

Soro de Leite e Suas Proteínas: Composição e Atividade Funcional

Whey and its Proteins: Composition and Functional Activity

Fernando Augusto Poppi^a; Marcela de Rezende Costa^b;
Christiane Maciel Vasconcellos Barros De Rensis^c; Kátia Sivieri^{d*}

Resumo

O soro de leite, considerado anteriormente como resíduo da produção de queijos e caseína, porm, com o desenvolvimento de novas tecnologias e sistemas mais eficazes para controlar o processamento, o soro tem se tornado produto de importante valor agregad. esse trabalho foi realizada revisão de literatura sobr oas propriedades funcionais do soro e suas proteínas utilizando as bases de dados Pubmed, Science Direct, Scielo, Highwire Press e periódicos Capes. Foram pesquisados trabalhos publicados no período de 1970 a 2008, resultando em 46 bibliografias selecionadas para esta revisão. Os resultados mostraram inúmeras propriedades funcionais das proteínas do soro, tais como: imunomodulação, regulação do crescimento celular, função antitumoral, atividade antioxidante e antiinflamatório, prevenção a úlceras gástricas, transmissão de imunidade passiva, entre outras.

Palavras-chaves: Soro. Lactoferrina. α -lactoalbumina. β -lactoglobulina. Imunoglobulinas.

Abstract

The whey, considered formerly as cheese and casein production residue, however with the development of the new technologies and more efficient systems to control the process, the whey has become a product with important aggregated output. A literature review about the functional properties of the whey and its proteins was realized in this study using the following databases: Pubmed, Science Direct, Scielo, Highwire Press and Periódicos Capes. Papers published in the period from 1970 to 2008 were researched, resulting in 46 selected bibliographies for this review. The outcome showed several functional properties of the whey proteins, such as: immunomodulation, cellular growth regulation, anti-tumor function, antioxidant and anti-inflammatory activity, prevention the gastric ulcers, transmission of passive immunity, and others.

Keywords: *Whey. Lactoferrin. α -lactalbumin. β -lactoglobulin.*

^a Graduando em Química Industrial da Universidade Norte do Paraná (UNOPAR). E-mail: fepoppi@hotmail.com

^b Doutora em Tecnologia de Alimentos - Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Docente da Universidade Norte do Paraná (UNOPAR). E-mail: marcela2@unopar.br

^c Doutora em Tecnologia de Alimentos - Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Docente da Universidade Norte do Paraná (UNOPAR). E-mail: christiane@unopar.br

^d Doutora em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica - Universidade de São Paulo (USP). Docente da Universidade Norte do Paraná (UNOPAR). E-mail: sivieri@unopar.br

* Endereço para correspondência: Av. Dr. Ademar P. de Barros, 159, CEP.: 14.807-040, Araraquara - SP.

1 Introdução

O Brasil é o sexto maior produtor de leite do mundo e apresenta taxa anual de crescimento da produção leiteira ao redor de 4%, representando valor superior ao de todos os países que ocupam os primeiros lugares. De acordo com Viotto¹, cerca de 35% dessa produção é destinada a fabricação de queijo, a qual possui taxa de crescimento anual de 4,6%, superior ao da própria produção leiteira.

Um dos principais problemas associados à produção de queijo é a geração do sub-produto denominado soro de queijo, que apresenta elevado teor de poluente devido à presença de proteínas, gordura, lactose e sais minerais. Sua demanda biológica de oxigênio (DBO) varia de 30.000 a 50.000 mg de oxigênio por litro de soro, valor 100 vezes

maior ao do esgoto doméstico. Portanto, um laticínio com produção média de 10.000 litros de soro por dia, provoca a mesma carga poluente de uma população de 5000 habitantes. O volume de soro produzido é elevado e o seu tratamento é dispendioso para os grandes e pequenos laticínios. O descarte total de soro representa também grave agressão ambiental. Por outro lado quando é feito tratamento adequado para posterior descarga do efluente tratado há implicação de implantação com custo muito alto^{2,3}.

Em média para a fabricação de 1 quilo de queijo são necessários 10 litros de leite, levando a produção de 8 a 9 litros de soro. Considerando a produção de 450.000 toneladas de queijo por ano no Brasil, essa quantidade corresponde a 4.050.000 toneladas de soro de queijo. Descartar esse volume de soro sem tratamento eficiente não é só crime previsto por lei, mas também significa rejeitar um produto de alto valor nutricional. As proteínas do soro possuem um dos mais altos índices de valor biológico em comparação com outras fontes de proteínas. Desse modo é urgente a viabilização de processos e unidades industriais destinadas à separação e purificação dos componentes do soro^{4,5}.

