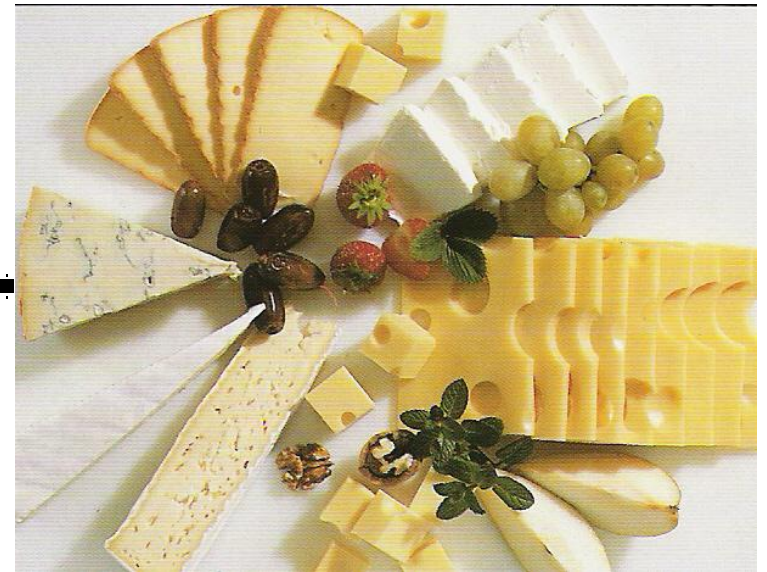


# Queijo como alimento funcional

---

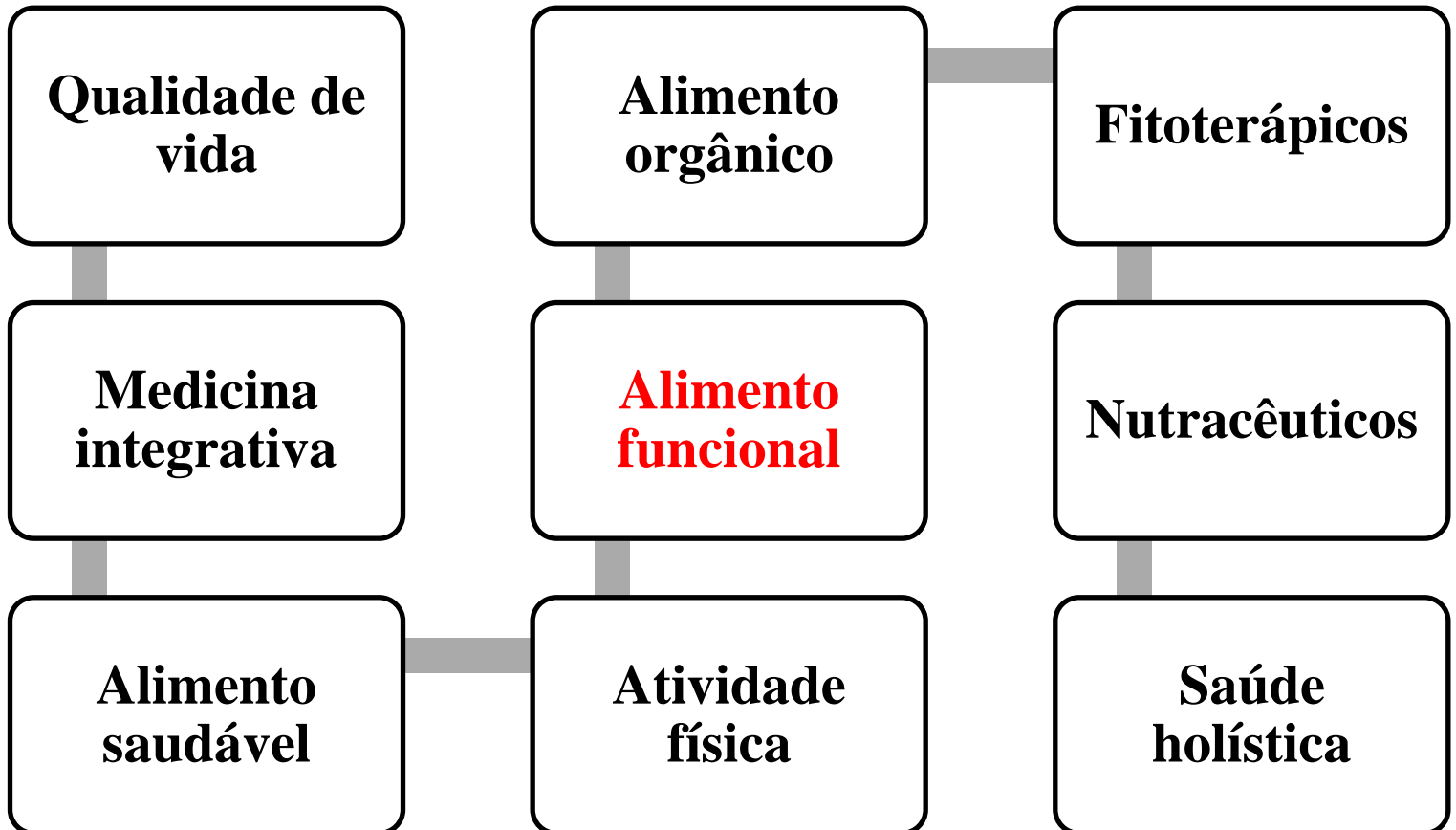


Profa. Dra. Ana Lúcia B. Penna  
UNESP – São José do Rio Preto

---

# Tendências

---



# Alimentos

---

- ✦ Década 90 - ganharam mais uma função:
- ✦ Fonte de nutrientes essenciais
- ✦ Proteger o organismo,
- ✦ Benefícios fisiológicos adicionais para a saúde (redução do risco de doenças, fortalecimento do sistema imunológico e desaceleração do envelhecimento).

