatina, resultando em fragmentos proteicos de tamanhos menores que não são visíveis nas faixas de peso molecular apresentadas.

Portanto, os resultados demonstram que a digestão das proteínas do soro de leite por pepsina e pancreatina foi eficaz, promovendo uma hidrólise significativa das frações proteicas. A redução e eventual desaparecimento das bandas na eletroforese confirmam a ação das enzimas digestivas, revelando um perfil proteico altamente hidrolisado, o que é de grande relevância para estudos sobre a biodisponibilidade de nutrientes e a funcionalidade de proteínas hidrolisadas em produtos alimentícios e nutricionais.

5.4 PERFIL DE HIDROFOBICIDADE

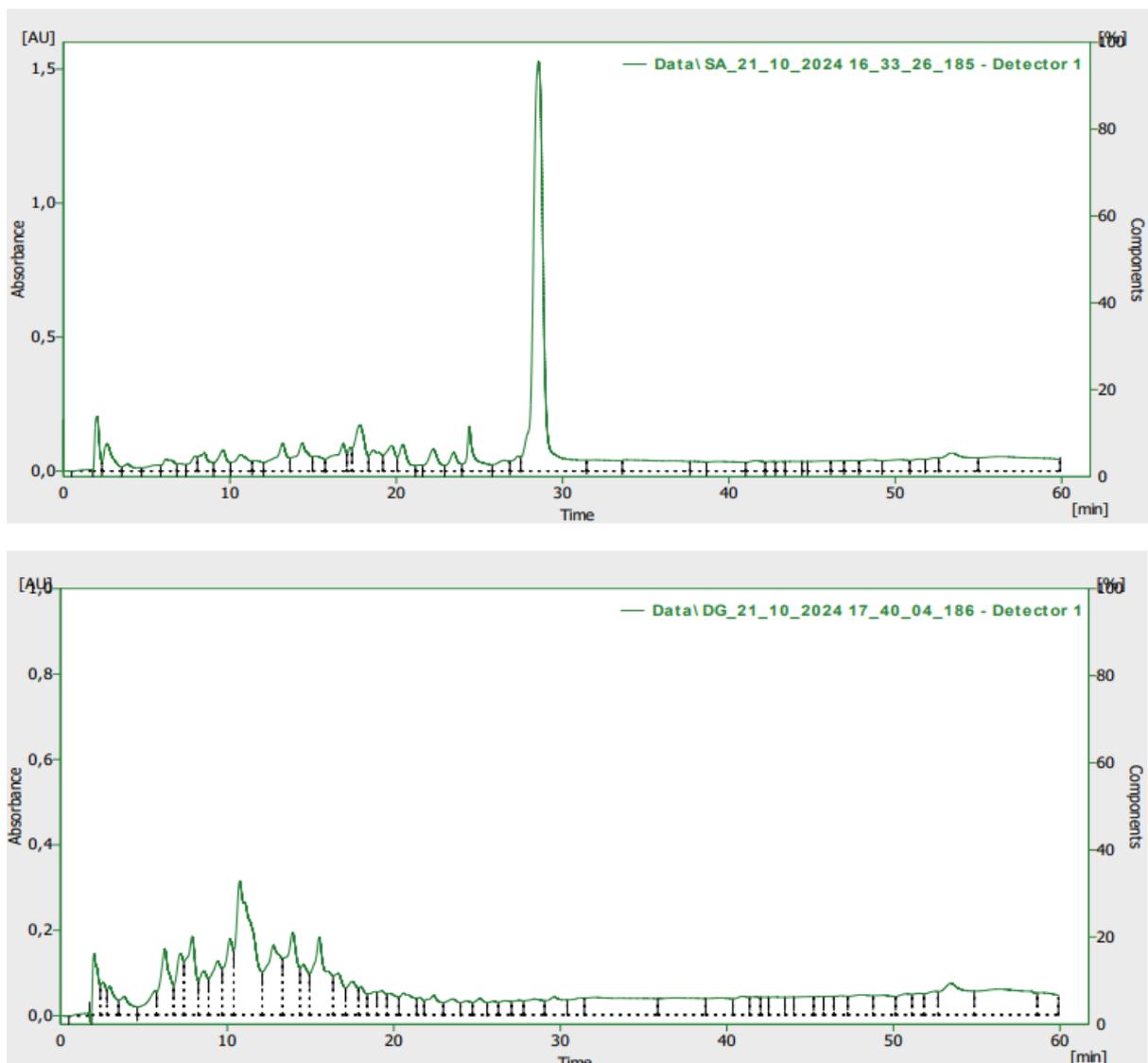
Nos cromatogramas do perfil de hidrofobicidade das amostras, foi possível observar mudanças no número de picos cromatográficos, na área total e no perfil de eluição dos picos. Os picos detectados nos primeiros 15 minutos, em alta concentração do eluente A, apresentaram peptídeos com baixa hidrofobicidade. Os picos detectados entre 15 e 30 minutos, em concentração do eluente A sendo reduzida de 75% a 50%, apresentaram peptídeos com hidrofobicidade intermediária. Quando a concentração do eluente B foi aumentada, os peptídeos hidrofóbicos puderam ser detectados de forma mais eficiente.