Este estudo teve como objetivo revisar as novas tecnologias de purificação, separação e identificação dos componentes do soro de queijo, que deixou de ser potencial agente poluente da indústria do leite para se tornar excelente ingrediente alimentício.

2 Material e Métodos

Foi realizada pesquisa bibliográfica utilizando-se as bases de dados: Pubmed, Science Direct, Scielo, Highwire Press e periódicos Capes, somando o total de 46 bibliografias consultadas. Os descritores bibliográficos foram: soro, lactoferrina, α -lactoalbumina, β -lactoglobulina, lactose, ácido láctico e imunoglobulinas.

3 O Soro de Leite

O soro é a fase aquosa, opaca e de coloração verde amarelada, obtido durante a produção de queijo ou de caseína, resultante da coagulação do leite por ácido ou enzimas proteolíticas^{6,7}. De acordo com Smithers⁶ sua composição química varia substancialmente dependendo da variedade de queijo ou caseína produzidos, do tipo de leite (bovino, caprino ou ovino), período do ano, tipo de nutrição dada aos animais, estágio de lactação e da qualidade do processamento industrial para a obtenção de queijos e caseínas e por fim do tipo de soro obtido: soro ácido ou doce.

Dependendo do tipo de queijo que está sendo fabricado, existem dois tipos de soro: o soro de coagulação enzimática proveniente da produção de queijo tipo duro semi-duro ou

suave, também chamado de soro doce, apresenta pH na faixa de 5,3 a 6,6. Este soro provém da fabricação de queijo tipo cheddar, suíço, mussarela e tipos similares. O outro tipo de soro, obtido de coagulação ácida, é denominado de soro ácido e tem pH entre 4,4 e 5,3 e provém principalmente da fabricação de queijos tipo cottage e ricota, ou do processo industrial de obtenção da caseína⁸.

3.1 Proteínas do soro

O soro contém quase a metade dos nutrientes originais do leite sendo rico em componentes tais como: proteínas do soro, vitaminas hidrossolúveis, sais minerais e lactose⁶. As proteínas do soro são complexas misturas de numerosas moléculas, cujas principais são: β lactoglobulina, α lactalbumina, imunoglobulinas e albumina de soro que representam aproximadamente 2,7, 1,2, 0,65 e 0,25 g/L, respectivamente⁹. Existem outras classes de proteínas incluindo a lactoferrina série de enzimas (fosfatases ácidas e alcalinas, lisozimas, xantinas, lactoperoxidasas), hormônios e fatores de crescimento (tabela 1).

As principais proteínas do soro serão discutidas com mais detalhes a seguir.

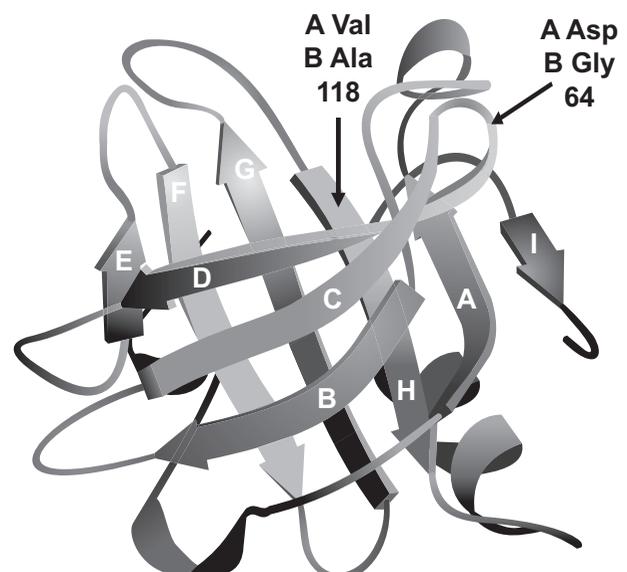
Tabela 1: Principais proteínas do soro e suas características moleculares

Proteína	Concentração (g/L)	Peso Molecular (KDa)	Número de Amino-ácidos residuais
β -Lactoglobulina	2,7	18,277	162
α -Lactoalbumina	1,2	14,175	123
Albumina do Soro Bovino	0,25	66,267	582
Imunoglobulinas (A, M e C)	0,65	25,000 (fração leve) +50,000 (fração pesada)	-
Lactoferrina	0,1	80,000	700

3.1.1. β -Lactoglobulina (β LG)

A β -Lactoglobulina é a principal componente protéica do soro de leite bovino¹⁰. É uma proteína globular de massa molecular 18.362 Da⁷. Na figura 1 pode-se observar a estrutura terciária da β -LG. Sua conformação espacial foi completamente elucidada por Brownlow¹¹. A molécula apresenta 9 segmentos em folhas β antiparalelas que se arranjam formando espécie de cálice ou barril achatado capaz de ligar pequenas moléculas hidrofóbicas no seu interior.