# Alimentos funcionais

---

**Faça o alimento ser seu remédio**

Hipócrates (460-322 a.C.)

- **Recentemente** – temos evidências que a dieta tem um papel importante na modulação de importantes funções fisiológicas no corpo.

# Alimentos funcionais

Portaria 398, 30/04/1999 - ANVISA

---

\* **alimento ou ingrediente** que, além das funções nutricionais básicas, quando consumido na **dieta usual**, produz efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo **sem supervisão médica**.

# Alegações

---

- ✦ **Propriedade Funcional:** é aquela relativa ao papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo humano.
- ✦ **Propriedade de Saúde:** é aquela que afirma, sugere ou implica a existência de relação entre o alimento ou ingrediente com doença ou condição relacionada à saúde.

# Alimentos - alegação funcional

---

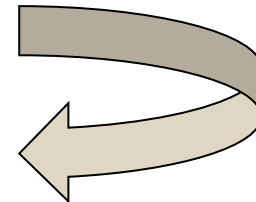
- ✦ **Ômega 3** - auxilia na manutenção de níveis saudáveis de triglicerídeos, desde que associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis.
- ✦ **Carotenóides - Licopeno, Luteína e Zeaxantina** - têm ação antioxidante que protege as células contra os radicais livres. Seu consumo deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis.
- ✦ **Psillium ou psyllium, Quitosana, Beta glucana, Fitoesteróis, Proteína de soja** - auxiliam na redução da absorção de colesterol.

# Alimentos - alegação funcional

---

- ✦ **Manitol / Xilitol / Sorbitol** - não produz ácidos que danificam os dentes. O consumo do produto não substitui hábitos adequados de higiene bucal e de alimentação”.
- ✦ **Fibras alimentares, Dextrina resistente, Lactulose, Goma guar parcialmente hidrolisada, Polidextrose** - auxiliam o funcionamento do intestino.
- ✦ **Inulina** - contribui para o equilíbrio da flora intestinal.

Prebióticos





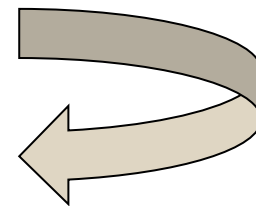
# Alimentos - alegação funcional

---

✦ *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei shirota*, *Lactobacillus casei variedade rhamnosus*, *Lactobacillus casei variedade defensis*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactococcus lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium animalis* (incluindo a subespécie *B. lactis*), *Bifidobacterium longum*, *Enterococcus faecium* - contribui para o equilíbrio da flora intestinal.



Probióticos



# Prebiótico

## **ENRIQUECIDO**

**Contém ingredientes adicionados (fibras, inulina, gomas, etc.)**

**Contém ingrediente não digerível que estimula as bactérias probióticas**

# Probiótico

## **BIOATIVO**

**Contém micro-organismos vivos bactéria acidolática**

**Contém micro-organismos que promovem benefícios saudáveis**

# Probióticos

“Micro-organismos que quando administrados em quantidades adequadas, conferem efeitos específicos e benéficos no consumidor”

(FAO/WHO, 2002)

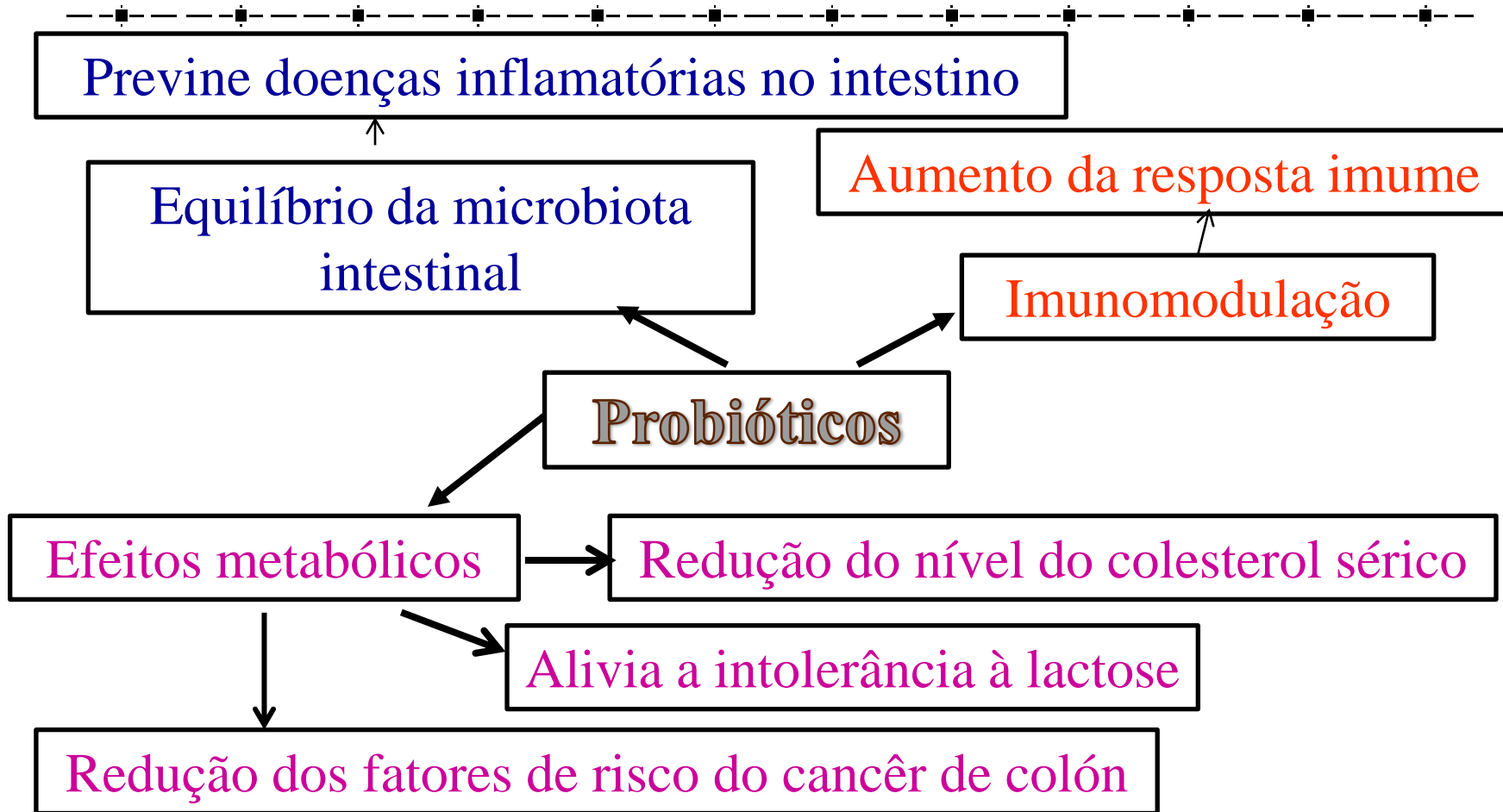
Recomendação de ingestão:  $10^8$  a  $10^9$

