**Revisão** DOI: 10.14295/2238-6416.v70i4.384

# FATOR DE CRESCIMENTO TRANSFORMADOR BETA (TGF-β) EM LEITE: UMA REVISÃO

## Transforming growth factor beta (TGF-β) in milk: a review

*Fernanda Lopes da Silva[1], Michele da Silva Pinto[1], Antônio Fernandes de Carvalho[1], Ítalo Tuler Perrone[1]**

**RESUMO**

Colostro e leite bovino contêm fatores de crescimento tais como o fator de crescimento semelhante à insulina IGF-I, IGF-II, fator de crescimento transformador beta TGF-β1, TGF-β2, fator de crescimento epidérmico EGF, fator de crescimento de fibroblastos básico bFGF e fator de crescimento derivado de plaquetas PDGF. Nos últimos anos, o foco do interesse científico tem sido a identificação desses fatores dentro do leite bovino que pode ser relevante para a melhoria da saúde humana. Dessa forma, foram desenvolvidas diversas metodologias para a extração desses fatores de crescimento do leite a partir de leite, colostro ou soro de leite. As metodologias mais usadas são cromatografia de troca catiônica, microfiltração e ultrafiltração. A cromatografia de troca catiônica tem sido amplamente utilizada devido à natureza básica dos fatores de crescimento, enquanto a microfiltração tem sido utilizada para a concentração de alguns fatores de crescimento a partir de colostro, e a ultrafiltração foi bem sucedida apenas na separação de IGF-I a partir de IGF-II no soro de leite. Extratos de fator de crescimento a partir do leite, do colostro ou do soro de leite têm sido utilizados como preparações terapêuticas para cicatrização de feridas e no tratamento de doenças inflamatórias do intestino.

**Palavras-chave:** fatores de crescimento; separação; quantificação; técnicas de membrana; cromatografia de troca catiônica.

**ABSTRACT**

Bovine milk and colostrum contain growth factors such as insulin-like growth factor IGF-I, IGF-II, transforming growth factor TGF-β1, TGF-β2, epidermal growth

1 Universidade Federal de Viçosa (UFV), Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA), Av. Peter Henry Rolfs, s/n, Centro, 36570-000, Viçosa, MG, Brasil.E-mail: italoperrone@ig.com.br.

* Autor para correspondência.

***Recebido / Received: 24/03/2015***
***Aprovado / Approved: 12/02/2016***

factor EGF, basic fibroblast growth factor bFGF and platelet-derived growth factor PDGF. In recent years, intense scientific interest has been focused on the identification of factors within bovine milk that may be relevant to improving human health. Then a number of methodologies for the extraction of milk growth factors from milk, colostrum or whey have been developed. Cation-exchange chromatography has been widely used because of the basic nature of the growth factors. Also, microfiltration has been used for the concentration of some growth factors from colostrum, while ultrafiltration was successful only in separating IGF-I from IGF-II in whey. Growth factor extracts from milk, colostrum or whey have been used as therapeutic preparations for wound healing and in the treatment of inflammatory gut disorders.

**Keywords:** growthfactors; extraction; quantification; technicalmembrane; cation-exchangechromatography.

## INTRODUÇÃO

O leite é tema de estudo cientifico há muitos anos e pode ser classificado e definido quanto a sua função nutricional ao neonatal, quanto a sua complexa estrutura e composição química, quanto a sua aptidão ao processamento industrial e quanto aos atributos impostos pelos órgãos de normatização e fiscalização. Os benefícios do consumo de leite de vaca e seus derivados lácteos pelos humanos estão associados principalmente à quantidade e biodisponibilidade do cálcio, de aminoácidos e de ácidos graxos essenciais. Recentemente muitos estudos enfatizam a importância das proteínas e dos peptídeos bioativos presentes no leite, bem como mecanismos para a sua utilização na formulação de novos produtos lácteos. Dentre os peptídeos bioativos lácteos encontram-se os fatores de crescimento (SMITHERS, 2008; NAGPAL et al., 2012; CHEN et al., 2013; OLLIKAINEN; MUURONEN, 2013; TUNG et al., 2013).

Os fatores de crescimento presentes no leite têm atraído interesse da comunidade científica como potenciais ingredientes bioativos para a indústria de alimentos, podendo ser explorados na produção de alimentos funcionais para crianças ou para administração em terapias contra doenças intestinais (SMITHERS, 2008). O fator de crescimento transformador beta (TGF-β) é um dos fatores de crescimento presentes no leite e tem a função de estimular o crescimento de células, especialmente do tecido conectivo, participa na formação de ossos e cartilagens, no controle do sistema imune e na cicatrização de feridas, assim como no controle da inflamação intestinal (GAUTHIER et al., 2006).

Os TGF-βs compreendem uma família de polipeptídios que incluem os TGF-β1, TGF-β2 e TGF-β3, possuindo a função de regular o desenvolvimento do tecido mamário (VRIES et al., 2011). A forma predominante no leite é a TGF-β2 (85%), apresentando-se ligada a uma proteína e com dímeros com 224 aminoácidos e 25000 Da, após ativação ácida, sendo que quatro ligações dissulfeto estabilizam cada monômero e uma ligação dissulfeto estabiliza o dímero. TGF-β1 é o único outro membro da família do TGF-β encontrado no leite, mas ocorre em concentrações muito menores (GINJALA; PAKKANEN, 1998; MICHAELIDOU; STEIJNS, 2006; MONTONI et al., 2009). Todas as três isoformas apresentam mais que 97% de homologia na sequência de aminoácidos e exibem um elevado grau de atividade cruzada entre as espécies (MASSAQUE, 1990; MEAGER, 1991).