Esse tipo de estrutura caracteriza uma família de proteínas denominadas lipocalinas. A família das lipocalinas compreende as proteínas com função de transporte¹². A estrutura particular da β -LG, do tipo lipocalina, forma uma espécie de cálice de caráter hidrofóbico que lhe confere propriedades funcionais de grande aplicação na indústria de alimentos, como capacidade de emulsificação, formação de espuma, geleificação e ligação de aroma e sabor¹³.



Fonte: Sgarbieri (2004)⁴¹

Figura 1: Estrutura Terciária da β -Lactoglobulina

A estrutura da β -LG contribui para que ela seja uma proteína bastante estável em solução em ampla faixa de pH, apresentando, porém, diferentes estados de associação. A β -LG pode passar por 5 transições induzidas pelo pH, na faixa de 1 a 13¹⁴.

Na faixa de pH 1 a 2 a β -LG sofre mudanças estruturais, porém retém, em grande parte, a sua estrutura secundária. A segunda transição ocorre na faixa de pH entre 2,5 e 4,0, verificando-se a passagem de dímero a monômero. Entre pH 4,5 e 6,0 ocorrem pequenas mudanças em sua estrutura terciária, sem alteração significativa na estrutura secundária. A quarta transição ocorre entre pH 6,5 e 8,5, conhecida como transição de Tanford, que é acompanhada por alterações localizadas das estruturas secundária e terciária, sem mudança na conformação global da proteína. Por último, a quinta transição ocorre entre os pHs 9 e 12,5, identificada como desnaturação alcalina, e resulta na ruptura de qualquer estrutura dimérica nativa, transformando-se em monômeros desdobrados. Estima-se que aproximadamente 20% das folhas β e 10% das α -hélice sejam preservadas nessas condições¹⁵. A desnaturação da β -LG, induzida por base alcalina, é irreversível.

A β -LG é uma proteína termosensível, portanto vários efeitos são produzidos por ação da temperatura, entre eles, a perda de solubilidade e a exposição de regiões da molécula apropriada para diferentes tipos de interação com outros componentes em sistemas complexos¹⁶.

Modificações reversíveis começam ao redor de 50 °C e irreversíveis acima de 65-70 °C. Em pH neutro, o aquecimento origina em primeiro lugar a monomerização da proteína dimerizada (nativa), seguida da perda da conformação globular compacta, passando para estado intermediário de maior flexibilidade e maior volume da estrutura terciária, em que há aumento de grupos hidrofóbicos expostos (“molten globule state”), seguida de associação intermolecular de estruturas em folhas β , por meio de pontes dissulfeto e interações hidrofóbicas^{17,18}.

Durante o processamento do leite em escala industrial, a β -LG é apontada como responsável pelo início do processo de agregação que conduz a obstrução e à conseqüente perda de eficiência dos trocadores de calor¹⁹. Fenômeno semelhante ao que ocorre com a β -LG sob ação do calor, o mesmo efeito pode também ocorrer com a aplicação de pressão^{20,21}.

Apesar de se conhecer muito sobre a estrutura e a funcionalidade da β -LG, pouco se conhece sobre seu papel fisiológico. Em 1972, Futterman e Heller, usando técnica de fluorescência, demonstraram que a β -LG bovina, assim como a proteína ligante de retinol (RBP), forma complexos solúveis em água com retinol. A ligação de retinol com β -LG envolve principalmente interações hidrofóbicas²¹.

A porção apolar do ligante é inteiramente responsável pela ligação e o sítio de ligação provavelmente inclui resíduos de triptofano que servem para fixar o anel da β -ionona do retinol²². Vários estudos têm sido realizados com o objetivo de

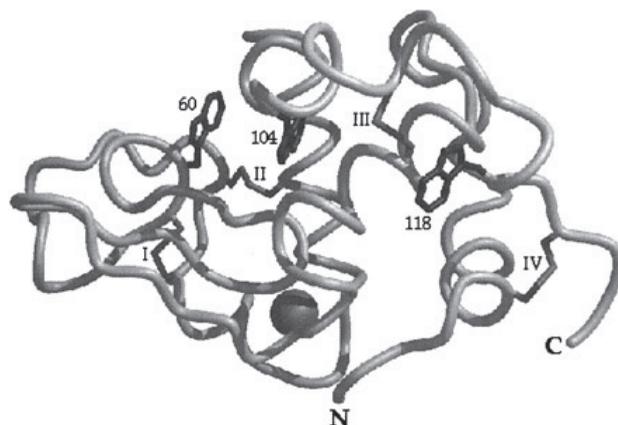
definir os sítios de ligação existentes na β -LG, para o retinol, mas um consenso ainda não foi alcançado.

