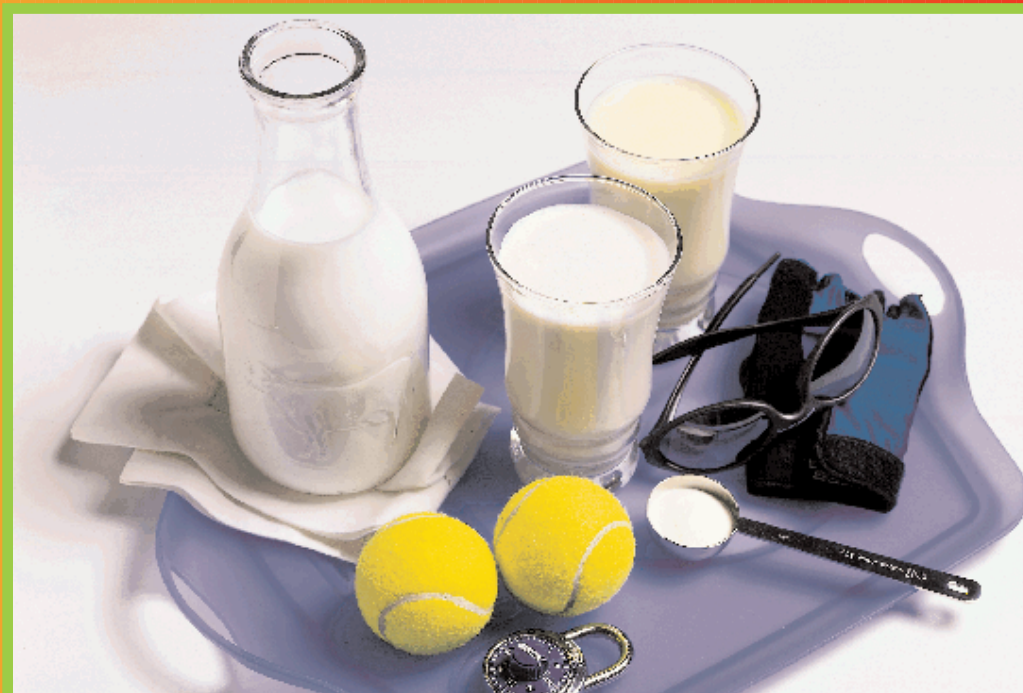


PROPRIEDADES BENÉFICAS À SAÚDE DAS PROTEÍNAS DE SORO E FRAÇÕES DE SORO



Por: Rosemary L. Walzem, R.D., Ph.D.
Professora de Nutrição,
Texas A & M University, USA.

Os produtos de soro fabricados nos Estados Unidos são conhecidos por seu elevado valor nutricional e propriedades funcionais em uma ampla gama de produtos alimentícios. Há crescente evidência de que produtos de soro dos EUA contêm uma variedade de fatores e compostos capazes de gerar um impacto favorável sobre a saúde e ajudar na prevenção de doenças. Além disso, o soro e componentes de soro fabricados nos EUA estão sendo cada vez mais usados nas indústrias de produtos farmacêuticos, cosméticos e agrícolas.



NOVAS ÁREAS DE DESENVOLVIMENTO PARA PRODUTOS DE SORO.

A indústria de alimentos continua se esforçando para oferecer produtos novos e inovadores para satisfazer as necessidades do consumidor. A conscientização crescente dos consumidores da importância de alimentos ao mesmo tempo nutritivos e saudáveis motivou os pesquisadores a concentrar boa parte de seus esforços no estudo dos efeitos do soro e de suas frações sobre a saúde. Há cada vez mais evidências de que o soro contém uma variedade de fatores e compostos capazes de gerar um impacto favorável sobre a saúde e de ajudar na prevenção de doenças. Informações mais recentes, sobretudo nas áreas de probióticos, prebióticos e virulência viral, indicam que há um bom potencial para a produção de alimentos e cosméticos funcionais e saudáveis desenvolvidos especialmente para combater tanto doenças crônicas quanto doenças contagiosas. Esta breve revisão bibliográfica põe em destaque algumas das propriedades benéficas à saúde do soro e frações do soro e aponta áreas promissoras para o desenvolvimento de produtos de soro.

PROPRIEDADES NUTRICIONAIS GERAIS

O soro é uma fonte confiável de grande número de minerais, carboidratos e proteínas de alta qualidade e valor biológico. Os produtos de soro podem ser subdivididos em várias categorias (ver a descrição e a composição de Produtos de Soro no Manual de Referência para Produtos de Soro dos EUA, publicado pela USDEC). Esta seção trata de algumas das propriedades nutricionais e benéficas à saúde das proteínas e dos demais componentes do soro, inclusive os menos conhecidos ou que são encontrados em apenas pequenas quantidades (também chamados de proteínas e componentes secundárias).

COMPOSIÇÃO DAS PROTEÍNAS DO LEITE.

As principais proteínas do soro são a β-lactoglobulina e a α-lactalbumina; as proteínas secundárias do soro incluem as proteose-peptonas, as proteínas do sangue e a lactoferrina.

As proteínas de soro são de fácil digestão e seu perfil de aminoácidos essenciais atende ou supera todas as exigências qualitativas e quantitativas estabelecidas pela Organização de Alimentos e Agricultura/ Organização Mundial de Saúde (Food and Agriculture Organization/World Health Organization (FAO/WHO). Há muito reconhecidas como fontes proteicas de alta qualidade, as proteínas individuais fabricadas nos EUA também se caracterizam pelo conjunto dos atributos funcionais e nutricionais que devem ser levados em consideração pelas pessoas responsáveis pelo desenvolvimento de produtos. O desenvolvimento e o aperfeiçoamento das tecnologias de separação e purificação permitiram aprofundar os conhecimentos sobre os efeitos imunomodulatórios das proteínas individuais do soro. Animais alimentados com rações elaboradas com soro como fonte principal de proteína resistiram muito melhor ao câncer induzido por substâncias químicas do que animais alimentados com soja ou caseína. Existe uma relação direta entre as características funcionais e nutricionais das proteínas de soro e sua estrutura e funções biológicas. Cada tipo de proteína possui várias destas características.

A β-lactoglobulina representa aproximadamente 50% do teor total de proteína de soro de leite bovino. Esta proteína liga cálcio e zinco e sua

seqüência apresenta homologia seqüencial parcial com determinadas proteínas capazes de ligar retinol. A cadeia de β-lactoglobulina possui vários pontos de ligação para minerais, vitaminas lipossolúveis e lipídios. Estes pontos de ligação podem ser usados para incorporar compostos lipofílicos desejáveis como tocoferol e Vitamina A em produtos com baixo teor de gordura.

A α-lactalbumina representa aproximadamente 25% do teor total de proteínas do soro de leite bovino. Setenta por cento da proteína encontrada em leite humano têm as mesmas características da proteína de soro, e a α-lactalbumina representa 41% disso. A α-lactalbumina representa portanto 28% do teor total de proteína do leite humano. A adição de α-lactalbumina tem sido arduamente defendido como forma de "humanizar" fórmulas infantis e criar outros produtos para pessoas que consomem ou podem ingerir apenas quantidades limitadas de proteína. A albumina sérica e as imunoglobulinas são proteínas introduzidas no leite pelo organismo dos animais e que podem ser recuperadas. Estas duas proteínas são consideradas proteínas menores ou secundárias por estarem presentes em quantidades muito pequenas. A albumina sérica liga ácidos graxos e outras moléculas pequenas. As imunoglobulinas incluem IgG1, IgG2, IgA e IgM e estas proteínas reforçam a imunidade passiva de crianças e outros consumidores. As imunoglobulinas são encontradas no colostro em concentrações maiores do que em leite comum.