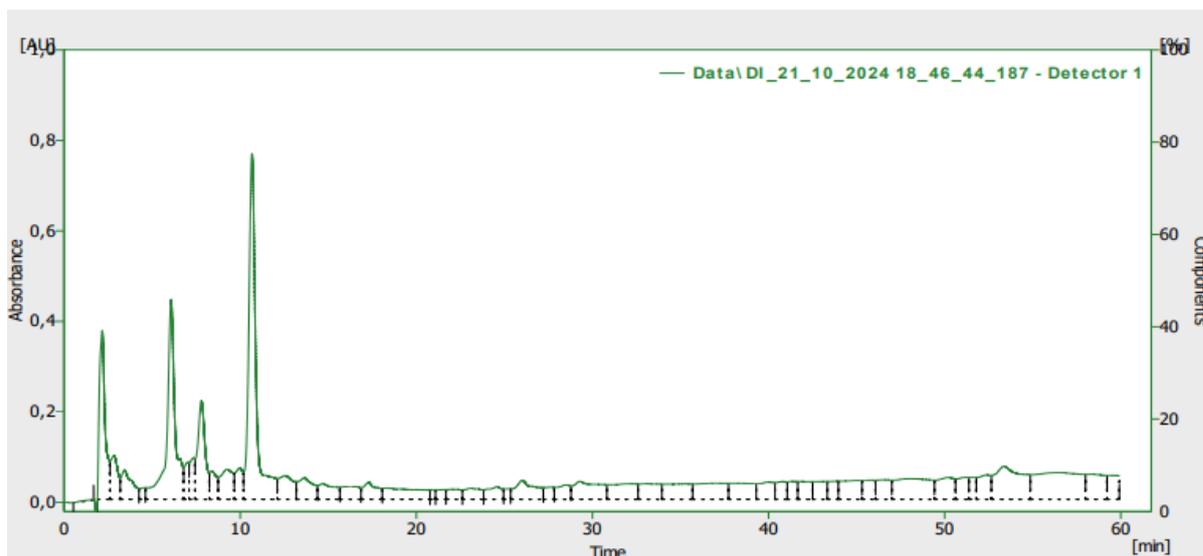
Percebe-se a presença maior de picos na zona de hidrofobicidade intermediária no soro asinino, com destaque para um composto eluído próximo a 30 minutos, quando existia 50% do eluente A e 50% do eluente B. Possivelmente, trata-se de proteínas do soro, como a β -lactoglobulina e a α -lactoalbumina, que apresentam uma combinação de características hidrofóbicas e hidrofílicas (Minj; Anand, 2020). A presença da proteína do soro intacta explica a maior área total observada para o SLA ($22,16 \times 10^4$), em comparação ao GA ($21,54 \times 10^4$) e IA ($17,70 \times 10^4$).

A redução na área total dos picos cromatográficos em função da extensão da digestão, evidencia a degradação das proteínas presentes no leite. Após digestão gástrica e intestinal, vários novos picos de peptídeos apareceram na zona de baixa hidrofobicidade. Porém, a hidrólise pela pepsina ainda resultou na formação de um maior número de peptídeos, quando comparado à hidrólise pela pancreatina, sugerindo que as condições gástricas afetaram de

maneira mais intensa as ligações peptídicas, liberando um maior número de resíduos de peptídeos e aminoácidos. Em contraste, a hidrólise mediada pela pancreatina gerou menos peptídeos, uma vez que muitas proteínas já haviam sido degradadas na fase gástrica. Os perfis peptídicos dos leites antes e após a digestão estão de acordo com os dados obtidos por eletroforese (Figura 1), que confirmaram a degradação enzimática das proteínas pela pepsina e pela pancreatina, resultando na liberação de peptídeos de menor peso molecular.