Sobre a funcionalidade da β -LG sabe-se que ela tem um efeito protetor na destruição térmica do ácido ascórbico em solução aquosa²³. Esta proteção pode estar relacionada a um efeito antioxidante pela presença de grupo tiol na proteína. Ainda sobre a sua funcionalidade, segundo Nagoka²⁴ peptídeos derivados da β -LG bovina podem influenciar fortemente no nível de colesterol sérico. Os peptídeos induzem a supressão da absorção do colesterol, evidenciado pelo estudo com célula-Caco-2. A atividade do peptídeo (Ile Ile Ala Glu Lys) exibiu maior atividade que o β -sitosterol, em ratos.

3.1.2 α -Lactoalbumina (α LA)

A α -Lactoalbumina (α -LA) é importante proteína presente na composição do leite de muitos animais, sendo uma das principais proteínas do leite humano e constitui de 20% do total das lactoalbuminas. Trata-se de proteína hidrofóbica que se liga a íons metálicos como o cálcio e o zinco, sendo assim classificada como metaloproteína²⁵. É constituída por 123 resíduos de aminoácidos apresentando-se na forma esférica, altamente compacta e sua estrutura globular possui 4 ligações dissulfeto. Possui massa molecular próxima a 14,0 KDa e ponto isoelétrico de 4,8 representando cerca de 20% do total de proteínas no soro de leite bovino. As proteínas que contêm Ca^{+2} são completamente estáveis ao calor, sendo a mais estável das proteínas do soro. A α -Lactoalbumina desnaturando-se em pH 6,7 e 65°C, com 80 a 90% de reversibilidade sob resfriamento²⁵. A figura 2 mostra a estrutura tridimensional nativa da α -Lactoalbumina.

A propriedade mais característica da α -LA é a forte tendência de formar associações em pH abaixo de seu pI. No pH natural do leite, pH 6,6 e acima, a α -LA apresenta-se como monômero com sua estrutura terciária. A sequência de aminoácidos da α -LA bovina e da lisozima da clara de ovo mostra grande similaridade²⁶. A homologia de sequência das duas proteínas é de 32%. A construção de modelo²⁷ e a simulação computacional²⁸, ambas confirmaram a similaridade dessas duas proteínas.



Fonte: Sgarbieri (2004)⁴¹

Figura 2: Estrutura tri-dimensional nativa da α -Lactoalbumina, mostrando os terminais N e C, o átomo de cálcio ligado (esfera) e as quatro pontes dissulfeto (I,II,III e IV)

A α -LA, como a maioria dos componentes do leite, é sintetizada nas glândulas mamárias. Nas condições fisiológicas, a α -LA funciona como proteína “modificadora” da especificidade da enzima D-glicose 4- β -galactosil transferase que é responsável pela síntese da lactose nas glândulas mamárias

Na ausência de α -LA, a enzima galactosil transferase transfere galactose, preferencialmente, da UDP-galactose para a N-acetilglicosaminil-glicoproteína, mesmo na presença de glicose, uma vez que a transferência da galactose para a glicose é lenta. Na presença de α -LA, a transferência de galactose para a glicose é rápida, tornando a glicose o substrato preferencial da enzima²⁹.

Matsumoto et al.³⁰ demonstraram que a α -LA desempenha função importante na prevenção de úlcera gástrica causada por etanol absoluto e por estresse, em ratos. Foi sugerido que esta função seja exercida por meio do estímulo à produção de prostaglandinas. Eugene e Berliner³¹ citam uma série de trabalhos realizados por autores suecos, mostrando que a α -LA humana, em condições específicas de pH e na presença de ácido oléico polimeriza-se e adquire a propriedade de apoptose (capaz de destruir células cancerígenas de várias linhagens e células jovens não diferenciadas), porém não tendo demonstrado ação sobre células adultas normais.

3.1.3 Imunoglobulinas (Ig's)

As imunoglobulinas constituem uma família de proteínas de elevado peso molecular e que apresentam diversas propriedades físicas, químicas e imunológicas. As imunoglobulinas ocorrem no soro sanguíneo e em outros fluidos corporais. Aparecem em elevada concentração no colostro e servem para transmitir imunidade passiva aos recém-nascidos. Todas as imunoglobulinas são monômeros ou polímeros formados de unidades de quatro cadeias polipeptídicas: duas cadeias curtas (~20 kDa) e duas cadeias longas (50-70 kDa), ligadas por pontes dissulfeto. Três classes de imunoglobulinas (Ig) foram identificadas em bovinos: IgG (G1 e G2), IgA e IgM. Todas são encontradas no soro sanguíneo e no leite bovino³².