O objetivo do presente estudo foi realizar uma revisão de literatura sobre o isolamento, separação, quantificação e ativação

do TGF-β, um dos fatores de crescimento presente no leite com grande potencial para isolamento e desenvolvimento de novos produtos.

## REFERENCIAL TEÓRICO

### Leite, colostro e soro

O leite, produto de secreção das glândulas mamárias, é um fluido viscoso constituído de uma fase líquida e partículas em suspensão, formando uma emulsão natural, estável cineticamente. Possui elevado valor nutritivo, sendo o único alimento que satisfaz às necessidades nutricionais e metabólicas do recém-nascido de cada espécie (SGARBIERI, 1996).

O leite é um alimento complexo que contém água (87,30% m/m); carboidratos, basicamente lactose (4,9% m/m); gorduras (3,8% m/m); proteínas (3,3% m/m), principalmente caseína; minerais (0,7% m/m) e vitaminas. Existem vários fatores que afetam a composição do leite tais como: espécie, raça, indivíduo, idade da vaca, estágio de lactação, alimentação, estações do ano, estado de saúde da vaca, dentre outros (SGARBIERI, 1996).

O leite bovino é comercializado na forma líquida e quanto ao teor de gordura pode ser integral, semidesnatado ou desengordurado e quanto ao tratamento térmico empregado pode ser pasteurizado ou esterilizado comercialmente. Essas mesmas variedades são também comercializadas na forma de leite em pó (SGARBIERI, 1996).

O leite apresenta outros aspectos importantes, como o colostro, o primeiro e único alimento dos recém-nascidos de cada espécie; e o soro de leite, um coproduto obtido da fabricação de queijo (HENG, 1999).

O colostro, um líquido amarelado mais viscoso que o leite, é a primeira secreção das glândulas mamárias após o parto e tem composição muito diferente do leite, que varia muito nas primeiras 72 h após o parto (HENG, 1999). A Tabela 1 mostra a variação de composição do colostro bovino nas primeiras 72 h comparada à composição do leite já estabilizado. Observa-se que a composição do colostro bovino (3 h pós-parto) é bem diferente após 72 h e muito diferente do leite como é consumido. Gordura, proteína total, proteínas de soro e minerais diminuem com o passar do tempo, enquanto as caseínas e a lactose aumentam (GAUTHIER et al., 2006).

**Tabela 1** – Variação na composição percentual do colostro bovino nos tempos 3 horas e 72 horas após o parto e leite bovino estabilizado

| Componentes (%) | Colostro Tempo pós-parto | | Leite bovino |
|---|---|---|---|
| | 3 h | 72 h | |
| Gordura | 6,80 | 3,72 | 3,50 |
| Proteína total | 9,42 | 4,68 | 3,20 |
| Proteínas do soro | 8,50 | 1,60 | 0,50 |
| Caseínas | 0,92 | 3,18 | 2,73 |
| Lactose | 2,38 | 4,27 | 4,60 |
| Cinza | 1,02 | 0,74 | 0,70 |
| SólidosTotais | 19,62 | 13,41 | 12,00 |

**Fonte:** Heng, 1999.

O soro de leite representa a porção aquosa do leite que se separa em coágulo durante a fabricação de queijo ou da caseína, apresentando-se como um líquido opaco e de cor amarelo-esverdeada (GUIMARÃES et al., 2010). Os conhecimentos sobre os mecanismos de ação fisiológica das proteínas do soro de leite são ainda muito incompletos, particularmente pouco se conhece sobre as funções e os benefícios de inúmeros componentes menores (natureza protéica ou não protéica) presentes no soro e recuperados em maior ou menor proporção nos isolados protéicos (SGARBIERI, 2004).

O soro de leite é um subproduto líquido obtido da fabricação de queijo e apresenta várias proteínas que possuem alguns mecanismos de ação fisiológica no leite que são ainda incompletos.

No conjunto, esses componentes biotivos têm sido chamados de fatores de crescimento celular, incluindo neste grupo, além da lactoferrina, uma série de polipeptídeos, como os fatores de crescimento semelhantes à insulina I e II (IGF-I e IGF-II), fatores ácidos e básicos de estímulo ao crescimento de fibroblastos (aFGF, bFGF), fatores de crescimento transformador beta (TGF-β1 e TGF-β2), além de vários outros (OLLIKANEIN; RIIHIMAKI, 2012; SGARBIERI, 2004).