Figura 2 - Perfil de hidrofobicidade por cromatografia de fase reversa (RP-HPLC) do soro asinino antes e após digestão simulada in vitro

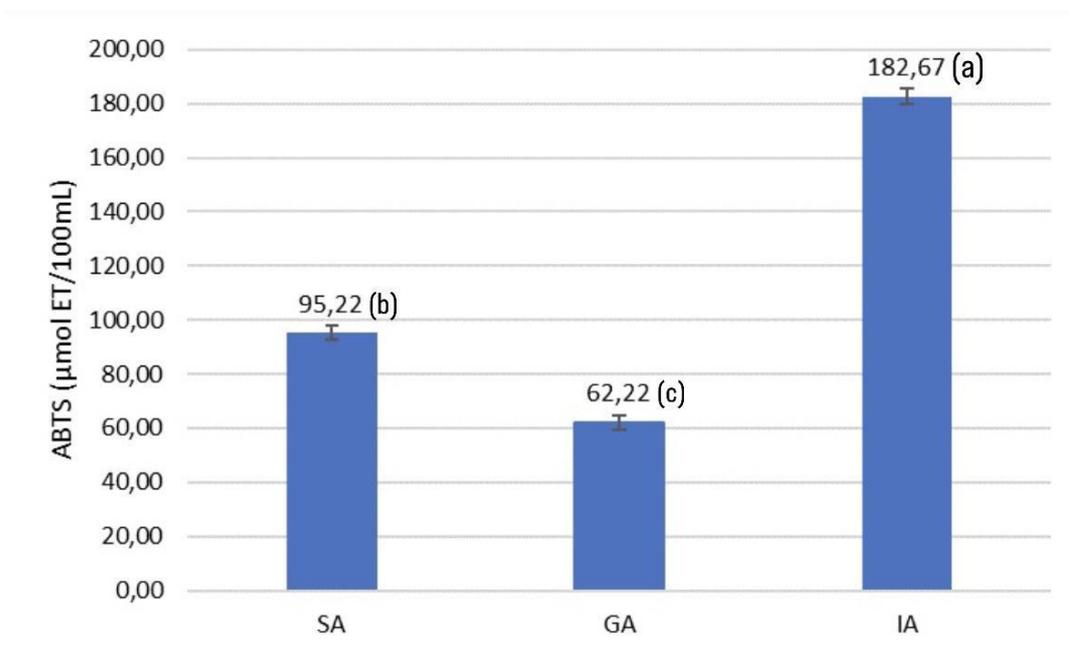




No processo digestivo ocorre a hidrólise enzimática das proteínas, formando proteínas de baixo peso molecular, peptídeos e aminoácidos. Estes produtos da hidrólise são mais hidrofílicos e conseqüentemente tendem a ser mais bioacessíveis, visto que a água é o principal solvente em nosso corpo e a absorção de compostos hidrofílicos é mais eficiente do que a de compostos hidrofóbicos. Nos cromatogramas cada pico corresponde a um composto e ao longo da corrida percebemos a eluição dos compostos de acordo com a sua polaridade, os mais polares eluem primeiro e o menos polares eluem por último. Portanto, maiores quantidades de picos nos minutos iniciais indicam a presença majoritária de compostos polares, ou seja, hidrofílicos.

5.5 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os resultados do ensaio de capacidade antioxidante utilizando o método ABTS, expresso em μmol equivalentes de Trolox (ET) por 100 mL de amostra, após as fases de digestão gástrica (GA) e intestinal (IA), podem ser observados na Figura 3. Percebe-se uma variação significativa na capacidade antioxidante entre as amostras, sugerindo que o processo digestivo pode influenciar na produção de compostos antioxidantes.

Figura 3 - Atividade antioxidante ABTS do Soro asinino e dos digeridos gástrico e intestinal

Os dados apresentados demonstram que a amostra IA apresentou a maior capacidade antioxidante ($p < 0,05$), com um valor de 182,67 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ mL}$. Em contraste, a amostra GA exibiu a menor capacidade antioxidante, com um valor de 62,22 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ mL}$. A amostra SA apresentou um valor intermediário de 95,22 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ mL}$. Esses resultados sugerem que a amostra IA possui um maior potencial antioxidante em comparação às amostras GA e SA, o que pode refletir uma maior concentração de compostos bioativos capazes de neutralizar radicais livres nessa amostra. A digestão gastrointestinal pode encurtar cadeias de peptídeos em vários graus, produzindo diferentes eficiências antioxidantes (Xie *et al.*, 2015).