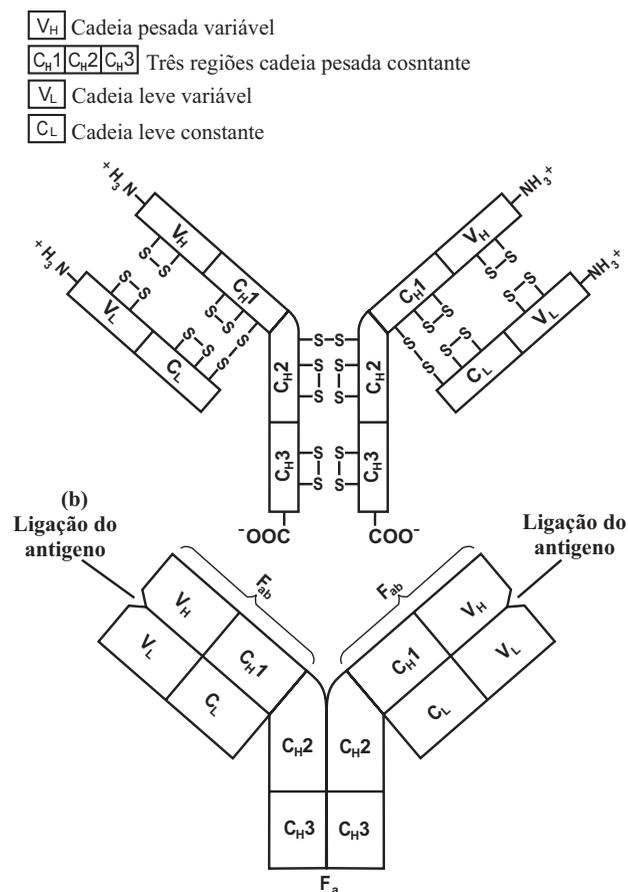
A IgG1 e IgG2 no soro sanguíneo de bovino ocorrem em igual proporção e em concentração relativamente elevada, comparada com a do leite. A IgG1 é a que se apresenta em maior concentração no leite e parece ser transportada seletivamente do soro sanguíneo para o leite. No colostro, a concentração de IgG1 é bastante alta, representando a metade das proteínas totais do soro. A IgG2 está presente tanto no colostro como no leite em concentração mais baixa. As IgG existem essencialmente como monômeros, contendo na molécula 2-4% de carboidrato e PM ~160 kDa³².

A IgA apresenta propriedades antigênicas distintas das Igs G e M. A IgA do leite difere da do soro sanguíneo por aparecer ligada a glicoproteína e é reconhecida como fator secretor livre (FSL). O FSL aparece também como glicoproteína

do leite e esta foi identificada como glicoproteína-a. A IgA apresenta-se como dímero com PM ~400 kDa, contendo 8-9% de carboidrato³².

A IgM é uma macroglobulina que ocorre no leite em concentrações relativamente baixas, sendo provavelmente homóloga à IgM de outras espécies. Aparece na forma de pentâmero (PM ~900 kDa), contendo 12% de carboidrato³².

Um desenho esquemático de uma imunoglobulina é apresentado na figura 3.



Fonte: Sgarbieri (2004)⁴¹

Figura 3: Desenho esquemático das imunoglobulinas mostrando as 4 cadeias polipeptídicas em paralelo (duas leves e duas pesadas), destacando ainda: ligações dissulfeto (3 intercadeias e 12 intracadeias), regiões variáveis (V) e regiões constantes C; sítio de ligação de antígenos

3.1.4 Albumina do Soro Bovino (ASB)

Foi cristalizada a partir do leite bovino apresentando composição e propriedades físicas semelhantes às da albumina do soro de sangue bovino³³. A albumina do soro bovino (ASB) tem conformação nativa globular, solúvel em água, formada por uma cadeia polipeptídica com cerca de 580 resíduos de aminoácidos e apresenta peso molecular 66,2 kDa e pI (ponto isoelétrico) a pH 4,7-4,8. Em pH abaixo do ponto isoelétrico apresenta alterações em suas propriedades físicas e químicas, como aumento da viscosidade intrínseca, volume molecular e redução acentuada de solubilidade em 3 M de KCl. Sua estrutura

secundária é formada de 54% α -hélice, 40% de estruturas β (folhas e giros β) com 3 domínios específicos para ligação de íons metálicos, de lipídios e de nucleotídeos, respectivamente. A quantidade de estrutura em α -hélice varia com o pH, de 54 a 44 e 35% nos pHs 3,6, 3,9 e 2,7, respectivamente³⁴.