A recuperação dos fatores de crescimento no soro é difícil, pois envolve diversos fatores para seu isolamento e concentração em maiores teores. Dessa forma, o grande interesse em fatores de crescimento tem sido focado em colostro bovino por causa de seu alto teor de componentes bioativos. A concentração de fatores de crescimento no colostro pode ser de 100 a 1000 vezes maior do que a concentração normal em leite bovino (GAUTHIER et al., 2006), pois a concentração de fatores de crescimento diminui rapidamente após o parto, e depois de uma semana, a concentração é aproximadamente o nível encontrado nos leites regulares em laticínios, que é de cerca de 10 a 70 $ng \cdot ml^{-1}$ para o TGF-β2 (GAUTHIER et al., 2006).

Fatores de crescimento derivados do leite são hoje em dia cada vez mais usados em produtos para a saúde, tais como no tratamento de pele, distúrbios e doenças gastrointestinais. Estes fatores de crescimento podem ser extraídos a partir de leite, colostro ou soro e diferentes abordagens tecnológicas já foram desenvolvidas (GAUTHIER et al., 2006).

## Fator de crescimento transformador beta

O leite bovino é uma rica fonte de proteínas. Além dos grandes componentes, ou seja, proteínas do soro (principalmente α-lactoalbumina e β-lactoglobulina) e as caseínas, o leite contém também um grande número de pequenos componentes que têm vários tipos de atividades biológicas. Os fatores de crescimento mais abundantes no leite bovino e no colostro é o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-I), o fator de crescimento transformador beta (TGF-β2), alguns membros do fator de crescimento epidérmico (EGF) e da família dos fatores de crescimento fibroblasto básico (bFGF), como podemos observar pela Tabela 2, que resume os dados experimentais disponíveis sobre o conteúdo desses fatores de crescimento em colostro e leite (GAUTHIER et al., 2006).

Fator de crescimento transformador beta é o nome genérico para uma família de polipeptídeos com diversos tipos de funções biológicas. A família do TGF-β é composta pelo TGF-β1, TGF-β2 e TGF-β3, sendo que a isoforma TGF-β2 é a principal presente no leite bovino e a isoforma TGF-β3 não é encontrada no leite bovino. Os TGF-βs desempenham um papel importante na embriogênese, na reparação de tecidos, na formação de ossos e cartilagem e no controle do sistema de resposta imune. Eles são

conhecidos por estimular a proliferação de algumas células, especialmente em tecidos conjuntivos, enquanto agem como inibidores de outras células, tais como linfócitos e células epiteliais (POULIOT; GAUTHIER, 2006).

A molécula de TGF-β2 é um homodímero constituído por 68 resíduos de aminoácidos com uma massa molecular de 25 kDa, sendo que quatro pontes dissulfeto estabilizam cada monômero e uma ponte dissulfeto estabiliza o dímero. TGF-β1 é o único outro membro da família TGF-β encontrado no leite, mas ocorre em concentrações muito menores (MONTONI et al., 2009).

Fatores de crescimento transformador beta são secretados a partir de células como um latente complexo contendo TGF-β e seu propeptídeo, LAP (peptídeo latente associado). Na maioria das células, o LAP está ligado de forma covalente a uma proteína adicional, a proteína de ligação latente do TGF-β (LTBP) por ponte dissulfeto, formando um grande complexo latente.

**Extração dos fatores de crescimento**

O fracionamento dos fatores de crescimento a partir do leite ou colostro envolve as diferentes massas molares (MW) e os pontos isoelétrico (pI) dos fatores de crescimento em relação aos demais constituintes do leite, sendo esses fatores importantes a serem entendidos para que ocorra essa separação. A Figura 1 ilustra a heterogeneidade dos elementos constitutivos em termos de MW e pI utilizando dados publicados a partir de Gauthier et al., 2006. As MW médias dos fatores de crescimento situam-se entre 6400 g/mol$^{-1}$ (EGF) a 30000 g·mol$^{-1}$ (PDGF). No entanto, estes valores de MW não levam em conta a ocorrência de proteínas de ligação, tais como as proteínas de ligação latente ao TGF-β. Dessa forma, o uso de técnicas de exclusão de tamanho para separação desses fatores de crescimento se torna difícil.

Os valores de pI dos fatores de crescimento presentes no leite estão em um intervalo entre 6,5 (IGF-II) e 9,6 (bFGF e PDGF), exceto para EGF, que tem seu pI de 4,8. Estes valores de pI neutro-alcalino encontrados para os fatores de crescimento são uma das suas características mais importantes no que diz respeito a sua extração a partir do leite. Espera-se que os fatores de crescimento sejam separados a partir de proteínas do soro do leite, que possuem um pI em torno de 4,8-5,1,

**Tabela 2** – Variações na concentração dos fatores de crescimento reportados para colostro e leite bovino.

| Fatores de crescimento | Concentração (ng/ml) | |
|---|---|---|
| | Colostro | Leite |
| Fator de crescimento epidérmico (EGF) | 4-325 | 1-150 |
| Fator de crescimento semelhante à insulina I (IGF-I) | 100-2000 | 5-100 |
| Fator de crescimento semelhante à insulina II (IGF-II) | 150-600 | 5-100 |
| Fator de crescimento transformador beta 1 (TGF-β1) | 10-50 | < 5 |
| Fator de crescimento transformador beta 2 (TGF-β2) | 150-1150 | 10-70 |
| Fator de crescimento do fibroblasto (FGF) | NA* | < 1 |
| Fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) | NA* | NA |

*NA: presente, mas não há dados de concentração disponível.
**Fonte:** Gauthier et al., (2006).

o que favorece a separação desses fatores de crescimento a partir do soro (POULIOT; GAUTHIER, 2006).