UFC/porção diária

(Brasil, 2008)

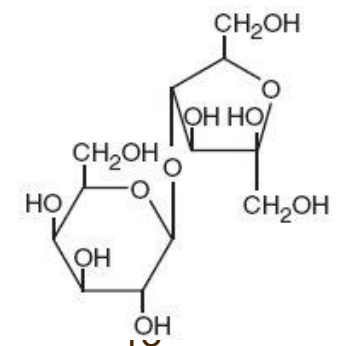
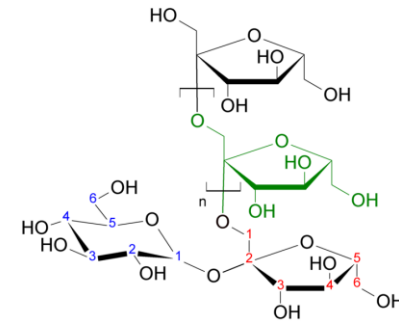


# Efeitos terapêuticos



# Prebióticos

- ✦ 1995 - Ingredientes alimentícios não digeríveis que afetam benéficamente a saúde do hospedeiro pela estimulação seletiva do crescimento e/ou atividade de um ou um limitado número de bactérias no cólon
- ✦ 2004 - Ingredientes seletivamente fermentados que permitem mudanças específicas, na composição e/ou na atividade da microbiota intestinal, que conferem benefícios ao bem estar e saúde do hospedeiro



# Prebióticos

---

- ✦ Fontes: Oligossacarídeos não digeríveis
- ✦ Extraídos de plantas (inulina da chicória)
- ✦ Hidrólise enzimática (oligossacarídeos a partir da inulina)
- ✦ Por síntese (por trans-glicosilação) de mono ou di-sacarídeos, como a sacarose (frutooligossacarídeos – FOS) ou lactose (oligossacarídios trans-galactosilados ou galactossacarídios)