A ASB passa para o leite através do sistema vascular, por rota semelhante à das imunoglobulinas, e está presente em elevada concentração em leite de vaca com mastite. Em condições normais, o leite de vaca contém 0,7 a 1,3% de BSA, o que representa de 15 a 20% do conteúdo protéico do soro de leite. Duas características estruturais importantes da ASB são: a presença de um grupo sulfidrilo livre do peptídeo N-terminal e a existência de 17 pontes dissulfeto na molécula. O rompimento dessas ligações resulta em modificações de algumas de suas propriedades físicas e estruturais, em especial do perfil de sedimentação na ultracentrifugação, das propriedades imunológicas e do perfil de solubilidade em função do pH. No estado nativo apresenta elevada solubilidade na faixa de pH 1,5- 8,0; quando as ligações dissulfeto são rompidas aparece região de solubilidade mínima entre pH 3,5-5,0 que se amplia com o aumento do número de ligações rompidas³⁵.

3.1.5 Lactoferrina (Lf)

É uma glicoproteína que liga fortemente 2 mols de ferro por mol de proteína (86,1 kDa), apresentando-se com cor salmão-vermelha, quando em solução. Sem o ferro ligado a lactoferrina em solução, apresenta-se incolor. É uma proteína básica com ponto isoelétrico em torno de pH 8. Seu comportamento eletroforético é heterogêneo tanto em géis alcalinos como ácidos, provavelmente em razão de sua forte tendência de formar produtos de interação. Com o ferro ligado, apresenta resistência ao calor e à ação química ou enzimática. A completa sequência de aminoácidos da LfH revelou duas metades homólogas e 691 resíduos de aminoácidos, cada com único sítio de ligação de Fe^{+3} e único sítio de glicosilação^{36,37}.

A massa molecular calculada, 82.400 ± 400 Da, inclui a parte carboidrática da molécula. A remoção da porção glicídica resulta em perda da capacidade de ligação de Fe^{+3} . A comparação da sequência das duas metades da molécula mostra 125 resíduos de aminoácidos idênticos.

A Lf é uma proteína multifuncional que tem sido muito

estudada durante as últimas décadas³⁸. É conhecida por sua capacidade de vincular-se a ferro, que finalmente levou a descoberta de sua atividade antibacteriana. Além disso, a lactoferrina demonstrou ter atividade antiviral, antifúngica e antiparasitária³⁹.

A lactoferrina pertencente à família da transferrina, sendo encontrada em diversas secreções como: leite, lágrima, saliva, e pode ser encontrada predominantemente nos produtos de excreção das glândulas exócrinas dos aparelhos digestivo, respiratório e reprodutivo. Recentemente muitas outras funções foram atribuídas a Lf, tais como: imunomodulação, regulação do crescimento celular, função antitumoral, atividade antioxidante e antiinflamatório⁴⁰.

A lactoferrina é importante proteína presente no soro de leite, tendo sido isolada do componente-3 dos peptídeos derivados da caseína (fragmentos de β -caseína). É uma proteína com massa molecular da ordem de 76 kDa. Polimeriza-se rapidamente na presença de íons Ca^{++} e parece ter ação antimicrobiana, protegendo superfícies secretórias⁴¹.

A lactoferrina presente no soro de leite tem similaridade com a lactoferrina encontrada na corrente sanguínea, onde funciona como transportadora de ferro. Especula-se que seu papel no leite também envolva a ligação de ferro, fazendo-o de modo tão eficiente que torna o ferro inacessível para o crescimento de bactérias (incluindo algumas patogênicas) e fungos dados a facilidade que apresenta de ligar-se a esse metal³⁸.

Outras atividades da Lf também têm sido mencionadas na literatura: transporte de ferro; atividade contra vírus; ligação de toxinas; promoção do crescimento de certas células animais; ligação de plaquetas; efeitos imunomoduladores; e cicatrização de feridas; ação antiinflamatória e também que a lactoferrina humana e bovina são efetivas contra vírus do herpes simples do tipo A capacidade bactericida da Lf é atribuída pela interação direta da molécula ou parte dela com as superfícies bacterianas. Esta interação pode ser observada tanto em bactérias Gram positivas como em Gram negativas. Estudos com bactérias Gram positivas mostram que tanto a Lf humana com a bovina, são capazes de unirem-se as superfícies bacterianas, graças a sua carga positiva³⁸.

A tabela 2 mostra um resumo das principais atividades biológicas dos componentes presentes no soro de leite.