Alguns métodos têm sido utilizados para realizar o fracionamento desses fatores de crescimento, entre eles a cromatografia de troca catiônica e técnicas de membrana, que envolvem a microfiltração (MF) e a ultrafiltração (UF) (POULIOT; GAUTHIER, 2006).

O uso de membranas possibilita a extração dos fatores de crescimento a partir do leite, colostro e soro, no entanto, é importante salientar que tanto o colostro quanto o leite devem ser submetidos a um tratamento térmico mínimo a fim de minimizar as interações proteína-lipídeo na superfície do glóbulo de gordura, de forma que essa extração seja facilitada (POULIOT; GAUTHIER, 2006).

A separação dos fatores de crescimento pode ser realizada em colostro desengordurado e descaseinado (o serocolostrum) ou de soro de leite por meio de cromatografia de troca catiônica ou pela combinação de microfiltração, ultrafiltração e diafiltração (POULIOT; GAUTHIER, 2006).

Francis et al. (1995) elaboraram o primeiro processo baseado no uso de cromatografia de troca catiônica para extrair fatores de crescimento a partir de soro de leite. Tipicamente, o soro é primeiro clarificado por MF, utilizando uma solução com poros de membrana com tamanhos de 0,1 ou 0,8 µm. O soro clarificado é então passado através de uma coluna de troca catiônica. O material adsorvido que consiste em fatores de crescimento, proteínas básicas e imunoglobulinas é eluído a um pH alcalino. O eluído é em seguida concentrado por ultrafiltração/ diafiltração e uma filtração estéril final é aplicada antes de congelar ou secar por atomização. Os chamados extratos dos fatores de crescimento de soro de leite (WGFE) contêm 5% de

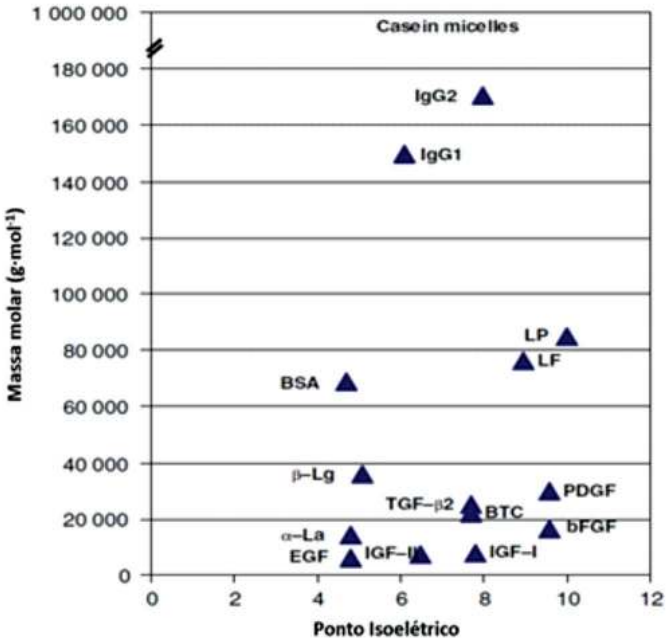



**Figura 1** – Ilustração esquemática da distribuição por massa molecular (MW) e ponto isoelétrico de proteínas e os fatores de crescimento presentes no leite (POULIOT; GAUTHIER, 2006)

proteínas do soro inicial, mas 90% de sua atividade mitogênica está presente. No caso do soro de leite, Francis et al. (1995) claramente demonstraram que as membranas de UF com 3-100 g/mol de massa molar de corte não conseguiam concentrar com sucesso a atividade mitogênica do soro de leite. Gauthier et al. (2006) propupuseram uma combinação de tratamentos de acidificação e calor para precipitar uma fração rica em TGF-β2 a partir do soro de leite. Este material precipitado foi ainda concentrado utilizando uma membrana de MF 0,1 μm e foi caracterizada por um teor predominante de α-lactoalbumina, 15% da proteína inicial e 70% do TGF-β2 inicial.

Recuperação direta de fatores de crescimento a partir de leite ou colostro por membranas de UF ou MF é difícil, pois micelas de caseína estão presentes. A principal abordagem utilizada para separação dos fatores de crescimento a partir de colostro tem sido remover as caseínas por tratamento ácido ou coalho. Esta abordagem ainda não foi aplicada para o leite, mas para a remoção de caseínas por meio de MF a partir de colostro diluído (ELFSTRAND et al., 2002; PIOT et al., 2004; POULIOT, 2008).

Teintenier-Cousin et al. (2009) separaram uma fração rica em TGF-β2 a partir de colostro coagulado, utilizando cromatografia de Azul Cibacron. Eles obtiveram uma fração com 70% de rendimento, que foi 26 vezes mais rica que o TGF-β2 presente no colostro, sendo que 80% desse TGF estava sob a sua forma latente.