# Efeitos tecnológicos

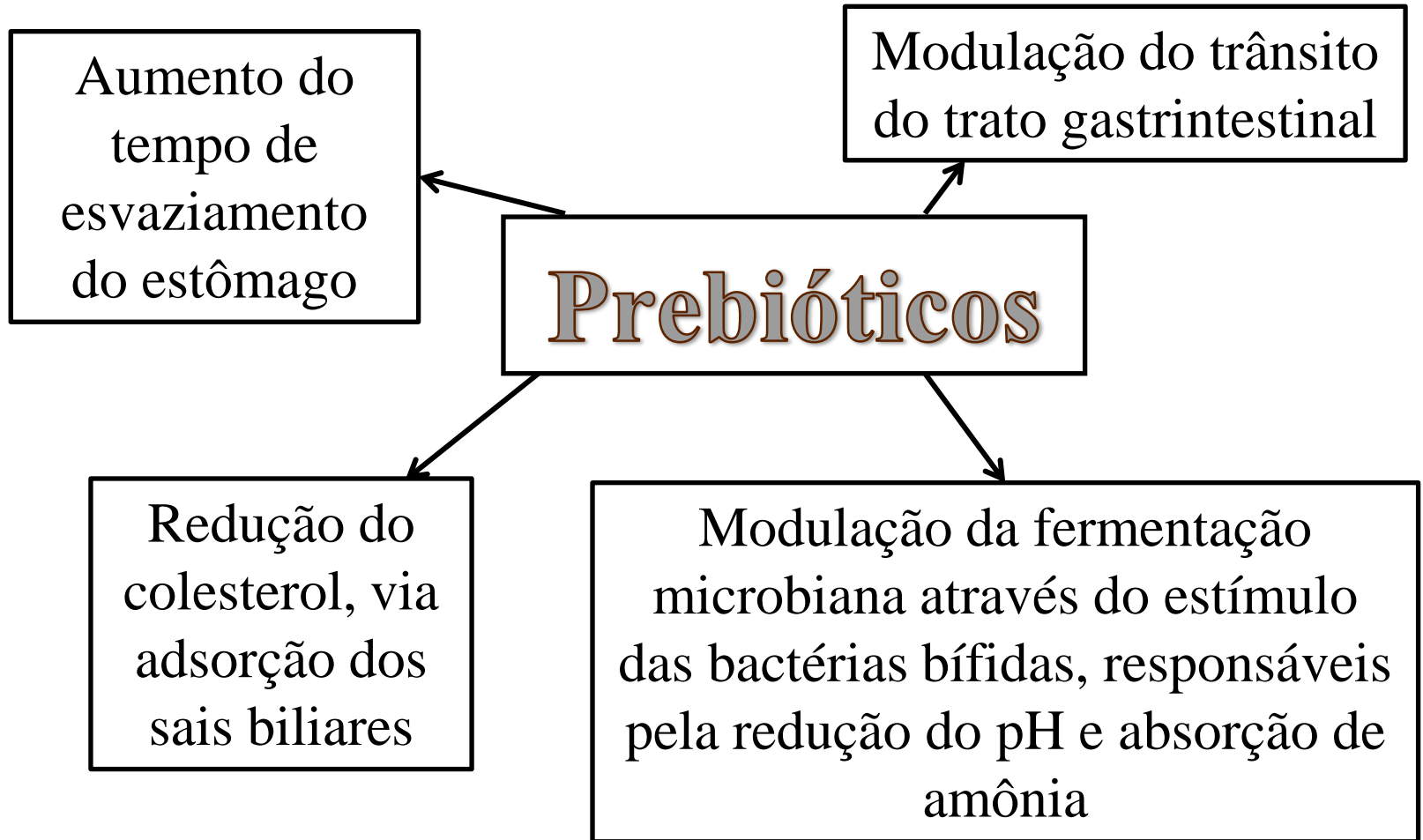
---

- ✦ Usados como substitutos de gordura
- ✦ Melhoram as características sensoriais, tais como gosto e maciez na boca
- ✦ Melhoram a composição nutricional – fonte de fibras



# Efeitos terapêuticos

---





# Valor nutricional dos Queijos

---

- ✦ Ricos em proteínas, carboidratos, lipídios, vitaminas A e D e minerais (cálcio, fósforo, magnésio)
- ✦ Estimula o fluxo salivar - propriedades de redução de cáries e desmineralização
- ✦ Ca - minimiza a perda óssea, reduzindo os riscos de osteoporose
- ✦ CLA – estimula o emagrecimento



# Queijos são funcionais ?

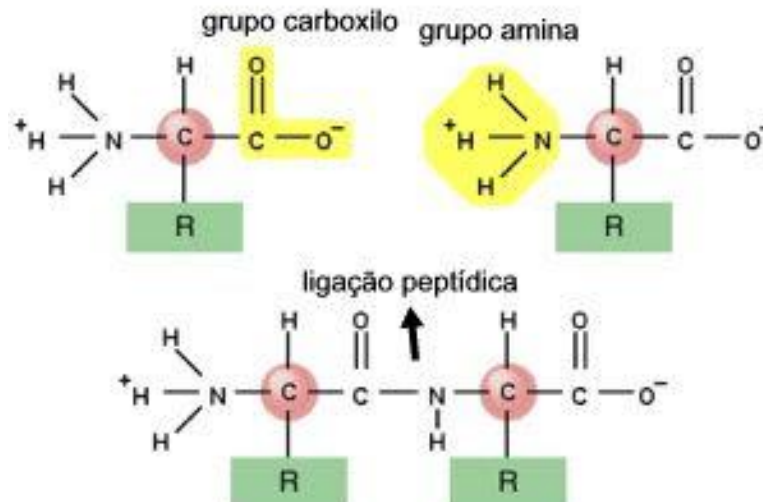
---

- ✦ Adição de prebióticos e/ou probióticos
- ✦ **Presença de peptídeos bioativos**
- ✦ Reduz os riscos de hipertensão e doenças cardíacas por reduzir o colesterol total, o colesterol LDL e os níveis sanguíneos de homocisteína



# Peptídeos bioativos ?

- ✦ biomoléculas formadas por ligações peptídicas de 2 ou + amininoácidos (AA)
- ✦ normalmente são inativos dentro da sequência da molécula.



# Bioatividade - funcionalidade

---

- ✦ Componentes alimentares que podem afetar processos ou substratos biológicos;
- ✦ Impacto positivo nas funções corporais, condições do organismo e sobre a saúde em geral;
- ✦ Atividade similar a uma droga/hormônio;
- ✦ **Modulam a função fisiológica** (indução de respostas fisiológicas);
- ✦ **Fontes** – proteínas do leite

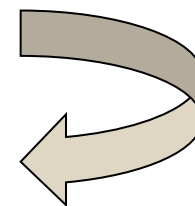
# Como peptídeos são formados ?