Tabela 2: Principais atividades biológicas dos componentes do soro de leite

Proteína	Função Biológica	Referência
β - Lactoglobulina	Transporte de retinol; efeito protetor na destruição térmica da vitamina C	Hambraeus ⁴³ Daí-Dong et al. ²³
α -Lacotalbumina	Prevenção da úlcera gástrica; efeito apoptótico	Matsumoto et al. ³⁰ Eugene e Berlinger ³¹
Albumina de Soro bovino	Atividade Anti-carcinogênica	De Witt ⁴⁴
Imunoglobulinas	Transmitir imunidade passiva aos recém-nascidos; propriedades anti-microbianas e anti-virais	Hurley ³² Bounous et al. ⁴⁵
Lactoferrina	Ação Antimicrobiana, ação anti-inflamatória, ação contra vírus da Herpes tipo 1	Antunes ⁴² Sgarbieri ⁴¹

4 Conclusão

Graças aos avanços tecnológicos, o soro de leite, vem se tornando co-produto de grande valor agregado para a indústria leiteira, deixando de atuar como material poluente, para se transformar em ingrediente com excelentes características nutricionais.

Inúmeras pesquisas vêm demonstrando as propriedades nutricionais e funcionais das proteínas do soro, tais como: ação anti-carcinogênica, anti-microbiana e anti-inflamatória, transporte de retinol e transporte de imunidade passiva. Portanto, os estudos envolvendo o aproveitamento e a aplicação das proteínas do soro têm sido realizados e a cada dia são descobertas mais atividades biológicas para estas proteínas, que a pouco tempo eram descartadas.

Referências

- Viotto HW, Roig SM. Efeito de pré tratamento no fluxo de permeado durante ultrafiltração de soro de queijo. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia*. 1994;28(1):47-55.
- Bullerman LB, Berry EC. Use of cheese whey for vitamin B12 production. *Applied Microbiology*. 1966;14:353-5.
- Siso GMI. The buof cheese food: a review. *Bioresource Technology*. 1996;57:1-11.
- Santos JPV, Ferreira CLLF. Alternativas para o aproveitamento de soro de queijo nos pequenos e médios laticínios. Instituto de Laticínios Candido Tostes. 2001;321:44-50.
- Richards NSPS. Emprego racional do soro láctico. *Revista Indústria de Laticínios*. 1997;2(9):67-9.
- Smithers GW. Whey and whey proteins: from “gutter to gold”. *International Dairy Journal*. 2008;18:695-704.
- Madureira AR, Pereira CI, Gomes AMP, Pintado ME, Malcata, FX. Bovine whey proteins: overview on the main biological properties. *Food Research International*. 2007;40:1197-211.
- Pintado ME, Macedo AC, Malcata FX. Technology, chemistry and microbiology of whey cheese. *Food Science and Technology International*. 2001;7:105-6.
- Alais C. *Science du lait*. Paris: SEPAIC; 1984.
- Sawyer L. β -Lactoglobulina. In: Fox PF, McSweeney PLH. *Advanced dairy chemistry: proteins*. New York: Kluwer Academic; 2003.
- Brownlow S, Moraes Cabral JH, Couper R, Flower DR, Yewdall SJ, Polikarpov I, et al. Bovine β -lactoglobulin at 1.8 Å resolution—still an enigmatic lipocalin. *Structure*. 1997;5:481-95.
- Lange DC, Kothari R, Patel R, Patel SC. Retinol and retinoic acid bind to a surface cleft in bovine β -lactoglobulin: a method of binding site determination using fluorescence resonance energy transfer. *Biophysical Chem*. 1998;74:45-51.
- Morr CV, Foegeding EA. Composition and functionality of commercial whey and milk protein concentrates and isolates: a status report. *Food Technology*. 1990;44:100-12.
- Taulier N, Chalikian T. Characterization of pH-induced transitions of β -LG: ultrasonic, densitometric, and spectroscopy studies. *J. Mol. Biol*. 2001;14:873-89.
- Chatterton DEW, Smithers G, Roupas P, Brodtkorb A. Bioactivity of β -lactoglobulin and α -lactalbumin: technological implications for processing. *International Dairy Journal*. 2006;16:1229-40.
- Iametti S, De Gregori B, Vecchio G, Bonomi F. Modifications occur at different structural levels during the heat denaturation of β -lactoglobulin. *Eur. J. Biochem*. 1996;237:106-12.
- Palazolo G, Rodriguez F, Farrugia B, Pico G, Delorenzi N. Heat treatment of β -lactoglobulin: structural changes studies by partitioning and fluorescence. *J. Agr. Food Chem*. 2000;48:3.817-22.
- Photchanchai S, Kitabatake N. Heating of β -lactoglobulin. A solution in a closed system at high temperatures. *J. Food Science*. 2001;66:647-52.
- Sawyer L, Kontopidis G. The core lipocalin, bovine β -lactoglobulin. *Biochim. Bioph. Acta*. 2000;482:136-48.
- Botelho M, Valente-Mesquita VL, Oliveira, KMG. Pressure denaturation of β -lactoglobulin. Different stabilities of isoforms A and B, and an investigation of the Tenford transition. *Eur. J. Biochem*. 2000;267:2235-41.
- Yang J, Dunker AK, Powers JR, Clark S, Swanson BG. Beta-lactoglobulin molten globule induced by high pressure. *J. Agr. Food Chem*. 2001;49:3236-43.
- Fugate RD, Song P. Spectroscopic characterization of β -lactoglobulin-retinol complex. *Biochem. Bioph. Acta*. 1980.625:28.
- Dai-Dong J.X, Novak G, Hardy J. Stabilization of vitamin C by β -lactoglobulin during heat treatment. *Science des Aliments*, 1990;10:393.
- Nagoka S, Futamura Y, Miwa K, Awano T, Yamauchi K, Kanamaru T. Identification of novel hypocholesterolemic peptides derived from bovine milk β -lactoglobulin. 2001;281:11-7
- Brew, K. A-Lactalbumina. In: Fox PF, McSweeney PLH. *Advanced dairy chemistry: proteins*. New York: Kluwer Academic; 2003
- Vanaman TC, Brew K, Hill RL. The disulfide bonds of bovine α -lactalbumin. *J. Biol. Chem*. 1970;245:4583-90.
- Browne WJ, North ACT, Phillips DC. A possible three-dimensional structure of bovine α -lactalbumin based on that of hen's egg-white lysozyme. *J. Mol. Biol*. 1969;42:65-86.
- Warne RK, Momany FA, Rumbell SV, Tuttle RW, Scheraga HA. Computation of structures of homologous proteins. α -lactalbumin from lysozyme. *Biochemistry*. 1974;13:768-78.
- Ebner KE, McKenzie LM. α -lactalbumin and galactosyl transferase in rat serum and their relationship to milk secretion. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 1972; 49(1):624-30.
- Matsumoto H, Shimokawa Y, Ishida Y, Toida T, Hayasawa H. New biological function of bovine α -lactalbumin: protective effect against ethanol and stress-induced gastric mucosa injury in rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem*. 2001; 65:1104-11.