Akbache et al. (2009) concentraram TGF-β2 a partir de leite bovino e soro usando MF e UF. Neste processo o soro de leite foi clarificado por MF e posteriormente foi concentrado com utilização da UF e diafiltração. Eles propuseram que a UF do soro de leite pode ser adequada para concentrar os fatores de crescimento elevando os teores de TGF-β2. Neste estudo o concentrado manteve sua bioatividade, indicado por ensaio de proliferação por linfócitos (AKBACHE et al., 2009).

**Ativação**

A ativação do TGF-β latente é bem conhecida *in vitro*. Métodos de ativação de formas latentes do TGF-β incluem a exposição a pH ácido ou básico, tratamento térmico e o uso de agentes desnaturantes, como 8 mol/L de ureia. A ativação por proteólise também é possível. A proteólise mediada por plasmina é o mecanismo mais conhecido (LYONS et al., 1990). A maioria do TGF-β está em sua forma latente e é necessário que a forma latente seja convertida para a forma ativa *in vivo* para exercer o seu efeito biológico (LYONS et al., 1990).

O leite pode ser submetido a diferentes tipos de tratamentos térmicos dependendo das normas de higiene dos produtos em que é utilizado. O efeito dos tratamentos térmicos nos fatores de crescimento no leite bovino ainda não foi estudado sistematicamente, embora muitas observações individuais tenham sido relatadas (GINJALA; PAKKANEN, 1998; OLLIKAINEN, 2011). Ozawaet et al. (2009) estudaram leite bovino comercial e observaram que o leite continha de 0,3-3,0 μg/L TGF-β2, sendo que cerca de metade dessa quantidade estava na forma ativa e propuseram que o motivo para a ativação foi a pasteurização.

As variações observadas em vários estudos não só em relação ao efeito da pasteurização, mas também sobre a distribuição do TGF-β entre o leite e o soro de leite, levantaram a hipótese de que esta molécula poderia interagir com as micelas de caseína durante a pasteurização do leite (OLLIKAINEN et al., 2012).

Sabe-se que o leite aquecido a temperaturas acima de 70 ºC desnatura as proteínas do soro de leite, modifica o equilíbrio de sais e induz a sua interação com as micelas de

caseína (KOUTINA; SKIBSTED, 2015). E tem sido demonstrado que a reatividade do grupo tiol livre da Cys-121 da β-lactoglobulina aumenta devido ao seu desdobramento, e que esta promove as interações intra e intermoleculares por meio de interações SH/SS (SAVA et al., 2005). Além disso, Ye et al. (2004) forneceram evidências de que ocorre interações entre a β-lactoglobulina, α-lactoalbumina e a membrana dos glóbulos de gordura do leite quando o leite é aquecido a temperaturas inferiores (60-65 ºC) do que aquelas necessárias para desnaturar a proteína do soro do leite. Interações induzidas pelo calor podem envolver o TGF-β, uma vez que esta molécula tem um caráter hidrofóbico forte, o que favorece a sua polimerização e a interação não específica com outras proteínas. TGF-β2 contém um grupo tiol livre na Cis-77 o que possibilita fazer interações com a β-lactoglobulina e também com a α-lactoalbumina, micelas de caseína e os componentes da membrana do glóbulo de gordura do leite. Portanto, é provável que o TGF-β2 é distribuído entre a superfície do glóbulo de gordura, as micelas de caseína e as proteínas do soro de leite, e que esta distribuição é fortemente dependente dos tratamentos térmicos dados ao leite (AKBACHE et al., 2011).

Ollikainen (2011) demonstrou que um leite aquecido a 65 ºC ou o leite cru apresenta concentração maior de TGF-β2 na fração das proteínas do soro, enquanto que ao aumentarmos essa temperatura para acima de 65 ºC essa maior concentração de TGF-β2 está presente na fração das caseínas. No entanto, quando aplicamos a temperatura de 135 ºC, a concentração presente de TGF-β2 reduz significativamente, mostrando que o TGF-β2