A lactoferrina e a lactoperoxidase são duas outras proteínas do soro. A lactoferrina é uma proteína capaz de ligar e transportar ferro e promove a absorção de ferro sem provocar

constipação em crianças pequenas, como ocorre com os suplementos inorgânicos de ferro. Por estas razões, a lactoferrina é amplamente usada no Japão, na Coreia e em outros países asiáticos em fórmulas infantis. A lactoferrina ainda possui outras características, incluindo efeitos antioxidantes, fortalecimento do sistema imunológico e efeitos anti-câncer. A lactoferrina também é uma substância imunomoduladora e é o principal fator da resistência a doenças não-específicas da glândula mamária. Mais importante ainda, depois que a lactoferrina liberou o ferro deixando-o disponível para ser absorvido pelo organismo, a proteína pode então passar a ligar o ferro livre presente no trato digestivo. Esta capacidade de ligar o ferro inibe o desenvolvimento de microflora indesejável e promove a atividade da microflora desejável no trato intestinal mediante a inibição de enterobactérias patogênicas. A atividade bacteriostática da lactoferrina está sendo estudada visando o uso potencial da substância como conservante. A lactoferrina, um peptídeo básico derivado da lactoferrina, protege o organismo contra o crescimento e a proliferação de microrganismos intestinais patogênicos. A lactoperoxidase é uma enzima que degrada o peróxido de hidrogênio. Este componente nutracêutico do leite e de produtos de soro é uma enzima com propriedades antibacterianas. A lactoperoxidase tem sido objeto de vários estudos visando sua utilização como meio de controlar o desenvolvimento da acidez e mudanças de pH durante a estocagem refrigerada de iogurte³⁷ A lactoperoxidase também está sendo estudada quanto à possibilidade de ser utilizada como conservante natural. Em combinação com outros conservantes, a lactoperoxidase é usada como ingrediente em pasta de dente para combater cáries.

As proteínas encontradas no leite pertencem a duas grandes classes: caseínas e proteínas do soro concentração das principais proteínas do leite*

Proteína	Concentração (g/l)	% Aproximada Proteína Total
Caseínas	24-28	80
• alfa-caseína	15-19	42
• beta- caseína	9-11	25
• delta- caseína	3-4	9
• gamma- caseína	1-2	4
Proteínas do soro	5-7	20
• beta-lactoglobulina	2-4	
• alfa-lactalbumina	1-1.5	
• proteose peptonas	0.6-1.8	
• proteínas do sangue	1.4-1.6	
albumina sérica	0.1-0.4	
imunoglobulinas	0.6-1.0	
		100

O glicomacropéptido (GMP), a porção glicolisada de caseinomacropéptido (CMP), está presente em soro doce após a degradação da α-caseína e a precipitação da caseína pela renina. Esta proteína já não é mais encontrada no soro ácido que se forma quando as caseínas são precipitadas pela redução do pH a 4.6. O glicomacropéptido pode suprimir o apetite estimulando o pâncreas a liberar o hormônio colecistokinina (CCK). Além disso, o glicomacropéptido altera a produção de pigmentos pelos melanócitos, atua como prebiótico e tem atuação imunomoduladora. A atividade fisiológica de GMP depende do grau de glicosilação.



*Fennema, O. 1965. Food Chemistry, 2nd Edition. Marcel Dekker Inc., New York, NY, p. 796.

PROTEÍNAS E PEPTÍDEOS DO SORO BIOATIVOS

O Japão e a Europa foram os pioneiros no uso de soro como fonte de muitos compostos com propriedades medicinais. Várias funções ou atividades fisiológicas têm sido descobertas ou atribuídas às proteínas e aos peptídeos secundários do soro. Estes componentes podem aumentar a proteção passiva contra infecções; modular processos digestivos e metabólicos; e atuar como fatores de crescimento para diferentes tipos de células, tecidos e órgãos.

Os componentes do soro com potencial para serem usados em produtos comerciais incluem a a-lactalbumina, a Beta-lactoglobulina, a albumina sérica bovina, as imunoglobulinas, a lactoferrina e a lactoperoxidase. Muitos destes componentes possuem atividade biológica que pode ser aproveitada com grandes vantagens em produtos nutracêuticos ou antimicrobianos, sobretudo substâncias resultantes da degradação ou digestão das proteínas do leite definidos como peptídeos bioativos, tais como as exorfinas (casomorfina), os fosfopeptídeos e os imunopeptídeos. As seqüências dos peptídeos bioativos encontram-se em estado inativo quando inseridas na cadeia polipeptídica da proteína de soro intacta. Estes peptídeos, liberados durante a digestão intestinal das proteínas de soro, podem estar envolvidos na regulação da entrada de nutrientes e influenciar o metabolismo pos-pandrial através da estimulação de hormônios.

Os benefícios terapêuticos das proteínas de soro também podem ser resultado da produção de peptídeos bioativos durante a fermentação. Em um estudo no qual proteínas do leite foram separadas e fermentadas, a a-lactalbumina inibiu a divisão de células da cultura láctea, ao passo que os peptídeos provenientes de caseína fermentada não apresentaram o mesmo efeito. A redução da proliferação de células causada por este tipo de peptídeo bioativo pode ser uma das explicações para a relação que se acredita existir entre o consumo de iogurte e a redução da incidência de câncer do cólon. Em outro estudo, análise do crescimento de células identificou a presença de fatores de crescimento de fibroblastos em frações de soro parcialmente purificadas. Outro componente bioativo detectado no soro é o fator de crescimento neurotrófico prosaposina. A prosaposina, substância precursora das proteínas que ativam o esfingolipídios (as saposinas A, B, C and D), não era associada aos glóbulos de gordura, às

micelas de caseína, aos fragmentos de membrana ou às células somáticas, tendo sido localizada exclusivamente no soro. A probabilidade da prosaposina contida no leite bovino beneficiar nutricionalmente as pessoas que consomem leite de vaca ganha força levando-se em consideração o fato de que apenas uma parte de seu segmento saposina C é necessária para a atividade neurotrófica. Maiores esforços de pesquisa serão necessários para comprovar muitos dos efeitos demonstrados in vitro. No entanto, o fato que os efeitos já tenham sido documentados in vitro reforça o potencial para o desenvolvimento de produtos destinados aos mercados de agricultura e biotecnologia. Suplementos de crescimento e peptídeos metabolicamente ativos podem ser usados para controlar ou alterar o crescimento de culturas bacterianas ou qualidades de produção. Tais compostos também poderão ser usados como reagentes em laboratórios de pesquisa ou como componentes de kits para testes clínicos/diagnósticos. Deve ser considerado também o aproveitamento dos efeitos saudáveis do soro e dos componentes do soro para consumidores não-humanos tais como culturas de fermento ou tipos específicos de célula. Provou-se também que os peptídeos bioativos possuem capacidade de introduzir propriedades benéficas à saúde em produtos não-alimentícios tais como cosméticos e produtos farmacêuticos.