Esses resultados indicam que a digestão intestinal pode potencializar a disponibilidade de compostos bioativos antioxidantes. A superioridade da digestão intestinal em termos de capacidade antioxidante pode ser atribuída à maior liberação ou estabilidade dos compostos antioxidantes durante essa fase do processo digestivo.

6 CONCLUSÕES

Com base nos dados obtidos, o presente estudo demonstrou que o soro de leite asinino apresenta um perfil bioquímico relevante, caracterizado por alta umidade, teores moderados de proteínas e açúcares redutores, e pH ácido. A digestão *in vitro* simulada revelou que as proteínas do soro, como a β -lactoglobulina e a α -lactoalbumina, são gradualmente hidrolisadas pelas enzimas digestivas, resultando na liberação progressiva de peptídeos de baixo peso molecular, os quais podem apresentar atividade bioativa. A fase intestinal se mostrou eficiente na liberação de compostos antioxidantes, evidenciando o potencial do soro de leite asinino como uma fonte promissora de ingredientes funcionais voltados para as indústrias alimentícias e nutracêutica.

A análise proteica, realizada por eletroforese e cromatografia, indicou uma degradação significativa das proteínas, reforçando a eficácia das enzimas digestivas no processo de hidrólise. Esse processo é essencial para a bioacessibilidade de peptídeos com potencial atividade antioxidante e possíveis benefícios para a saúde metabólica. Os resultados sugerem que o soro de leite asinino pode ser utilizado em formulações de alimentos funcionais, contribuindo para o desenvolvimento de produtos que promovam a saúde humana, devido à sua riqueza em peptídeos bioativos.

Este estudo possui significativa importância tanto para a indústria alimentícia quanto para a comunidade científica, uma vez que existem poucos estudos direcionados a essa temática. Além disso, a pesquisa contribui para a valorização do leite asinino, um produto ainda pouco explorado na região Nordeste do Brasil. Nesse sentido, os achados apresentados abrem novas perspectivas para o desenvolvimento de produtos lácteos funcionais com aplicabilidade tecnológica, promovendo a saúde humana e impulsionando a inovação no setor.

REFERÊNCIAS

AKAN, E. An evaluation of the in vitro antioxidant and antidiabetic potentials of camel and donkey milk peptides released from casein and whey proteins. **Journal of Food Science and Technology**, v. 58, n. 10, p. 3743-3751, 2021.

ALTOMONTE, I.; SALARI, F.; LICITRA, R.; MARTINI, M. Donkey and human milk: insights into their compositional similarities. **International Dairy Journal**, [s.l.], v. 89, p. 111-118, fev. 2019. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.09.005>.

AOAC – Association of Official Analytical Chemists. Dairy Products. In: AOAC Official Methods of Analysis. 19 th ed. Gaithersburg: AOAC, 2016.

ASPRI, MARIA et al. Bioactive properties of fermented donkey milk, before and after in vitro simulated gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**, v. 268, p. 476-484, 2018.

BESEDIUK, VOLODYMYR *et al.* SORO DE LEITE — DE RESÍDUO A UM RECURSO VALIOSO. **Journal of Agriculture and Food Research** , p. 101280, 2024.

BIDASOLO, I. B.; RAMOS, MERCEDES; GOMEZ-RUIZ, J. A. In vitro simulated gastrointestinal digestion of donkeys' milk. Peptide characterization by high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **International Dairy Journal**, v. 24, n. 2, p. 146-152, 2012.

BORBA, K. K. S. **Composição nutricional e bioprospecção de peptídeos bioativos em soro de leite caprino**. 2017. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal da Paraíba, 2017.

BRODKORB, A.; EGGER, L.; MANDERSON, G.; BAUER, R.; SALVADOR, M. P.; ALVITO, P.; CAVALEIRO, C.; PICHEL, J.; SARISSA, A.; TROUSLARD, A. *et al.* INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. **Nature Protocols**, v. 14, n. 4, p. 991-1014, 2019.

BRUMINI, D. *et al.* Whey proteins and their antimicrobial properties in donkey milk: a brief review. **Dairy Science & Technology**, v. 96, p. 1–14, 2016.