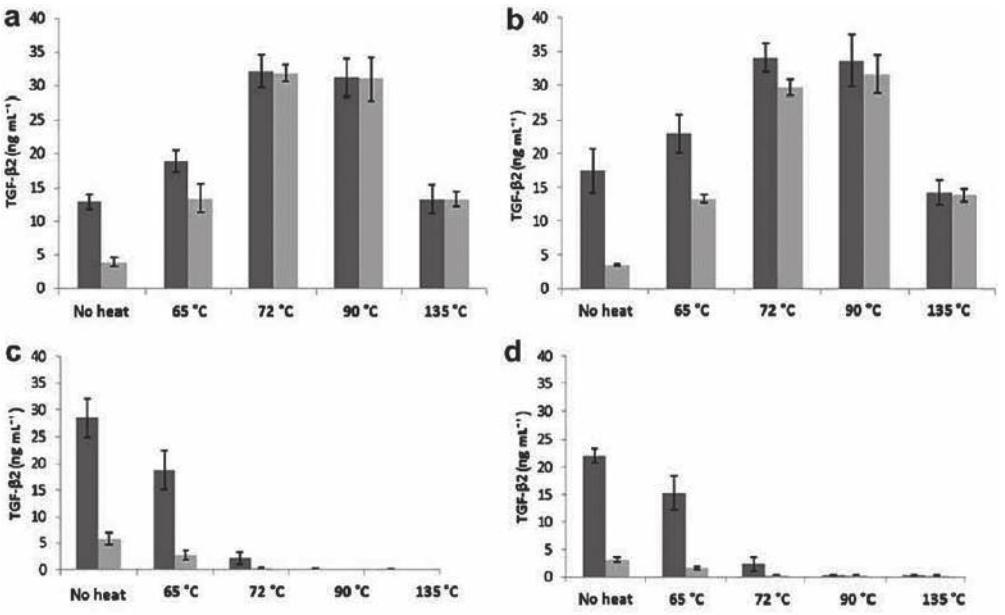



**Figura 2** – Distribuição da concentração total e ativada do TGF-β2 na fração de caseína ácida (a), fração de caseína ultracentrifugada (b), fração de soro ácido (c) e fração de soro ultracentrifugado (d) após tratamentos térmicos. Barras escuras mostram a concentração do TGF-β2 e barras mais claras a concentração de TGF-β2 ativado (OLLIKAINEN, 2011)

não é estável em temperaturas maiores, como podemos notar na Figura 2.

Na Figura 2 é possível observar a influência do tratamento térmico conjuntamente com o pH na ativação do TGF-β2. Quanto maior a temperatura aplicada maior é a quantidade de TGF-β2 ativada presente, sendo maior ainda quando o pH utilizado é ácido.

Nakamura et al. (2009) observaram que a forma latente de TGF-β administrada por via oral era ativada pelo ácido gástrico em ratos e sugeriram o mesmo poderia ocorrer no leite humano *in vivo*. Presume-se que ocorra a ativação da forma latente de TGF-β quando exposto ao baixo pH do estômago. Ozawa et al. (2009) concluíram que amostras de leite bovino comerciais que continham o TGF-β ativo em imunoensaios também mantinham sua atividade biológica, cuja função era fornecer proteção contra a inflamação em camundongos. No entanto, em alguns casos, os fatores de crescimento podem não resistir ao processamento tecnológico, como, por exemplo, em fórmulas infantis. Devido a isso, os recém-nascidos podem não obter todos os benefícios dessas fórmulas.

**Quantificação**

A quantificação desses fatores de crescimento presentes no leite envolve alguns métodos entre os quais, podemos citar: teste de ELISA (do inglês "Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay"), teste de RIA (Radioimunuoensaio) e os bioensaios, sendo que a concentração de TGF-β2 aparentemente varia de acordo com o método utilizado (PAKKANEN, 1998). O bioensaio fornece, geralmente, concentrações mais baixas do que os métodos imunoquímicos. Pakkanen (1998) concluiu que utilizando o teste ELISA é possível obter concentrações que são cerca de oito vezes mais elevadas do que aquelas medidas por bioensaios. Rogers et al. (1996) estudaram a concentração e estabilidade do TGF-β em leite e soro bovino pasteurizado usando ensaios biológicos e as concentrações relatadas foram de 4,3 e 0,8 ng/ml e 3,7 e 0,7 ng/ml, no leite e no soro de leite, respectivamente.

**Secagem por *spray dryer***

Após a obtenção de um concentrado proteico enriquecido com TGF-β é importante realizar a secagem, uma vez que, a obtenção de um produto desidratado mantém por um maior tempo suas características quando armazenado adequadamente e possui maior valor de mercado. Além disso, possibilita a obtenção de diversos produtos, como os concentrados proteicos em pó, produtos infantis desidratados, pois não altera a estrutura da caseína e ainda aumenta significativamente a resistência desta fração proteica ao processo de digestão em condições simuladas da digestão por crianças (DUPONT et al., 2010; SILVEIRA et al., 2013), medicamentos, entre outros. A obtenção desse produto em pó é possível com a utilização da secagem por *spray dryer*.

A secagem por *spray dryer* consiste em dispersar o produto a ser seco sobre uma for ma de pequenas gotículas em uma corrente de ar quente de maneira a obter um pó (SCHUCK et al., 2010). De acordo com Schuck (2009), as pequenas gotículas formadas e a grande área superficial das mesmas resultam em uma rápida evaporação da água a uma tempera-tura relativamente baixa, minimizando os danos térmicos ao produto. A atomização é uma etapa do processo de secagem por spray e suas funções básicas são proporcionar uma elevada taxa de evaporação e produzir partículas com formato, tamanho e densidade com magnitudes controladas e desejadas. Desta forma, pequenas partículas com tamanho uniforme são obtidas, tendo diâmetros variando entre 20 μm e 150 μm (SKANDERBY et al., 2009;

SCHUCK DOLIVET; JEANTET, 2012). Além da atomização, o processo de secagem pode envolver o processo de fluidização, que consiste na dispersão de lecitina sobre o produto seco, melhorando a qualidade do produto ao nível da aglomeração, da solubilidade, da dispersibilidade e da molhabilidade (SKANDERBY et al., 2009; CARIC, 2009).

### Produtos lácteos enriquecidos com TGF beta

Várias aplicações relacionadas à saúde a partir do consumo desses fatores de crescimento do leite têm sido propostas, mas existe um número limitado de produtos comerciais até agora, muitos ainda se encontram em fase experimental (POULIOT; GAUTHIER, 2006).