---

**Hidrólise Enzimática**

**Fermentação  
Microbiana**

**Bactérias probióticas**



**Fabricação dos queijos**

# Hidrólise enzimática

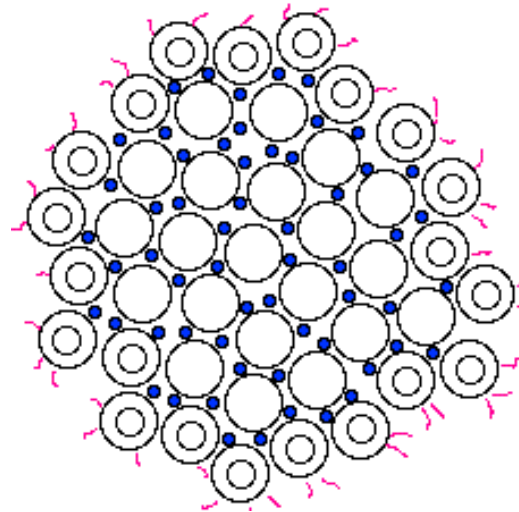
---

- ✦ Enzimas próprias do leite: plasmina e lipases. Plasmina – especificidade por  $\beta$ -caseína. Lipase é inativada pela pasteurização.
- ✦ Coalho ou substitutos: quimosina, pepsina e proteinases microbianas – formação de peptídeos.
- ✦ Bactérias da cultura lática (LAB) e suas enzimas.
- ✦ Enzimas de culturas secundárias ou selvagens (NSLAB).
- ✦ Bactérias contaminantes.

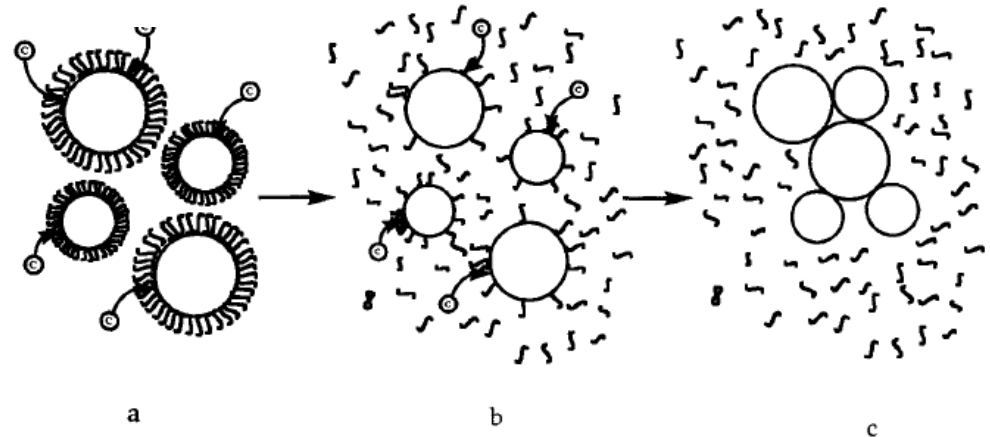
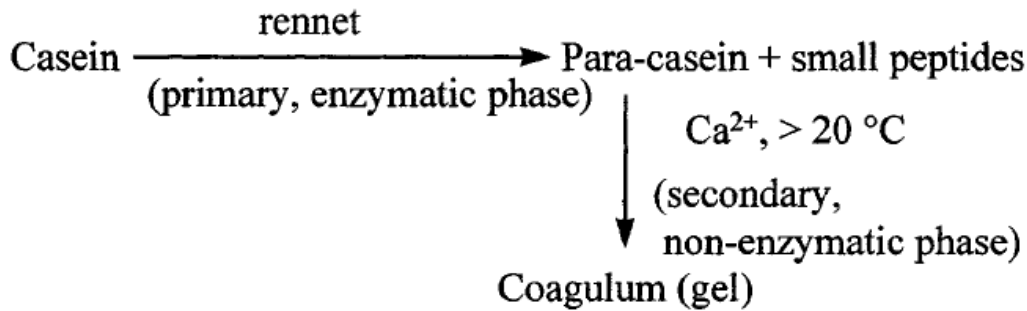
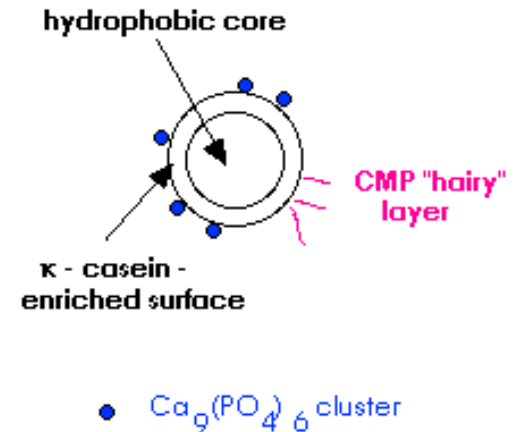