SUPRESSÃO DE APETITE

O glicomacropéptídeo é um poderoso estimulante de CCK, um hormônio supressor do apetite que desempenha vários papéis na função gastrointestinal, incluindo a regulação da ingestão de alimentos. Além de ser um regulador da ingestão de alimentos, a CCK estimula a contração da vesícula biliar e a motilidade do intestino, regula o esvaziamento gástrico e estimula a liberação de enzimas pelo pâncreas. Em animais, um aumento da produção e liberação de CCK é seguido por uma grande redução na quantidade de alimentos ingeridos. O consumo de altas doses de proteína leva ao aumento da produção de CCK liberada até que a liberação de protease pancreática (principalmente tripsina) seja compatível com a quantidade de proteína ingerida. A ingestão de soro e caseína por 6 voluntários saudáveis causou um grande aumento na liberação de CCK (J.L. Maubois - conforme comunicado por W. Brink, 1997 International Whey Conference, Chicago, IL). A caseína contém uma concentração de GMP mais elevado do que soro, embora apenas o soro parece influenciar a produção e liberação de CCK. Pesquisas sobre os efeitos de GMP e CCK poderiam levar à utilização de certas proteínas do leite como supressor do apetite e/ou suplemento dietético.

FISIOLOGIA DOS OSSOS

Além de conterem minerais que favorecem o crescimento ósseo, descobriu-se recentemente que a proteína de soro contém também uma fração ativa que estimula a proliferação e diferenciação de osteoblastos (células formadoras de osso) cultivados em laboratório. Se o intestino absorver estes componentes, os mesmos podem desempenhar um papel importante na formação de ossos no homem.

VALOR TERAPÊUTICO EM CRIANÇAS E PESSOAS IDOSAS

As proteínas do soro são amplamente usadas em nutrição infantil na forma de fórmulas contendo quantidades predominantes de soro, bem como na forma de hidrolizados de proteína de soro para crianças que sofrem de intolerância à proteína do leite de vaca. Uma área ativa de pesquisa é a que estuda a formação de seqüências peptídicas durante a digestão, bem como seus efeitos sobre a secreção de enterohormônios e o fortalecimento do sistema imunológico. Várias outras moléculas bioativas, tais como os polipeptídeos pluripotentes chamados citocinas que interferem no sistema autocrine/paracrine, são encontradas no leite. Tais compostos constituem objetivos adicionais para purificação e uso em fórmulas infantis. Concluiu-se ser preferível incorporar um complexo protéico à base de proteína de soro a um complexo composto predominantemente por caseína na dieta de recém-nascidos que nascerem com peso muito baixo. Isto se deve provavelmente ao fato da ingestão da proteína de soro diminuir o risco de acidose metabólica e seus efeitos potencialmente adversos. Outro estudo mostrou que uma fórmula contendo hidrolizado de soro constitui uma alternativa aceitável para fórmulas elaboradas com hidrolizado de soja ou de caseína, destinadas a crianças menores de 6 meses cujo sistema gastrointestinal apresenta intolerância a fórmulas infantis contendo quantidades predominantes de leite de vaca e/ou proteína de soro.

Restauração ou estimulação do sistema intestinal de pessoas idosas. Uma bebida à base de soro fermentado por *Lactobacillus-GG* administrado a residentes de um asilo para idosos que se queixavam de problemas com a defecação parece ser capaz de normalizar a consistência das fezes dessas pessoas, não tendo sido observados alterações significativas em termos de freqüência fecal, peso e pH das fezes. Efeitos terapêuticos adicionais serão discutidos nas seções que tratam de produtos probióticos e prebióticos.

ELABORAÇÃO DE FÓRMULAS USANDO PRODUTOS DE SORO

ESTIMULAÇÃO DO SISTEMA IMUNOLÓGICO

O sistema imunológico desempenha um papel central na proteção contra infecções causadas por bactérias, vírus, parasitas e fungos e também no combate ao câncer. Qualquer deficiência do sistema imunológico pode expor um indivíduo a um maior risco de contrair infecções ou podem agravar a doença. O sistema imunológico emprega tanto respostas específicas quanto respostas não-específicas para proporcionar proteção contra doenças. Os componentes não-específicos do sistema de defesa imunológico do organismo (hospedeiro) incluem barreiras físico-químicas tais como a pele, o muco, a lisozima, complementos e interferons, bem como células assassinas naturais e células fagócitas (imunidade celular), tais como neutrófilos e monócitos/macrófagos. Respostas imunológicas específicas são intermediadas por anticorpos (IgA, IgG, IgM, IgD e IgE) produzidos por linfócitos do tipo B (imunidade humoral), enquanto os linfócitos do tipo T produzem as células T-auxiliador, T-supressor e linfócitos citotóxicos (imunidade intermediada por células).

São insuficientes os dados e conhecimentos científicos existentes sobre o efeito de leite bovino ou de seus componentes sobre o sistema imunológico humano, apesar das células imunocompetentes possuírem receptores para proteínas do leite e peptídeos. Pesquisas básicas nesta área poderiam dar origem a uma série de produtos inovadores. Uma característica aparentemente importante das proteínas do leite é a elevada concentração de cisteína, uma substância da qual se acredita que limita a taxa de síntese de GSH. Acredita-se que os efeitos moduladores das proteínas de soro sobre a produção de GSH estejam na origem das propriedades imunológicas e algumas das propriedades antioxidantes das proteínas de soro. Em animais, raças enriquecidas com proteínas de soro melhoraram o desempenho imunológico, bem como ocasionaram um aumento das concentrações de GSH no baço, mas estes efeitos foram atenuados depois que os animais foram tratados com um inibidor de GSH.

Estudos com

animais também demonstraram que concentrados de proteínas de soro administrados por meio da alimentação potencializam as respostas humorais e intermediadas por células do sistema imunológico.

PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES

A capacidade das proteínas de soro de melhorar as defesas antioxidantes do organismo e reduzir a carga de oxidantes está surgindo como uma das mais promissoras contribuições para a saúde em geral. Atualmente, acredita-se que exista uma ligação entre a virulência viral e a passagem de formas não-virulentas por organismos com status antioxidante comprometido. Isto é especialmente verdade no caso de alguns países asiáticos onde homens, porcos e aves convivem em estreita proximidade, o que cria condições ideais para recombinação viral entre as espécies e conversão a formas virulentas. Várias pesquisas demonstraram repetidas vezes que selênio e Vitamina E impedem a conversão de vírus em genótipos virulentos. Este efeito é não-específico porque parece estar relacionado com uma suscetibilidade maior a oxidantes ou a uma baixa capacidade de defesa contra oxidantes, o que faz com que fatores que agem como antioxidantes ou que reduzem a geração de oxidantes biológicos possam produzir efeito protetor. Do ponto de vista nutricional, os produtos de soro favorecem estabelecimento de ligações ativas entre a lactoferrina e metais, promovem o crescimento de microbiota desejável e saudável e melhoram o status de GSH.