Um dos principais extratos de fatores de crescimento do leite documentados é uma fração de troca catiônica desenvolvido por Francis et al. (1995) e uma caseína ácida rica em TGF-β2 que foi constituído em ingrediente ativo em um veículo oral numa dieta produzida pela Nestlé, CT3211 nomeado Modulens. Esse extrato demonstrou ser um tratamento oral eficaz em crianças com doença de Crohn ativa (POULIOT; GAUTHIER, 2006).

Outro estudo realizado por Ziegler (2010) utilizou um produto comercial de concentrado proteico de soro de leite bovino (WPC) enriquecido com TGF-β e lactoferrina produzido pela Hilmar Cheese Company (Califórnia, USA) e evidenciou que houve uma melhora significativa no estado nutricional comprovada pelo desenvolvimento de peso e de medidas antropométricas de pacientes que tinham leucemia mieloide aguda ao passarem pelo tratamento com quimioterápicos, quando comparado com o grupo placebo.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Uma melhor compreensão das propriedades físico-químicas e das interações que envolvem fatores de crescimento e outros componentes do leite irá ajudar no desenvolvimento de novas estratégias para a extração desses componentes a partir do leite, soro ou colostro.

A obtenção de fatores de crescimento mais concentrados, devido o uso da tecnologia de membranas, mostra o potencial dos derivados lácteos para o isolamento desses fatores de crescimento e para desenvolvimento de produtos, uma vez que essas moléculas bioativas possuem ampla aplicação.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a FAPEMIG pelo apoio financeiro ao projeto CVZ – APQ-00602-13 e ao CNPq pelas bolsas concedidas aos autores.

## REFERÊNCIAS

AKBACHE, A. et al. Use of membrane processing to concentrate TGF-β2 and IGF-I from bovine milk and whey. **Journal of Membrane Science**, v. 326, n. 2, p. 435-440, 2009.

AKBACHE, A. et al. Effect of heating on the distribution of transforming growth factor-β2 in bovine milk. **Food Research International**, v. 44, n. 1, p. 28-32, 2011.

CARIC, M. et al. Technology of evaporators, membrane processing and dryers. In: TAMINE, A.Y. **Dairy powders and concentrated products.** 1ª ed. Ayr: Wiley-Blackwell, p. 99-148, 2009.

CHEN, T. T.; JHENG, C. L.; SHYU, F. C. Antimicrobial potential for the combination

of bovine lactoferrin of its hydrolysate with lactoferrin-resistant probiotics against foodborne pathogens. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 3, p. 1436-1446, 2013.

DUPONT, D. et al. Heat treatment of milk during power manufacture increases casein resistance to simulated infant digestion. **Food Digestion**, v. 1, n. 3, p. 28-39, 2010.

ELFSTRAND, L. et al. Immunoglobulins, growth factors and growth hormone in bovine colostrum and the effect of processing. **International Dairy Journal**, v. 12, n. 11, p. 879-887, 2002.

FRANCIS, G. L. et al. Extraction from cheese whey by cation-exchange chromatography of factors that stimulate the growth of mammalian cells. **Journal of Dairy Science**, v. 78, n. 6, p. 1209-1218, 1995.

GAUTHIER, S. F.; POULIOT, Y.; MAUBOIS, J. L. Review: Growth factors from bovine milk and colostrum: composition, extraction and biological activities. **Le Lait**, v. 86, p. 99-125, 2006.

GINJALA, V.; PAKKANEN, R. Determination of transforming growth factor-β1 (TGF-β1) and insulin-like growth factor 1 (IGF-1) in bovine colostrum samples. **Journal of Immunoassay**, v. 19, n. 2-3, p. 195-207, 1998.

GUIMARÃES, P. M. R.; TEIXEIRA, J. A.; DOMINGUES, L. Fermentation of lactose to bio-ethanol by yeasts as part of integrated solutions for the valorisation of cheese whey. **Biotechnology Advances**, v. 28. n. 3, p. 375-384, 2010.

HENG, G. B. Chemical composition of bovine colostrum. **Food for Health in the Pacific Rim.** Trumball (Conn): Food and Nutrition Press, 1999, 405 p.

KOUTINA, G.; SKIBSTED, L. H. Calcium and phosphorus equilibria during acidification of skim milk at elevated temperature. **International Dairy Journal**, v. 45, p. 1-7, 2015.

LYONS, R.; PURCHIO, A.; MOSES, H. Mechanism of activation of latent recombinant transforming growth factor β1 by plasmin. **Journal of Cell Biology**, v. 110, n. 4, p. 1361-1367, 1990.

MASSAQUE, J. The transforming growth factor-β family. **Annual Review of Cell Biology**, v. 6, p. 597-641, 1990.

MEAGER, A. Assays for transforming growth factor beta. **Journal of Immunological Methods**, v. 14, p. 1-14, 1991.

MICHAELIDOU, A.; STEIJNS, J. Nutritional and technological aspects of minor bioactive components in milk and whey: Growth factors, vitamins and nucleotides. **International Dairy Journal**, v. 16, n. 11, p. 1421-1426, 2006.