BUSINCO, L.; GIAMPIETRO, G.P.; LUCENTI, P. M. Allergenicity of mare's milk in children with cow's milk allergy. **Journal Allergy Clinical Immunology**, v. 105, n. 5, p. 1031-1034, 2000.

CAMARA, F. J. R. **Perfil sanitário de asininos errantes do nordeste brasileiro**. 2021. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Federal da Paraíba, 2021.

CARROCCIO, A.; CAVATAIO, F.; MONTALTO, G.; AMINCO, D.D.; ALAMINCO, L. Intolerance to hydrolysed cow's milk proteins in infants: clinical characteristics and dietary treatment. **Clinical & Experimental Allergy**, v. 30, n. 11, p. 1597-1603, 2000.

CAVALCANTE, J. A. **Propriedades nutricionais e bioativas de leite asinino: uma revisão de literatura**. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Nutrição) – Universidade Federal do Ceará, 2022.

CHARFI, I. et al. The behaviour of Arabian donkey milk during acidification compared to bovine milk. **International Journal of Dairy Technology**, v. 71, n. 2, p. 439-445, 2018.

CHAVES, K. F.; CALLEGARO, E. D.; SILVA, V. R. O. Utilização do soro de leite nas indústrias de laticínios da região de Rio Pomba-MG. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 27., 2010, Juiz de Fora. **Anais do Congresso Nacional de Laticínios**. Juiz de Fora: EPAMIG/ ILCT, 2010. 1 CD-ROM.

COPPOLA, R. *et al.* Behaviour of *Lactobacillus rhamnosus* strains in ass's milk. **Annals of Microbiology**, v. 52, n. 1, p. 5560, 2002.

COSENTINO, C.; LABELLA, C.; MUSTO, M., PAOLINO, R.; PIERANGELO, F. Effect of different physical treatments on antioxidant activity of jenny milk. **International Journal of Agricultural Science**, v.5, p. 874-877, 2015.

COSTA, E. L.; ROCHA, J. A. G.; NETTO, F. M. Effect of heat and enzymatic treatment on the antihypertensive activity of whey protein hydrolysates. **International Dairy Journal**, v. 17, n. 6, p. 632-640, 2007.

FACCIA, M. *et al.* Technological attempts at producing cheese from donkey milk. **Journal of Dairy Research**, v. 85, p. 327-330, 2018.

HARAGUCHI F.K.; ABREU W.C.; PAULA H. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. **Revista Brasileira de Nutrição**, v. 19, n.4, p. 479-488, jul./ago., Campinas, 2006.

HENRIQUES, M. H. F.; GOMES, D. M. G. S.; BORGES, Ana R.; PEREIRA, Carlos J. D. Liquid whey protein concentrates as primary raw material for acid dairy gels. **Food Science and Technology**, v. 40, n.2, p. 361-369, 2020.

HUR, S. J.; LIM, B. O.; DECKER, E. A.; MCCLEMENTS, D. J. In vitro human digestion models for food applications. **Food Chemistry**, v. 125, p. 1-12, 2011.

IGLESIAS-FIGUEROA, Blanca F. *et al.* Lactoferrin as a nutraceutical protein from milk, an overview. **International dairy journal**, v. 89, p. 37-41, 2019.

ILTCHENCO, S. *et al.* Concentração de proteína de soro de leite por ultrafiltração e estudo de propriedades funcionais. **Ciência Rural**, v. 48, n. 5, p. e20170807, 2018.

KRISSANSEN, G. W. Emerging health properties of whey proteins and their clinical implications. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 26, n.6, p.713-723, 2007.

LANE, J. H.; EYNON, L.. **Determination of reducing sugars by Fehling's solution with methylene blue indicator**. N. Rodger, 1934.

LEAMMI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of head of bacteriophage. **Nature**, 227, 680-685, 1970.

LEÓN-LÓPEZ, A. *et al.* Hidrolisados de soro de leite como polímeros naturais de alto valor agregado: propriedades funcionais e aplicações. **Polímeros**, v. 14, n. 6, p. 1258, 2022.

LO, Y. M.; ARGIN-SOYSAL, S.; HSU, C. H. In: Bioprocessing for Value-Added Products from Renewable Resources. **Bioconversion of Whey Lactose into Microbial Exopolysaccharides**. Elsevier, 2007. p. 559-583.

MACDONALD, H. B. Dairy nutrition: What we knew then what we know now. **International Dairy Journal** v. 18, p. 774- 777, 2008.