Embora agindo de forma indireta, a imunidade passiva contra infecções no lúmen intestinal proporcionada pelas imunoglobulinas, enzimas (lisozima, lactoperoxidase), a lactoferrina, a casocidina, a isracidina ou caseína macropeptídeos encontrados no soro também pode interferir na redução de cargas oxidantes geradas por inflamações. As imunoglobulinas participam da defesa passiva do organismo dos jovens e resistem, em parte, à degradação no lúmen intestinal. A lactoferrina, um peptídeo separado da lactoferrina pela pepsina, exerce in vitro efeitos antibacterianos que são eficazes tanto contra bactérias quanto contra leveduras, uma propriedade relacionada com a capacidade da substância de ligar ferro. A lactoferrina também possui atividade antimicrobiana que é consequência de uma interação direta entre a lactoferrina e a superfície da bactéria. A lactoferrina liga ferro e fornece os meios tanto para criar formas estáveis de ferro quanto para eliminar ferro livre que poderia catalisar reações oxidantes. Administradas por meio da alimentação, a proteína de soro, a lactoferrina e soro multifermentado tiveram todos bom

desempenho como inibidores de tensão oxidante em ratos, mesmo a baixos níveis de Vitamina E alimentar.

ATIVIDADES ANTICARCINOGENICAS

Estudos epidemiológicos indicaram que pessoas que consomem leite regularmente correm menor risco de câncer do cólon e reto do que as pessoas que nunca consomem leite. Cálcio e vitamina D, principalmente quando provenientes de leite, foram identificados como substâncias que fornecem proteção contra o câncer colorrectal. Em um estudo recente, 30 gramas de um concentrado de proteína de soro (Immunocal) foi administrado diariamente via alimentação a 7 pacientes com carcinoma no peito, pâncreas ou fígado. Os tecidos normais e os cancerosos tiveram respostas diferentes à ingestão do concentrado de proteína de soro em termos de status de GSH. As elevadas concentrações iniciais de GSH nos linfócitos do sangue, as quais refletiram altos níveis de GSH nos tumores, se normalizaram em 2 dos pacientes que apresentaram sinais de regressão do tumor. Estes resultados indicam que o concentrado de proteína de soro pode ser capaz de retirar todo GSH do interior das células do tumor, tornando-as mais vulneráveis à quimioterapia. Estudos epidemiológicos e experimentais sugerem que produtos lácteos podem exercer um efeito inibidor sobre o desenvolvimento de diversos tipos de câncer. Experimentos realizados com roedores indicaram que a atividade anti-tumor dos produtos lácteos se deve à fração proteica do leite e mais especificamente às proteínas do soro.

AIDS/HIV. O isolado de proteína de soro é tido em tão alta conta pela profissão médica que é usado no tratamento de pacientes de AIDS/HIV. O soro aumenta níveis deficientes de GSH e portanto fornece de forma indireta uma substância antioxidante extremamente importante envolvida na manutenção da integridade funcional e estrutural de tecido muscular que danos causados por reações oxidantes durante exercícios físicos ou que ocorrem com o avanço da idade. O vírus da AIDS/HIV precisa de baixos níveis de GSH para se replicar e existe uma relação antagonística entre o vírus e o GSH, isto é, baixos níveis de GSH celular permite ao vírus se multiplicar, ao passo que altos níveis de GSH reduz drasticamente a replicação do vírus. Nas células cujo status de GSH havia sido melhorado após a ingestão de concentrado de proteína de soro houve uma diminuição substancial da atividade viral. Quanto mais elevado o nível de GSH nos linfócitos (células do sistema imunológico) de pacientes de AIDS/HIV, maior sua sobrevivência.

CÁLCIO E OUTROS MINERAIS NO SORO

Soro e concentrados de minerais de soro são primorosas fontes de cálcio, magnésio e fósforo. Por exemplo, o teor de cálcio, magnésio e fósforo expresso em mg por 100 gramas de soro doce em pó é de 796, 176 and 932, respectivamente, e o teor destes minerais em soro ácido em pó é de 2.054, 199 and 1.348 mg/100g. O soro com teor reduzido de lactose também é uma boa fonte de cálcio, contendo concentrações acima de 800 mg/100g.



Em comparação, a Organização Mundial da Saúde (OMS/ WHO) recomenda para homens adultos a ingestão diária de 500 mg de cálcio e 300 mg de magnésio. Na indústria de alimentos, ingredientes de soro dos EUA podem ser incorporados a produtos fortificados, aumentando o teor de nutrientes minerais do produto final.

Alimentos lácteos são uma boa fonte de minerais bioativos e importantes sobretudo para crianças e jovens em fase de crescimento; no entanto, a interação com outros nutrientes é um fator importante. "Biodisponibilidade" é o termo usado para indicar a diferença entre o teor de nutrientes de um alimento e quanto disso o organismo de fato consegue aproveitar. Embora o leite e suplementos de cálcio diminuam a absorção de ferro, o ferro acumulado no organismo não é afetado pelo consumo de altas doses de cálcio.

O cálcio é amplamente reconhecido como importante não somente para os ossos, mas também tem sido apontado como um fator significativo para o tratamento de vários distúrbios, tais como hipertensão, preeclampsia, o síndrome da pré-menstruação e câncer do cólon.

HIPERTENSÃO

Enquanto a restrição ao sódio tem sido historicamente associada ao controle da hipertensão, há outras evidências que sugerem que o consumo de quantidades adequadas de outros minerais deveria estar na base das dietas recomendadas para as pessoas que sofrem da doença. A ausência de cálcio, potássio e magnésio, devido ao baixo consumo de produtos lácteos, frutas e legumes, pode ser um indicador melhor e mais confiável da predisposição à condição de hipertenso do que o consumo de sal. Na verdade, o recente estudo "Dietas para o Tratamento da Hipertensão" (tradução livre de Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH)) concluiu que a pressão arterial de pessoas cujo consumo de produtos lácteos era inferior às quantidades diárias atualmente recomendadas abaixou depois que as quantidades recomendadas haviam sido introduzidas em sua dieta.

PROBIÓTICOS E PREBIÓTICOS

Atualmente vêm sendo desenvolvidos produtos inovadores que combinam uma variedade de elementos, tais como probióticos, imunoglobulinas e prebióticos, para finalidades bem específicas. Outros produtos probióticos têm sido citados como sendo eficazes para reduzir o nível de colesterol.

