

Reatividade da Vanilina e do Complexo Vanilina- β -Lactoglobulina frente a Ferrilmioglobina

Silvia Helena Libardi (PG), Júlio César Borges (PQ), Daniel Rodrigues Cardoso* (PQ). e-mail: drcardoso@iqsc.usp.br

Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.

Palavras Chave: proteína, ferrilmioglobina, antioxidante, vanilina.

Introdução

O trato gastrointestinal é um dos primeiros sítios expostos ao estresse oxidativo relacionado à dieta. Acredita-se que principalmente espécies de ferro hipervalente derivadas do pigmento da carne, mioglobina, são responsáveis pelo estresse oxidativo. O objetivo deste trabalho é investigar as propriedades antioxidantes de compostos fenólicos presentes na dieta e a influência da complexação com a β -lactoglobulina, proteína majoritária do soro do leite, na desativação de espécies de ferro hipervalente em condições que simulam o trato gastrointestinal.

Resultados e Discussão

Utilizando-se da espectroscopia de emissão molecular foi evidenciado a formação do complexo entre a vanilina e a β -lactoglobulina e determinada a sua constante de dissociação em três diferentes concentrações hidrogeniônicas, $K_d=2,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (pH=6,4 e 7,4) e $2,2 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (pH=2,0). A formação do complexo foi também avaliada por titulação microcalorimétrica, entretanto, em função da interação não específica e baixa constante de associação a determinação com segurança da K_d não apresentou-se viável. Todavia, os experimentos de microcalorimetria mostraram um $\Delta H < 0$ sugerindo que a interação é de caráter exotérmico. O número de sítios foi estimado em $n > 15$. A partir da titulação microcalorimétrica em diferentes temperaturas foi possível determinar $\Delta C_p = -244 \text{ cal} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$. O valor negativo em ΔC_p sugere uma pequena contribuição de interação hidrofóbica no complexo.

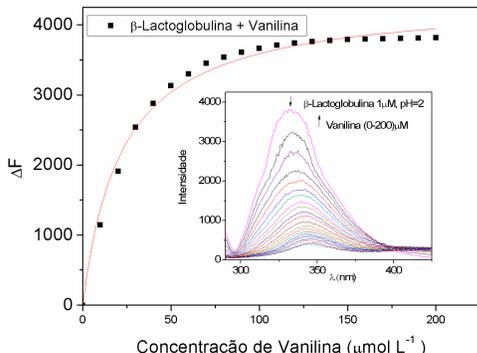


Figura 1. Variação da emissão molecular de uma solução de β -lactoglobulina ($1 \mu\text{M}$) com o aumento da concentração de vanilina (0-200 μM) em meio aquoso pH 7,4 (tampão fosfato 5 mM e $I=0,16$) a 25°C . $\lambda_{em} = 332 \text{ nm}$; $\lambda_{ex} = 280 \text{ nm}$

A redução da espécie MbFe(IV)=O pela vanilina, acompanhada espectrofotometricamente (Figura 2), em meio de tampão fosfato pH 7,4 apresentou constante de velocidade de $56,8 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ e $47,8 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ na ausência e presença da proteína, respectivamente. Os parâmetros de ativação calculados pela equação de Eyring foram: $\Delta H^\ddagger=59 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ e $69 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$; $\Delta S^\ddagger= -14 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ e $+17 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ na ausência e presença da proteína, respectivamente. Tanto a relativamente alta entalpia de ativação e a entropia de ativação próxima a zero e positiva sugerem um mecanismo de transferência de elétrons de esfera externa para a reação de redução da espécie ferrilmioglobina pela vanilina e a vanilina associada a β -lactoglobulina.

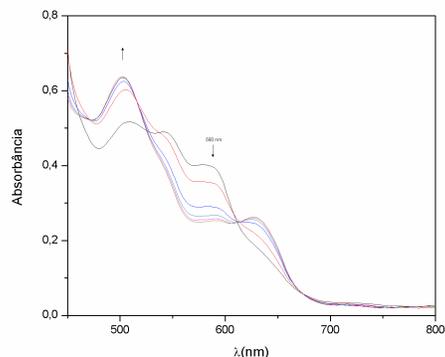


Figura 2. Espectro eletrônico de absorção de uma solução aquosa $5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ de MbFe(IV)=O e 2mM de vanilina com pH 7,4 (tampão fosfato 5 mM e $I=0,16$) a 25°C . O espectro foi adquirido a cada 60s seguido da mistura ($<1\text{s}$) em celas de mistura rápida de 1cm.

Conclusões

Os resultados obtidos sugerem que a interação entre a β -lactoglobulina e a vanilina é não específica, fraca e ocorre na superfície da proteína. Não há influência da presença da proteína na atividade antioxidante da vanilina, desta forma, a interação pode ter um efeito protetor da proteína no trato gastrointestinal e em condições de armazenamento do produto frente a danos oxidativos ocasionados por espécies de ferro hipervalente e radicais.

Agradecimentos

CNPq e CAPES pela bolsa concedida, à FAPESP (09/00858-00) pelo apoio financeiro. Ao LNBio/LNLS pelo acesso ao sistema de ITC (calorimetria).