31. Eugene A, Berliner LJ. α -lactalbumin: structure and function. *FEBS Letters*. 2000;473(3):269-74.
32. Hurley WL. Immunoglobulins in mammary secretions. In: Fox PF, McSweeney PLH. *Advanced dairy chemistry: proteins*. New York: Kluwer Academic; 2003.
33. Polis BD, Shmukler HW, Custer JH. Isolation of a crystalline albumin from milk. *J. Biol. Chem.* 1950;187:349-54.
34. Michaelideou A, Steijns J. Nutritional and technology aspects of minor bioactive components in milk and whey: growth factors, vitamins and nucleotides. *International Dairy Journal*. 2006;16:1421-6.
35. Haraguchi FK, Abreu WC, De Paula H. Proteínas do soro de leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. *Revista de Nutrição*, 2006;19(4):479-88.
36. Metz-Boutigne MH, Mazurier J, Jolles J, Spik G, Montreuil J, Jolles P. The present state of the human lactotransferrin sequence. Study and alignment of the cyanogen bromide fragments and characterization of N- and C-terminal domains. *Biochim. Biophys. Acta*, 1981;670:243-54.
37. Metz-Boutigne MH, Jolles J, Mazurier J, Schoentgen F, Legrand D, Spik G, et al. Human lactotransferrin: amino acid sequence and structural comparisons with other transferrins. *Eur. J. Biochem.* 1984;145:659-76.
38. Tomita M, Wakabayashi H, Yamauchi K, Teraguchi S, Hayasawa H. Bovine lactoferrin and lactoferricin derived from milk production and applications. *Biochem. Cell Biol.* 2002;80:109-12.
39. Loonerdal B. Lactoferrin. In: Fox PF, McSweeney PLH. *Advanced dairy chemistry: proteins*. New York: Kluwer Academic; 2003.
40. Maubois JL, Ollivier G. Milk protein fractionation, *Journal of the Society of Dairy Technology*, 1992;33(2):55-8.
41. Sgarbieri VC. Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite. *Revista de Nutrição*. 2004;17:397-409.
42. Antunes AJ. Funcionalidade de proteínas do soro de leite bovino. Barueri: Manole; 2003.
43. Hambraeus L. Nutritional aspects of milk proteins. London: *Advanced Dairy Chemistry, Proteins*, Elsevier, 1992.
44. De Witt JN. Nutritional and functional characteristics in whey proteins in food products. *Journal of Dairy Science*. 1998;81(3):297-608.
45. Bounous G, Baruchel S, Falutz J, Gold P. Whey proteins as a food supplement in HIV seropositive individuals. *Clinical and Investigate Medicine*, 1993;16:204-9.