MACHADO, F. M. C. R. R. **Projeto para implementação de uma exploração de asininos (*Equus asinus*) com o objetivo de produzir leite de burra**. 2015. Dissertação (Mestrado em Engenharia Zootécnica – Produção Animal) – Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, 2015.

MACHADO, L. C.; DOS SANTOS, J. F.; DOS SANTOS BARROS, E. M.; DE PAULA, R. A.; PIRES, J. G. P. Critérios de escolha de fármacos anti-hipertensivos em adultos. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 2, p. 6756-6775, 2021.

MADHUSUDAN, N. C. *et al.* Composition, characteristics, nutritional value and health benefits of donkey milk-A review. **Dairy Science & Technology**, 2017.

MALACARNE, M. *et al.* Distribution of Ca, P and Mg and Casein micelle mineralisation in donkey milk from the second to sixth month of lactation. **International Dairy Journal**, v. 66, n. 8, p. 6422-6430, 2017. Disponível em:
https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030222003411?dgcid=rss_sd_all

MANSUETO, P.; IACONO, G.; TAORMINA, G.; SEIDITA, A.; D'ACAMO, A.;ADRAGNA, F.; RANDAZZO, G.; CARTA, M., RINI, G.; CARROCCIO, A. Ass's milk allergy to cow's milk protein: A Review. **Acta Medica Mediterranea**, p. 153-159,2013.

MARIANTE A.S.; CAVALCANTE N. Animais do Descobrimento: **Raças domésticas da história do Brasil**. Distrito Federal: Embrapa; 2006.

MARTINI, M. *et al.* Nutritional and nutraceutical quality of donkey milk. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 65, p. 33-37, 2018. Disponível em:
<https://pubag.nal.usda.gov/catalog/5858834>.

MASSOURAS, T.; TRIANTAPHYLLOPOULOS, K.A.; THEODOSSIOU, I. Chemical composition, protein fraction and fatty acid profile of donkey milk during lactation. **International Dairy Journal**, 2017. Disponível em:
<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2017.06.007>.

MINJ, S.; ANAND, S. Whey proteins and its derivatives: bioactivity, functionality, and current applications. **Dairy**. v.1, n.3, p. 233-258, 2020. <https://doi.org/10.3390/dairy1030016>

MIZUBITI, I. Y. Soro de leite: composição, processamento e utilização na alimentação. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 9, p. 80-94, 1994.

MUNIZ, L. C.; MADRUGA, S. W.; ARAÚJO, C. L.. Consumo de leite e derivados entre adultos e idosos no Sul do Brasil: um estudo de base populacional. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 18, p. 3515-3522, 2013.

OLIVEIRA, D. F.; BRAVO, C. E. C; TONIAL, I. B. Soro de leite: um subproduto valioso. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 67, n. 385, p. 64-71, 2012.

PACHECO, M. T. B.; DIAS N. F. G.; BALDINI, V. L.; TANIKAWA, C.; SGARBIERI, V. C. Propriedades funcionais de hidrolisados obtidos a partir de concentrados protéicos do soro de leite. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.2, p.333-338, 2005.

PERNA, A. *et al.* Donkey milk for manufacture of novel functional fermented beverages. **Journal of Food Science**. v. 80, n. 6, p. 1352-1359, 2015.

PINTO, F. A. **Metodologia da espectroscopia no infravermelho para análise dos soros provenientes da fabricação de queijos Minas padrão e prato**. 45 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

QUARESMA, M.; NÓVOA, M.; MARTINS, A. M. F.; RODRIGUES, J. B.; COLAÇO, J.; PAYANCARREIRA, R. (2013). **Análise Demográfica da Raça Asinina de Miranda**. GTIE, Golegã. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, AEPGA. 2013.

RANGEL, A. H. N. *et al.* Compositional and nutritional aspects of milk ass: a review. **Journal of Candido Tostes Dairy Institute**, v. 70, n. 3, 2015.

RENHE, I. R. T. O papel do leite na nutrição. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 63, n. 363, p. 36-43, 2008.

SALIMEI, E.; FANTUZ, F. La produzione di latte di asina in una innovativa filiera latte per consumatori di fascia sensibile. **La Rivista di Scienza Dell' Alimentazione**, v.1, p.25-39, 2010.