MONTONI, A. et al. Bovine colostrum as substrate for the preparation of growth factor-enriched protein extracts: Identifying the optimal collection period during lactation. **Dairy Science & Technology**, v. 89, n. 5, p. 511-518, 2009.

NAGPAL, R. et al. Milk, Milk Products and Disease Free Health: An Updated Overview. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 52, n. 1, p. 321-333, 2012.

NAKAMURA, Y. et al. The latent form of transforming growth factor-beta administered orally is activated by gastric acid in mice.

**Journal of Nutrition**, v. 139, n. 8, p. 1463-1468, 2009.

OLLIKAINEN, P.; MUURONEN, K. Determination of insulin-like growth factor-1 and bovine insulin in raw milk and its casein and whey fractions after microfiltration and ultrafiltration. **International Dairy Journal**, v. 28, n. 2, p. 83-87, 2013.

OLLIKAINEN, P.; MUURONEN, K.; TIKANMAKI, R. Effect of pasteurization on the distribution of bovine milk transforming growth factor-β2 in casein and whey fractions during micro- and ultrafiltration processes. **International Dairy Journal**, v. 26, n. 2, p.141-146, 2012.

OLLIKAINEN, P.; RIIHIMAKI, A. M. Effects of heat-treatment on insulin-like growth factor-1 in bovine milk. **International Dairy Journal**, v. 23, n. 2, p. 73-78, 2012.

OLLIKAINEN, P. Activation of transforming growth factor-β2 in bovine milk during indirect heat treatments. **International Dairy Journal**, v. 21, n. 12, p. 921-925, 2011.

OZAWA, T. et al. Transforming growth factor-beta activity in commercially available pasteurized cow milk provides protection against inflammation in mice. **Journal of Nutrition**, v. 139, n. 1, p. 69-75, 2009.

PAKKANEN, R. Determination of transforming growth factor-β2 (TGF-β2) in bovine colostrum samples. **Journal of Immunoassay**, v. 19, n. 1, p. 23-37, 1998.

PIOT, M. et al. Preparation of serocolostrum by membrane filtration. **Lait**, v. 84, n. 4, p. 333-341, 2004.

POULIOT, Y. Membrane processes in dairy technology – from a simple idea to worldwide panacea. **International Dairy Journal**, v. 18, n. 7, p. 735-740, 2008.

POULIOT, Y.; GAUTHIER, S. Milk growth factors as health products: some technological aspects. **International Dairy Journal**, v. 16, n. 11, p. 1415-1420, 2006.

ROGERS, M. L.; GODDARD, S. Transforming growth factor β in bovine milk: concentration, stability and molecular mass forms. **Journal of Endocrinology**, v. 151, n. 1, p. 77-86, 1996.

SAVA, N. et al. The kinetics of heat-induced structural changes of β-lactoglobulin. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 5, p. 1646-1653, 2005.

SCHUCK, P.; DOLIVET, A.; JEANTET, R. **Analytical methods for food and dairy powders.** Chichester: Wiley-Blackwell, 2012. 248 p.

SCHUCK, P; JEANTET, P.; CARVALHO, A. F. **Lactose Crystallization and drying of whey.** Viçosa, MG: UFV, 2010. Curso ministrado na disciplina TAL 795 Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados.

SCHUCK, P. Understanding the factors affecting spray-dried dairy powder properties and behavior. In: CORREDIG, M. **Dairy-derived ingredients.** 1ª ed. Boca Raton: CRC, 2009. Cap. 2, p. 24-50.

SGARBIERI, V. C. Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 4, p. 397-409, 2004.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos proteicos: propriedades-degradações-modificações.** São Paulo: Varela, 517, 1996.

SKANDERBY, M. et al. Dried Milk Products In: TAMIME, A. Y. **Dairy powders and concentrated products.** 1ª ed. Chichester: Wiley-Blackwell, 2009. Cap. 5, p. 99-148.

SILVEIRA, A. C. et al. Secagem por spray: uma revisão. **Revista do Instituto Laticínios Cândido Tostes**, v. 68, n. 391, p. 51-58, 2013.

SMITHERS, G. W. Whey and whey proteins – From "gutter-to-gold". **International Dairy Journal**, v. 18, n. 7, p. 695-704, 2008.

TEINTENIER-COUSIN, C. et al. Preparation from bovine colostrum of a fraction rich in latent transforming growth factor-β2 and cleared of most allergenic proteins by one-step cibacron blue chromatography. **International Dairy Journal**, v. 19, n. 5, p. 286-294, 2009.

TUNG, Y. T. et al. Bovine lactoferrin inhibits lung cancer growth through suppression of both inflammation and expression of vascular endothelial growth factor. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 4, p. 2095-2106, 2013.

VRIES, L. D. et al. Effects of transforming growth factor-β on mammary remodeling during the dry period of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 12, p. 6036-6046, 2011.

YE, A. et al. Interactions of whey proteins with milk fat globule membrane proteins during heat treatment of whole milk. **Le Lait**, v. 84, n. 3, p. 269-283, 2004.

ZIEGLER, F. L. F. **Avaliação do efeito da suplementação com proteínas lácteas sobre pacientes com leucemia mieloide aguda (LMA), na mucosite induzida pro quimioterápicos e em células leucêmicas.** 2010. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.