Alimentos fermentados são uma parte importante da maioria das dietas saudáveis e constituem uma via de acesso para micróbios que se estabelecem no intestino. A definição geralmente aceita de uma substância probiótica (para humanos) descreve este produto como um suplemento alimentar contendo microrganismos vivos que produz efeitos benéficos no organismo humano (o hospedeiro) através da melhora do equilíbrio microbiano do intestino. Por outro lado, um produto prebiótico produz efeitos benéficos no hospedeiro ao estimular seletivamente o crescimento e/ou a atividade de um ou de um número limitado de bactérias naturalmente presentes ou introduzidas no cólon, o que também leva a uma melhora do estado de saúde do hospedeiro. Os probióticos e prebióticos estão sendo cada vez mais usados em conjunto com o objetivo de obter o que é chamado de efeito simbiótico. Até pouco tempo atrás, foi na área dos produtos lácteos onde houve a maior parte das inovações no uso de probióticos e prebióticos. No entanto, os prebióticos estão começando a serem usados em escala crescente também em outras áreas, notadamente em produtos de panificação. Foram publicados recentemente várias revisões bibliográficas detalhadas a respeito de probióticos, prebióticos e o desenvolvimento de alimentos funcionais que devem ser consultados para obter informações mais detalhadas. Um desses trabalhos que merece ser destacado é a revisão publicada por Naidu et al. que trata de uma ampla variedade de assuntos, desde ecologia microbiana do intestino até numerosos efeitos biológicos (antimicrobianos, fisiológicos, suplementares, imunomodulatórios, anti-tumor), além de aplicações clínicas e alimentares, produção de culturas probióticas e tópicos relacionados com segurança alimentar. Este trabalho de revisão também identifica o tipo de dados de pesquisa que devem ser usados para embasar alegadas qualidades benéficas à saúde e lançar um produto com sucesso no mercado. O grande número de listas de cepas bacterianas, características, aplicações e usos, além de mais de 490 referências fazem deste trabalho uma fonte de informação indispensável.

Os probióticos mais usados em produtos lácteos são os lactobacilos e as bifidobactérias, e é o impacto destes microrganismos sobre a composição da microflora que constitui a base para o conceito probiótico. Os benefícios potenciais à saúde proporcionados pelo consumo de probióticos é impressionante e inclui: maior resistência a doenças infecciosas, sobretudo doenças do intestino; menor duração de diarreia; diminuição da pressão arterial; redução da concentração de colesterol no soro do sangue; menor sensibilidade a alergias; estimulação dos leucócitos periféricos do sangue; modulação da expressão dos genes da citocina; efeitos coadjuvantes; regressão de tumores; e redução na produção de carcinogênicos e co-carcinogênicos. Um dos efeitos mais fundamentais de produtos lácteos fermentados é a maior tolerância à lactose através da introdução de cepas que metabolizam lactose. Efeitos identificados mais recentemente incluem a supressão de infecção causada por *Helicobacter pylori* e, portanto, possíveis efeitos anti-úlceras e anti-cancer. Enquanto os benefícios de cepas probióticas específicas são bem conhecidos em função de numerosos testes clínicos realizados, os mecanismos moleculares que estão na base das propriedades probióticas permanecem envolvidos em controvérsia. Tais mecanismos devem ser esclarecidos para validar alegados efeitos benéficos à saúde mencionados no rótulo de produtos. As características consideradas desejáveis para cepas probióticas incluem: 1) origem humano; 2) pertencer à biota intestinal normal; 3) resistência a processos e fatores digestivos, tais como pH, enzimas digestivas, peristalse (aderência), sais biliares, mudanças de dieta e respostas imunológicas localizadas; 4) estabilidade durante a fabricação e a estocagem do produto; e 5) produção de efeitos que promovem a saúde em geral. É esta última característica que confere o título de “probiótico” à cepa.

As características da cultura devem ser cuidadosamente avaliadas para cada aplicação específica, uma vez que alguns efeitos probióticos podem ser obtidos apenas quando componentes intercelulares bioativos são liberados após o rompimento da membrana microbiana pelos sais biliares. Com o rompimento da membrana microbiana, componentes intracelulares benéficos são liberados e colocados à disposição do lúmen intestinal. Isto permite o desenvolvimento de estratégias diferentes para obter efeitos diferentes e o uso de combinações de micróbios com características diferentes pode ser a melhor maneira de atingir este objetivo em muitos casos. Além disso, diferentes etapas de processamento podem alterar o metabolismo da cultura e, também, a produção de fatores desejáveis (e indesejáveis). Em algumas situações, os melhores efeitos podem ser

obtidos com a adição das culturas após determinadas etapas de processamento, como por exemplo aquecimento. Cada uma dessas considerações deixa clara a necessidade prática de informações detalhadas sobre os mecanismos envolvidos nos efeitos sobre a saúde para possibilitar o desenvolvimento de metas de produção e programas de controle de qualidade confiáveis.

PREBIÓTICOS

O conceito prebiótico assume que a fermentação de forma específica de componentes não-vivos de alimentos no cólon por bactérias endógenas interfere favoravelmente na saúde. Qualquer alimento que entra no intestino grosso é probiótico em potencial. No entanto, para ser eficaz, a seletividade da fermentação é essencial. Até o presente momento, o maior sucesso tem sido alcançado com oligossacarídeos não-digeríveis. Por exemplo, vários dados demonstraram que fructooligosacarídeos (FOS) e galactooligosacarídeos, apesar de resistentes à digestão, são fermentados de forma específica por bifidobactérias. Estudos de alimentação controlada demonstraram que a ingestão destes prebióticos faz com que as bifidobactérias se tornem predominantes nas fezes. Estudos recentes indicaram que uma dose de 4 gramas de FOS por dia é prebiótica. A lactose encontrada em produtos de soro é uma precursora importante de vários compostos prebióticos. Por exemplo, galactooligosacarídeos podem ser produzidos como resultado de uma reação de transgalactosilação que ocorre quando a lactose é hidrolizada por ação enzimática. Estes oligossacarídeos são típicos representantes de uma categoria de substâncias conhecidos como GRAS (sigla em inglês para Generally Recognized As Safe (GRAS) ou substâncias geralmente considerados seguros). Sua inclusão nesta categoria se baseia em duas características: 1) trata-se de constituintes do leite e 2) podem ser produzidos a partir de lactose ingerida por bactérias intestinais residentes. Atualmente, sete tipos de oligossacarídeos foram licenciadas como Alimento Para Uso Medicinal (tradução livre para Food for Specified Health Use (FOSHU)) pelo Ministério da Saúde e do Bem-Estar do Japão, incluindo fructooligosacarídeos, galactooligosacarídeos, lactosucrose, xylooligosacarídeos, oligossacarídeos de soja, raffinose e isomaltoligosacarídeos. De um total de 69 itens que foram licenciadas como FOSHU, 40 são produtos contendo estes oligossacarídeos. Além dos fatores de crescimento de bifidobactérias, os efeitos funcionais de oligossacarídeos indigestíveis sobre a absorção de cálcio foram observados em animais de laboratório. O uso de combinações de FOS com *B. longum* ou galactooligosacarídeos com *B. breve* está sendo usado para estudar a redução do risco de câncer

do cólon em animais de laboratórios.

Os carboidratos do soro são atualmente os prebióticos melhor compreendidos, porém, sabe-se que em determinadas situações as proteínas e os peptídeos do soro também possuem funções prebióticas. As proteínas do soro podem ser particularmente eficazes em situações em que as atividades nutricionais e intestinais do hospedeiro são comprometidos, como ocorre por exemplo durante o tratamento de câncer.