# Ação do coagulante na caseína

Casein Micelle



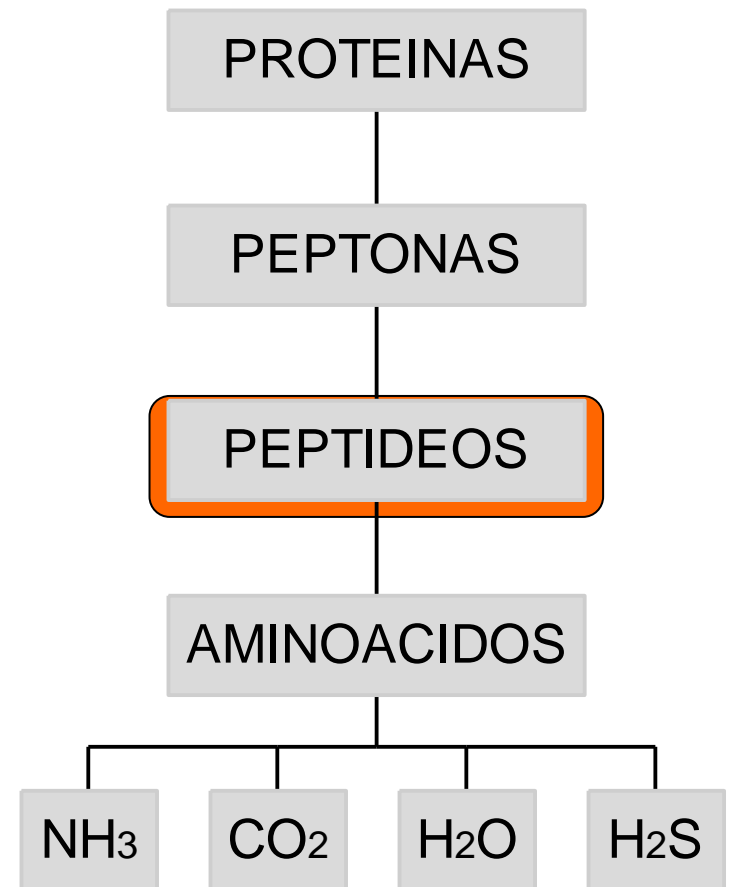
Casein Submicelle



# Proteólise



- ✦ desenvolvimento do sabor (AA e peptídeos e catabolismo dos AA)
- ✦ liberação de compostos sápidos durante a mastigação
- ✦ Aumento do pH ( $\text{NH}_3$ )
- ✦ alteração na textura (quebra da rede proteica).





# Culturas - LAB

---

- ✦ Culturas: *Lactococcus* e *Leuconostoc* (M) e *Lactobacillus* e *Streptococcus* (T) - controlam o crescimento dos contaminantes e patogênicos.
- ✦ Requerem aminoácidos (AA) para o crescimento - sistema proteolítico: proteinases e peptidases - liberados após a lise celular - formação de pequenos peptídeos e AA livres
- ✦ Maturação - parmesão e suíço → inativação do coagulante; a proteólise é intensa - cultura termofílica e plasmina.

# Culturas secundárias

---

- ✦ *Propionibacterium*: produzem propionato, acetato, CO<sub>2</sub> e prolina → queijos suíços. Fraca atividade proteolítica.
- ✦ *Brevibacterium linens*: compõem a microflora da superfície → atividade das peptidases. Ativam o catabolismo dos AA, influenciando o sabor.

# Culturas secundárias

---

- ✦ *P. roquefort* e *caseicollum*: proteólise intensa na superfície (proteínases e peptidases intra e extracelulares).
- ✦ Catabolismo dos AA: importante para os queijos, principalmente mofados. Principais produtos: aminas,  $\text{NH}_3$ , ácidos, álcoois, outros AA e compostos sulfurados.
- ✦ Importante: pH, sabor e aspectos nutricionais e toxicológicos.

# NS LAB

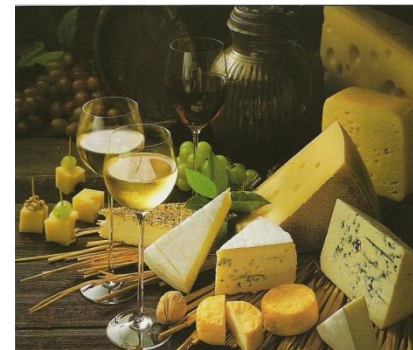
---

- ✦ Compostas por *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Micrococcus*, *Lactobacillus* e *Enterococcus*.
- ✦ Sistema proteolítico: proteinases e peptidases extra e intracelulares.
- ✦ Sabor: produzem acetato e diacetil.
- ✦ Peptídeos hidrolisados de  $\beta$ -caseína: f(133-138) e f(58-76)
- ✦ Origem: leite cru e contaminação ambiental