SANMARTIN, B.; D(AZ O.; RODRIGUEZ-TURIENZO, L.; COBOS A. Composition of caprine whey protein concentrates produced by membrane technology after clarification of cheese whey, **Small Ruminant Research** v. 105 p. 186- 192, 2012.

SAPAN, C. V.; LUNDBLAD, R. L.; PRICE, N.s C. Colorimetric protein assay techniques. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 29, n. 2, p. 99-108, 1999.

SHIMIZU, M. Food-derived peptides and intestinal functions. **Biofactors**, v. 21, n. 1-4, p. 43-47, 2004.

SILVA, R. D. O. P.; BUENO, C. R. F.; RODRIGUES SÁ, P. B. Z. Aspectos relativos à produção de soro de leite no Brasil, 2007-2016. **Informações Econômicas**, SP, v. 47, n. 2, p. 5-18, 2017.

SILVEIRA, P. R.; ABREU, L.R. Rendimento e composição físico-química do queijo prato elaborado com leite pasteurizado pelo sistema HTST e injeção direta de vapor. **Ciências Agrotécnicas**, v.27, n.6, p.1340-1347, 2003.

SOUSA, F. M. **Produto em pó obtido pelo processo de liofilização utilizando o leite asinino (*Equus asinus*) com diferentes teores de água de coco**. 2021. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Gestão de Recursos Naturais) – Universidade Federal da Paraíba, 2021.

TASTEKIN, E. *et al.* Indomethacin-induced gastric damage in rats and the protective effect of donkey milk. **Archives of Medical Science**, v. 3, p. 671-678, 2018.

TIDONA, F. *et al.* Antimicrobial effect of donkeys' milk digested in vitro with human gastrointestinal enzymes. **International Dairy Journal**, v. 21, n. 3, p. 158-165, 2011.

TIDONA, F. *et al.* Fermented beverage emulsion based on donkey milk with sunflower oil. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 50 n. 12, p. 2644–2652, 2015.

TORO-SIERRA, J.; TOLKACH, A.; KULOZIK, U. Fractionation of α -lactalbumin and β -lactoglobulin from whey protein isolate using selective thermal aggregation, an optimized membrane separation procedure and resolubilization techniques at pilot plant scale. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, p. 1032-1043, 2013.

TRINCHESE, G. *et al.* Human, donkey and cow milk differently affects energy efficiency and inflammatory state by modulating mitochondrial function and gut microbiota. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 26, n. 11, p. 1136-46, 2015.

TSAKALI, Efstathia *et al.* Exploring the effect of ultrafiltration/diafiltration processing conditions on the lactoferrin and immunoglobulin G content of feta whey protein concentrates. **Journal of Food Process Engineering**, v. 38, n. 4, p. 363-373, 2015.

TURCHI, B. *et al.* Lactobacillus plantarum and Streptococcus thermophilus as starter cultures for a donkey milk fermented beverage. **International Journal of Food Microbiology**, v. 256, p. 54-61, 2017.

UDENIGWE, C. C.; ALUKO, R. E. Chemometric analysis of the amino acid requirements of antioxidant food protein hydrolysates. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 12, p. 3148–3161, 2011.

VINCENZETTI, S. *et al.* Role of proteins and of some bioactive peptides on the nutritional quality of donkey milk and their impact on human health. **Beverages**, v. 3, n. 3, p. 34, 2017.

VINCENZETTI, S. *et al.* Vitamins in human and donkey milk: functional and nutritional role. **Nutrients**, v. 13, n. 5, p. 1509, 2021.

VUOLO, M. M. **Efeito da enzima transglutaminase na digestibilidade e antigenicidade da β -lactoglobulina**. 2012. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, 2012.

XIE, N.; WANG, B.; JIANG, L.; LIU, C.; LI, B. Hydrophobicity exerts different effects on bioavailability and stability of antioxidant peptide fractions from casein during simulated gastrointestinal digestion and Caco-2 cell absorption, **Food Research International**, v. 76, Part 3, 2015, Pages 518-526, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.06.025>.

YVON, S. *et al.* Donkey milk consumption exerts anti-inflammatory properties by normalizing antimicrobial peptides levels in Paneth's cells in a model of ileitis in mice. **European Journal of Nutrition**, v. 57, p. 155-166, 2016.

ZHOU, X. *et al.* Donkey whey protein and peptides regulate gut microbiota community and physiological functions of D-galactose-induced aging mice. **Food Science & Nutrition**, v. 11, n. 2, p. 752-764, 2023.