Atualmente vêm sendo desenvolvidos produtos inovadores que combinam uma variedade de elementos, tais como probióticos, imunoglobulinas e prebióticos, para finalidades bem específicas.⁶⁵ Outros produtos probióticos têm sido citados como sendo eficazes para reduzir o nível de colesterol. Os efeitos de uma mistura probiótica de *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Clostridium*, *Saccharomyces* and *Candida* sobre o metabolismo de lipídios foram comparados com os efeitos produzidos por *L. acidophilus* e por *S. faecalis*, respectivamente. De forma semelhante, ensaios com ratos alimentados com uma dieta contendo colesterol em combinação com leite integral, ou iogurte integral, ou iogurte integral fortificado com produtos de soro ou iogurtes contendo bifidobactérias e suplementado de forma semelhante demonstraram que iogurtes com bifidobactérias e iogurtes integrais fortificados com proteínas do soro podem reduzir o teor total de colesterol, bem como o teor de colesterol-LDL. Neste ensaio, os seguintes produtos foram usados para fortificar iogurte: leite em pó desnatado, soro condensado ou soro condensado com lactose hidrolizado. Quando organismos de *L. acidophilus* ou *S. faecalis* foram administrados em combinação com farelo de arroz como parte de uma dieta enriquecida com gordura e colesterol, a síntese de colesterol no fígado diminuiu ao mesmo tempo que a perda de esterol intestinal aumentou 4 semanas após o início do experimento, sendo que o efeito líquido foi uma redução dos níveis de colesterol no sangue. *Lactobacillus reuteri* contém uma enzima ativa chamada hidrolase que degrada sais biliares e este microrganismo pode reduzir de forma significativa tanto o nível total de colesterol quanto a concentração de colesterol-LDL. Du Toit et al. alimentaram mini-porcos durante 5 semanas com cepas de *Lactobacillus* com elevada atividade de hidrolase degradadora de sais biliares. Os animais haviam consumido uma dieta com elevados teores de gordura e de colesterol durante 17 semanas. Os níveis de colesterol no soro haviam baixados 3 semanas após o início da alimentação probiótica, concomitante com um aumento do teor de umidade das fezes e contagens mais elevadas de *Lactobacillus*. Triglicérides, pH e o número de bactérias de ácido láctico nas fezes não foram afetados de forma significativa pela suplementação probiótica.

- Anonymous. 1997. Reference Manual for U.S. Whey Products. U.S. Dairy Export Council, Arlington, VA.
- Appel, L.J., Moore, T.J., Obarzanek, E., Vollmer, W.M., Svetkey, L.P., Sacks, M., Bray, G.A., Vogt, T.M., Cutler, J.A., Windhauser, M.M., Pao-Hwa, L. and Karanja, N. 1997. Dash Collaborative Research Group. A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. *N. Engl. J. Med.* 336: 1117-1124.
- Bahna, S.L. 1985. Pathogenesis of milk hypersensitivity. *Immunol. Today* 6: 153-154.
- Beck, M.A. and Levander, O.A. 1998. Dietary oxidative stress and the potentiation of viral infection. *Annu. Rev. Nutr.* 18: 93-116.
- Beena, A. and Prasad, V. 1997. Effect of yogurt and bifidus yogurt fortified with skim milk powder, condensed whey and lactose-hydrolysed condensed whey on serum cholesterol and triacylglycerol levels in rats. *J. Dairy Res.* 64: 453-457.
- Belem, M.A. and Lee, B.H. 1998. Production of bioingredients from *Kluyveromyces marxianus* grown on whey: an alternative. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 38: 565-598.
- Bennett, R.M. and Davis, J. 1981. Lactoferrin binding to human peripheral blood cells: an interaction with a B-enriched population of lymphocytes and a subpopulation of adherent mononuclear cells. *J. Immunol.* 127: 1211-1216.
- Bernet-Camard, M.F., Lievin, V., Brassart, D., Neeser, J.R., Servin, A.L. and Hudault, S. 1997. The human *Lactobacillus acidophilus* strain LA1 secretes a nonbacteriocin antibacterial substance(s) active in vitro and in vivo. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 2747-2753.
- Beucher, S., Levenez, F., Yvon, M. and Corring, T. 1994. Effects of gastric digestive products from casein on CCK release by intestinal cells in rat. *J. Nutr. Biochem.* 12: 578-584.
- Bland, P.W. and Kambaragne, D.M. 1991. Antigen processing by isolated rat intestinal villus enterocytes. *Gastroenterol. Clin. North Am.* 20: 577-596.
- Blomstrand, E. and Newsholme, E.A. 1992. Effect of branched-chain amino acid supplementation on the exercise-induced change in aromatic amino acid concentration in human muscle. *Acta Physiol. Scand.* 146: 293-298.
- Boirie, Y., Dangin, M., Gachon, P., Vasson, M.-P., Maubois, J.-L. and Beaufre, B. 1997. Slow and fast dietary proteins differently modulate postprandial protein accretion. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 94: 14930-14935.
- Bounous, G., Baruchel, S., Falutz, J. and Gold, P. 1993. Whey protein as a food supplement in HIV-seropositive individuals. *Clin. Invest. Med.* 16: 204-209.
- Bounous, G., Batist, G. and Gold, P. 1991. Whey proteins in cancer prevention. *Cancer Lett.* 57: 91-94.
- Bounous, G., Papenburg, R., Kongshave, P.A., Gold, P. and Fleischer, D. 1988. Dietary whey protein inhibit the development of dimethylhydrazine induced malignancy. *Clin. Invest. Med.* 11: 213-217.
- Bounous, G., Batist, G. and Gold, P. 1991. Immunoenhancing property of dietary whey protein in mice: role of glutathione. *Clin. Invest. Med.* 12: 154-161.
- Bounous, G., Gervais, F., Amer, V., Batist, G. and Gold, P. 1989. The influence of dietary whey protein on tissue glutathione and the disease of aging. *Clin. Invest. Med.* 12: 343-349.
- Bounous, G. and Gold, P. 1991. The biological activity of undenatured dietary whey proteins: role of glutathione. *Clin. Invest. Med.* 14: 296-309.