# Maturação

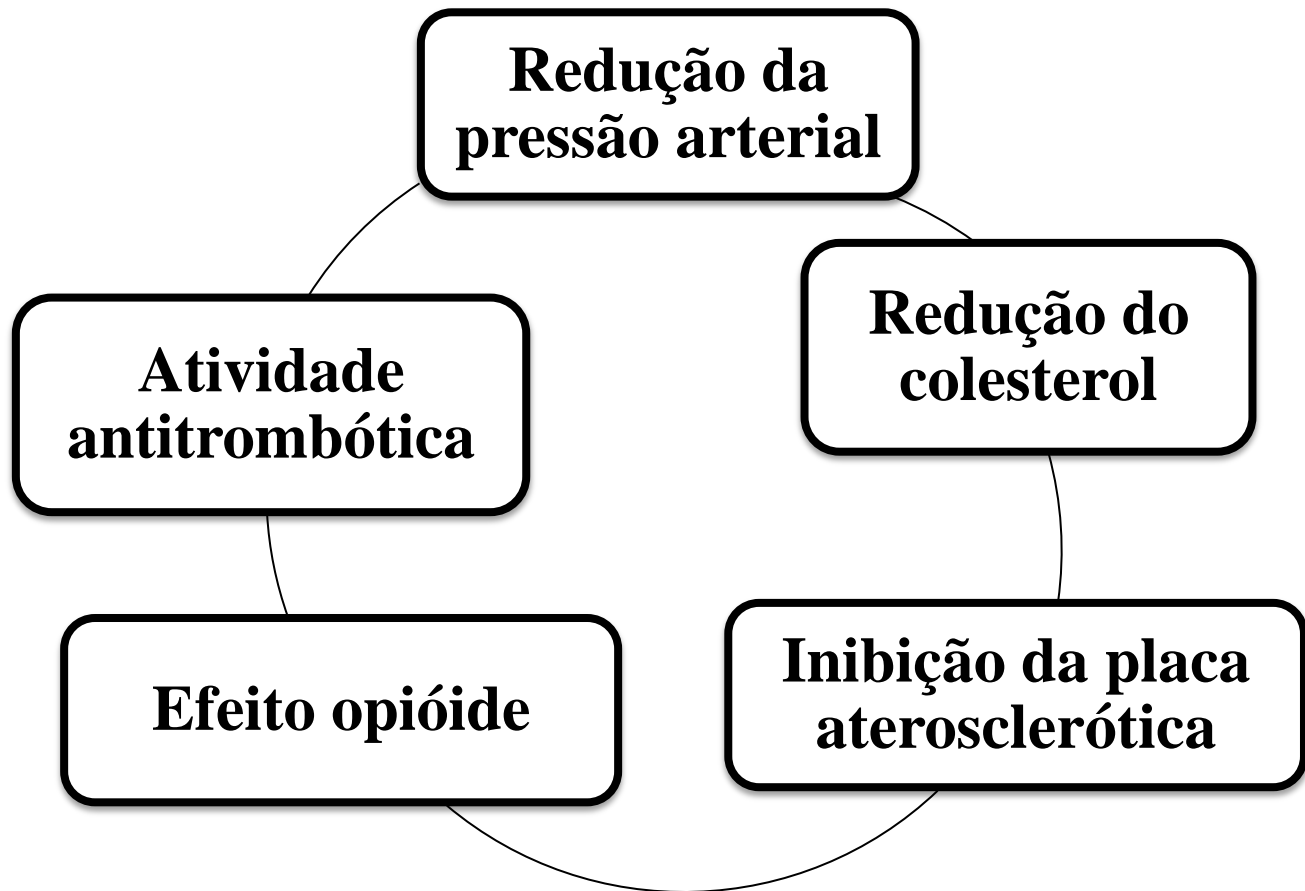
---

- ✦ Desenvolvimento das características individuais de cada variedade de queijo
- ✦ Reações químicas e bioquímicas envolvendo a conversão da lactose, da proteína, da gordura e em alguns queijos do citrato
- ✦ Período: 3 semanas a 2 anos
- ✦ Há pouco crescimento bacteriano
- ✦ É essencialmente enzimático.



# Efeitos terapêuticos dos queijos

---



# Bioactive components of ovine and caprine cheese whey<sup>☆</sup>

Blanca Hernández-Ledesma, Mercedes Ramos, José Ángel Gómez-Ruiz\*

*Institute of Food Science Research (CIAL, CSIC-UAM), Nicolás Cabrera 9, Campus de la Universidad Autónoma de Madrid, 28049 Madrid, Spain*

Proteínas do soro - Exibem atividade biológica que influem na digestão, resposta metabólica para absorção de nutrientes, crescimento e desenvolvimento de órgãos específicos e resistência à doenças

- ✦ Têm efeito de ganho de massa muscular e regulação do peso corporal por promover sinais de saciedade
- ✦ Hidrólise das proteínas do soro – Peptídeos bioativos – propriedades anti-hipertensiva, antimicrobiana, opióide, antioxidante, imunomodulatória e ligante de minerais

<b>Proteína</b>	<b>Função biológica</b>
$\beta$ -Lactoglobulina	Carreador de retinol, ácidos graxos e triglicerídeos, Transferência de imunidade passiva, Atividade imunomodulatória e Anti-carcinogênica
$\alpha$ -Lactalbumina	Síntese de lactose, Tratamento de doenças crônicas induzidas por stress, Atividade anti-carcinogênica
Serum albumina	Síntese de lipídeos, Atividade antioxidante e Anti-carcinogênica
Lactoferrina	Atividade antimicrobiana, Antifúngica, Anti-proliferativa e Antiviral, Atividade imunomodulatória, Anti-trombótica
Caseinomacropéptido	Atividade anti-cariogênica, Atividade imunomodulatória, Atividade prebiótica e Anti-trombótica
Imunoglobulinas	Atividade imunomodulatória, Crescimento e desenvolvimento
Lactoperoxidase	Atividade antimicrobiana e Antiviral, Atividade imunomodulatória