- Bounous, G. and Kongshavn, P.A.L. 1985. Differential effect of protein type on the B-cell and T-cell immune responses in mice. *J. Nutr.* 115: 1403-1408.
- Bounous, G. and Kongshavn, P.A.L. 1989. Influence of protein type in nutritionally adequate diets on the development of immunity. In M. Freedman (Editor), *Absorption and Utilisation of Amino Acids, Volume II.* CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 219-233.
- Brassart, D., Schiffrin, E., Rochat, F., Offord, E.A., Macé, C. and Neeser, J.-R. 1997. The future of functional foods: Scientific basis and future requirements. *Lebensmittel-Technologie* 31: 258-266.
- Broche, T. and Platt, D. 1995. Nutritional factors and age-associated changes in cellular immunity and phagocytosis: a review. *Aging: Immunol. Infect. Dis.* 6: 29-40.
- Chonan, O., Matsumoto, K. and Watanuki, M. 1995. Effect of galactooligosaccharides on calcium absorption and preventing bone loss in ovariectomized rats. *Biosci. Biotech. Biochem.* 59: 236-239.
- De Smet, I., De Boever, P. and Verstraete, W. 1998. Cholesterol lowering in pigs through enhanced bacterial bile salt hydrolase activity. *Brit. J. Nutr.* 79: 185-194.
- De Wit, J.N. 1998. Nutritional and functional characteristics of whey proteins in food products. *J. Dairy Sci.* 81: 597-608.
- Donnelly, J.L.; Decker, E.A. and McClements, D.J. 1998. Iron-catalyzed oxidation of menhaden oil as affected by emulsifiers. *J. Food Sci.* 63: 997-1000.
- Du Toit, M., Franz, C.M., Dicks, L.M., Schillinger, U., Haberer, P., Warlies, B., Ahrens, F. and Holzapfel, W.H. 1998. Characterization and selection of probiotic lactobacilli for a preliminary minipig feeding trial and their effect on serum cholesterol levels, faeces pH and faeces moisture content. *Int. J. Food Microbiol.* 40: 93-104.
- Faith, R.E., Liang, H.J., Murgo, A.J. and Plotnikoff, N.P. 1984. Neuroimmunomodulation with enkephalins: enhancement of human natural killer (NK) cell activity in vitro. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 31: 412-418.
- Fukushima, M. and Nakano, M. 1996. Effects of a mixture of organisms, *Lactobacillus acidophilus* or *Streptococcus faecalis* on cholesterol metabolism in rats fed on a fat- and cholesterol-enriched diet. *Brit. J. Nutr.* 76: 857-867.
- Ganjam, L.S., Thornton, W.H., Jr., Marshall, R.T. and MacDonald, R.S. 1997. Antiproliferative effects of yogurt fractions obtained by membrane dialysis on cultured mammalian intestinal cells. *J. Dairy Sci.* 80: 2325-2329.
- Garland, C., Shekelle, R.B., Barrett-Connor, E., Criqui, M.H., Ross, A.H. and Paul, O. 1985. Dietary vitamin D and calcium and risk of colorectal cancer: a 19-year prospective study in men. *Lancet* 1(8424): 307-309.
- Garofalo, R.P. and Goldmann, A.S. 1998. Cytokines, chemokines, and colony-stimulating factors in human milk: the 1997 update. *Biol. Neonate.* 74: 134-142.
- German, J.B., E.N. Frankel, A.L. Waterhouse, R.J. Hansen and R.L. Walzem. 1997. Wine phenolics and targets of chronic disease. In: *Wine Nutritional and Therapeutic Benefits* (Watkins, T.R., ed.), American Chemical Society Symposium Series 661 (210th Meeting: 1995) Chicago, IL, pp. 196-214.
- Gibson, G.R. 1998. Dietary modulation of the human gut microflora using prebiotics. *Brit. J. Nutr.* 80: S209- S212.
- Gorski, D. 1994. Nutraceuticals with food ingredient potential. *Dairy Foods* 96: 78.
- Guimont, C., Marchall, E. and Girardet, I.M. 1997. Biologically active factors in bovine milk and dairy byproducts: influence on cell culture. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 37: 393-410.
- Heine, W.E., Klein, P.D. and Reeds, P.J. 1991. The importance of alpha-lactoglobulin in infant nutrition. *J. Nutr.* 121: 277-283.
- Hirano, R., Hirano, M., Ooka, M., Dosako, S., Nakajima, I. and Igoshi, K. 1998. Lactoperoxidase effects on rheological properties of yogurt. *J. Food Sci.* 63: 35-38.
- Hoogendoorn, H., Piessens J.P., Scholtes, W. and Stoddard, L.A. 1977. Hypothiocyanite ion; the inhibitor formed by the system lactoperoxidase-thiocyanate hydrogen peroxide. *Caries Res.* 11: 77-84.
- Horton, B.S. 1995. Commercial utilization of minor milk components in the health and food industries. *J. Dairy Sci.* 78: 2584-2589.
- Howarth, G.S., Francis, G.L., Cool, J.C., Xu, X., Byard, R.W. and Read, L.C. 1996. Milk growth factors enriched from cheese whey ameliorate intestinal damage by methotrexate when administered orally to rats. *J. Nutr.* 126: 2519-2530.
- Idota, T., Kawakami, H. and Nakajima, I. 1994. Growth-promoting effects of N-acetylneuraminic acid-containing substances on bifidobacteria. *Biosci. Biotech. Biochem.* 58: 1720-1722.
- Isamida, T., Tanaka, T., Omata, Y., Yamauchi, K., Shimazaki, K. and Saito, A. 1998. Protective effect of lactoferrin against *Toxoplasma gondii* infection in mice. *J. Vet. Med. Sci.* 60: 241-244.
- JapanScan. 1998. Functional Foods and Drinks in Japan. Food Industry Bulletin/Leatherhead UK.
- Kabir, A.M., Aiba, Y., Takagi, A., Kamiya, S., Miwa, T. and Koga, Y. 1997. Prevention of *Helicobacter pylori* infection by lactobacilli in a gnotobiotic murine model. *Gut* 41: 49-55.
- Kennedy, R.S., Konok, G.P., Bounous, G., Baruchel, S. and Lee, T.D. 1995. The use of a whey protein concentrate in the treatment of patients with metastatic carcinoma: a phase I-II clinical study. *Anticancer Res.* 15(6B): 2643-2649.
- Koletzko, B., Aggett, P.J., Bindels, J.G., Bung, P., Ferre, P., Gil, A., Lentze, M.J. Roverfroid, M. and Strobel, S. 1998. Growth, development and differentiation: a functional food science approach. *Br. J. Nutr.* 80: 5S-45S.

- Kuwata, H., Yip, T.-T., Tomita, M. and Hutchens, T.W. 1998. Direct evidence of the generation in human stomach of an antimicrobial peptide domain (lactoferricin) from ingested lactoferrin. *Biochim. Biophys. Acta* 1429: 129-141.
- Kuwata, H., Yip, T.-T., Yamauchi, K., Teraguchi, S., Hayasawa, H., Tomita, M. and Hutchens, T.W. 1998. The survival of ingested lactoferrin in the gastrointestinal tract of adult mice. *Biochem. J.* 334: 321-323.
- Kuwata, H., Yip, T.-T., Yip, C.L., Tomita, M. and Hutchens, T.W. 1998. Bactericidal domain of lactoferrin: Detection, quantitation, and characterization of lactoferricin in serum by SELDI affinity mass spectrometry. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 245: 764-773.
- Ling, W.H., Hanninen, O., Mykkanen, H., Heikura, M., Salminen, S. and Von Wright, A. 1992. Colonization and fecal enzyme activities after oral *Lactobacillus GG* administration in elderly nursing home residents. *Ann. Nutr. Metab.* 36: 162-166.
- Lieske, B. and Konrad, G. 1996. A new method to estimate caseinomacropeptide and glycomacropeptide from trichloroacetic acid filtrates. *Milchwissenschaft* 51: 431-435.
- McCarron, D.A., Morris, C. and Cole, C. 1982. Dietary calcium in human hypertension. *Science* 217: 267-269.
- McCarron, D.A., Morris, C.D., Henry, H.J. and Stanton, J.L. 1984. Blood pressure and nutrient intake in the United States: an analysis of the Health and Nutrition Examination Survey I. *Science* 224: 1392-139.
- McIntosh, G.H., Regester, G.O., Le Leu, R.K., Royle, P.J. and Smithers, G.W. 1995. Dairy proteins protect against dimethylhydrazine-induced intestinal cancers in rats. *J. Nutr.* 125: 809-816.
- Meisel, H., Frister, H. and Schlimme, E. 1989. Biologically active peptides in milk proteins. *Z. Ernährungswiss* 198928: 267-278.
- Mercier, J.C. and Gaye, P. 1982. Early events in secretion of main milk proteins: occurrence of precursors. *J. Dairy Sci.* 65: 299-316.
- Merritt, R.J., Carter, M., Haight, M. and Eisenberg, L.D. 1990. Whey protein hydrolysate formula for infants with gastrointestinal intolerance to cow milk and soy protein in infant formulas. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 11: 78-82.
- Miyauchi, H., Hashimoto, S.-I., Nakajima, M., Shinoda, I., Fukuwatari, Y. and Hayasawa, H. 1998. Bovine lactoferrin stimulates the phagocytic activity of human neutrophils: Identification of its active domain. *Cell. Immunol.* 187: 34-37.
- Mourier, A., Bigard, A.X., de Kerviler, E., Roger, B., Legrand, H. and Guezennec, C.Y. 1997. Combined effects of caloric restriction and branched-chain amino acid supplementation on body composition and exercise performance in elite wrestlers. *Int. J. Sports Med.* 18: 47-55.
- Naidu, A.S., Bidlack, W.R. and Clemens, R.A. 1999. Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 38: 13-126.
- Nakajima, M., Shinoda, I., Samejima, Y., Miyauchi, H., Fukuwatari, Y. and Hayasawa, H. 1996. Kappa-casein suppresses melanogenesis in cultured pigment cells. *Pigment Cell Res.* 9: 235-239.
- Otani, H. and Monnai, M. 1993. Inhibition of proliferative responses of mouse spleen lymphocytes by bovine milk kappa-casein digests. *Food Ag. Immuno.* 5: 219-229.
- Rogers, M.L., Belford, D.A., Francis, G.L. and Ballard, F.J. 1995. Identification of fibroblast growth factors in bovine cheese whey. *J. Dairy Res.* 62: 501-507.
- Patton, S., Carson, G.S., Hiraiwa, M., O'Brien, J.S. and Sano, A.J. 1997. Prosaposin, a neurotrophic factor: presence and properties in milk. *J. Dairy Sci.* 80: 264-272.
- Paul, S.M. 1998. Immunoglobulin and fiber-containing composition for human gastrointestinal health. US Patent number 5,744,134.
- Schena, F., Guerrini, F., Tregnaighi, P. and Kayser, B. 1992. Branched-chain amino acid supplementation during trekking at high altitude. The effects on loss of body mass, body composition, and muscle power. *Eur. J. Appl. Physiol.* 65: 394-398.
- Schiffirin, E.J., Brassart, D., Servin, A.L., Rochat, F. and Donnet-Hughes, A. 1997. Immune modulation of blood leukocytes in humans by lactic acid bacteria: criteria for strain selection. *Am. J. Clin. Nutr.* 66: 515S-520S.
- Seymour, W.M., Nocek, J.E. and Siciliano-Jones, J. 1995. Effects of a colostrum substitute and dietary brewer's yeast on the health and performance of dairy calves. *J. Dairy Sci.* 78: 412-420.
- Shenai, J.P., Dame, M.C., Churella HR, Reynolds, J.W. and Babson, S.G. 1986. Nutritional balance studies in very-low-birth-weight infants: role of whey formula. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 5: 428-443
- Shin, K., Yamauchi, K., Teraguchi, S., Hayasawa, H., Tomita, M., Otsuka, Y. and Yamazaki, S. 1998. Antibacterial activity of bovine lactoferrin and its peptides against enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Lett. Appl. Microbiol.* 26: 407-411.
- Smithers, G.W., Ballard, F.J., Copeland, A.D., De Silva, K.J., Dionysius, D.A., Francis, G.L., Goddard, C., Grieve, P.A., McIntosh, G.H. and Mitchell, I.R. 1996. New opportunities for the isolation and utilization of whey proteins. *J. Dairy Sci.* 79: 1454-1459.
- Stella, V. & Postaire, E., 1995. Evaluation of the antiradical protector effect of multifermented milk serum with reiterated dosage in rats. *C.R. Seances Soc. Biol. Fil.* 189: 1191-1197.
- Takada, Y., Aoe, S. and Kumegawa, M. 1996. Whey protein stimulated the proliferation and differentiation of osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 223: 445-449.
- Tannock, G.W. 1999. Probiotics: A Critical Review. Horizon Scientific Press, Wymondham, Norfolk, UK.
- Tomita, S., Shirasaki, N., Hayashizaki, H., Matsuyama, J., Benno, Y. and Kiyosawa, I. 1998. Binding characteristics of bovine lactoferrin to the cell surface of *Clostridium* species and identification of the lactoferrin-binding protein. *Biosci. Biotech. Biochem.* 62: 1476-1482.
- Vaughn, E.E. and Mollet, B. 1999. Probiotics in the new millennium. *Nahrung/Food* (in press).
- Wakabayashi, H., Abe, S., Okutomi, T., Tansho, S., Kawase, K. and Yamaguchi, H. 1996. Cooperative anti-Candida effects of lactoferrin or its peptides in combination with azole antifungal agents. *Microb. Immunol.* 40: 821-825.
- Wong, C.W., Seow, H.F., Husband, A.I., Regester, G.O. and Watson, D.L. 1997. Effects of purified bovine whey factors on cellular immune functions in ruminants. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 56: 85-96.
- Wong, C.W. and Watson, D.L. 1995. Immunomodulatory effects of dietary whey proteins in mice. *J. Dairy Res.* 62: 359-368.
- Wu, S.Y., Perez, M.D., Puyol, P. and Sawyer, L. 1999. Beta-lactoglobulin binds palmitate within its central cavity. *J. Biol. Chem.* 274: 170-174.
- Yhoo, Y.-C., Watanabe, S., Watanabe, R., Hata, K., Shimazaki, K.-I. and Azuma, I. 1997. Bovine lactoferrin and lactoferricin, a peptide derived from bovine lactoferrin, inhibit tumor metastasis in mice. *Japan. J. Cancer Res.* 88: 184-190.
- Yoo, Y.-C., Watanabe, R., Koike, Y., Mitobe, M., Shimazaki, K.-I., Watanabe, S. and Azuma, I. 1997. Apoptosis in human leukemic cells induced by lactoferricin, a bovine milk protein-derived peptide: Involvement of reactive oxygen species. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 237: 624-628.
- Young, J. 1998. European market developments in prebiotic- and probiotic-containing foodstuffs. *Brit. J. Nutr.* 80: S231-S233.
- Yun, S. S., Sugita-Konishi, Y., Kumagai, S. and Yamauchi, K. 1996. Glycomacropeptide from cheese whey protein concentrate enhances IgA production by lipopolysaccharide-stimulated murine spleen cells. *Ann. Sci. Tech.* 67: 458-462.
- Zommara, M., Toubou, H., Sakono, M. and Imaizumi, K. 1998. Revention of peroxidative stress in rats fed on a low vitamin E-containing diet by supplementing with a fermented bovine whey preparation. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 62: 710-717.



Av. Lins de Vasconcelos, 3282 - cj 31/32
 São Paulo - SP - 04112-010
 Tel: (55 11) 5084 0820
 Fax: (55 11) 5571 5053
 E-mail: usdec@visualbyte.com.br
 www.usdec.org