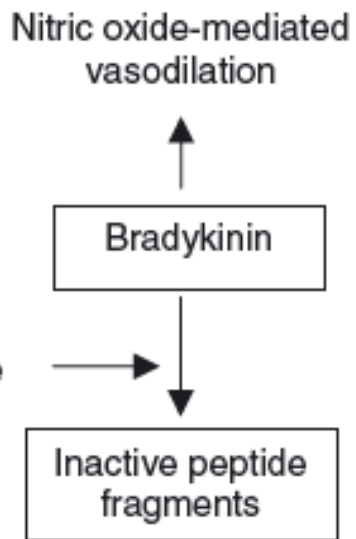
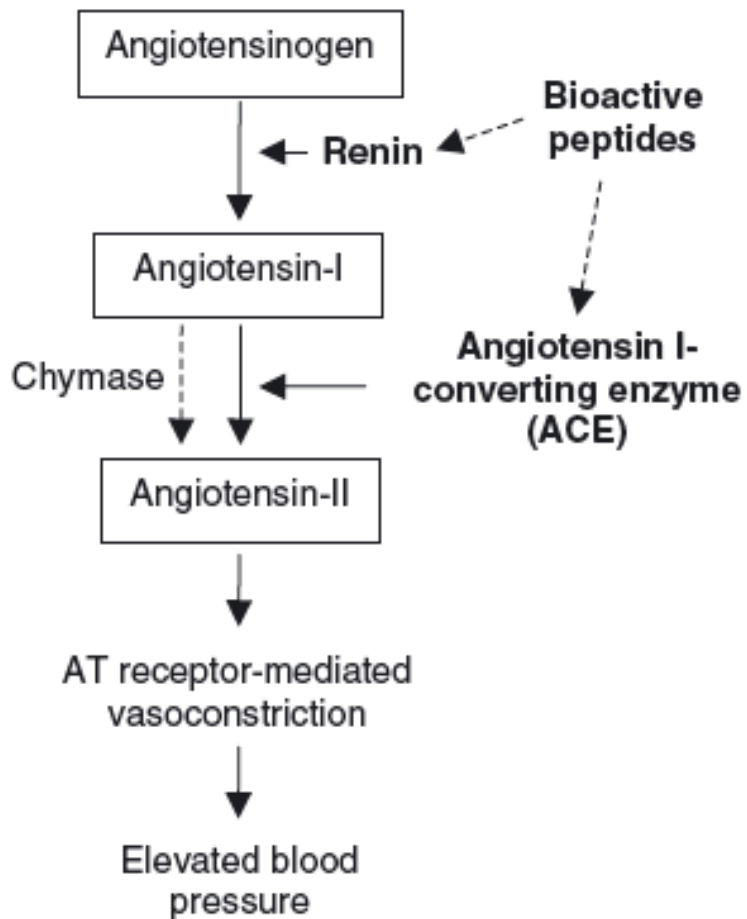
# Peptídeos bioativos da proteína do soro

Peptídeo	Atividade biológica
$\beta$ -Lg f(58–61)	Inibição de ACE (3,5 $\mu$ M), Anti-hipertensiva
$\beta$ -Lg f(103–105)	Inibição de ACE (82,4 $\mu$ M), Anti-hipertensiva
$\beta$ -Lg f(142–148)	Inibição de ACE
$\beta$ -Lg f(1–8)	Inibição de ACE
CMP f(112–116)	Anti-trombótica
CMP f(163–171)	Anti-trombótica
CMP f(165–171)	Anti-trombótica
CMP f(106–111)	Inibição de ACE
CMP f(106–112)	Inibição de ACE
Lactoferrina f(14–42)	Anti-bacteriana
$\alpha$ -La (104–108)	Inibição de ACE (733 $\mu$ M), Anti-hipertensiva

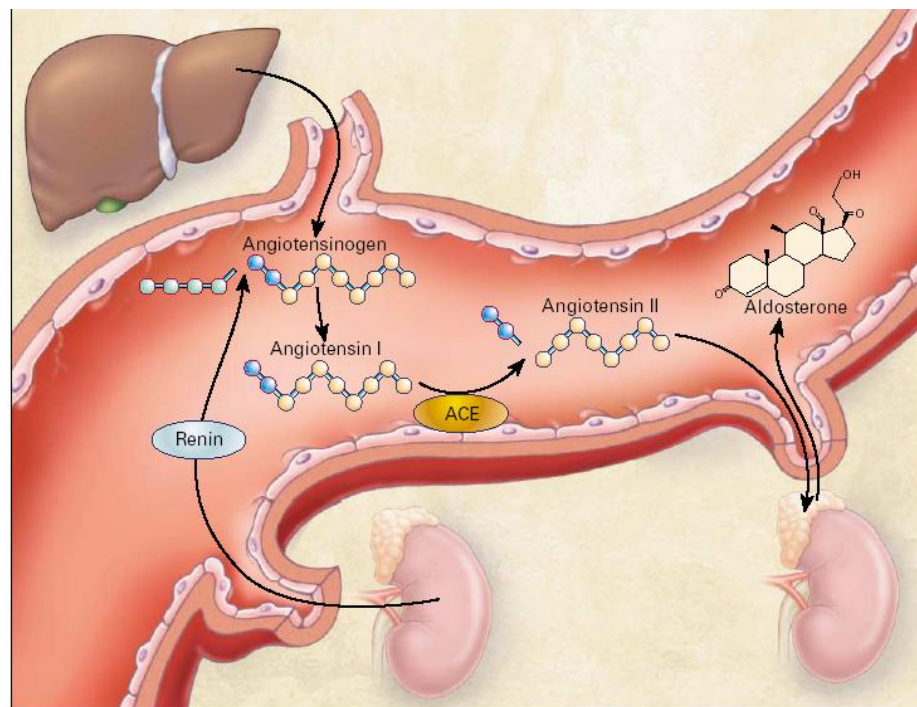
# Sistema renina - angiotensina - aldosterona (SRAA)

---

- ✦ Conjunto de peptídeos, enzimas e receptores produzidos por diferentes órgãos envolvidos no controle do volume de líquido extracelular e na pressão arterial
- ✦ Finalidade – Manter a estabilidade hemodinâmica



# Inibição da ACE



# Angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of water-soluble extracts of Asiago d'allevo cheese

Laura Lignitto<sup>a</sup>, Valeria Cavatorta<sup>b</sup>, Stefania Balzan<sup>c</sup>, Gianfranco Gabai<sup>d</sup>, Gianni Galaverna<sup>b</sup>, Enrico Novelli<sup>c</sup>, Stefano Sforza<sup>b</sup>, Severino Segato<sup>a,\*</sup>

- 
- ✦ Queijos com 6 meses de maturação apresentaram mais alta atividade inibitória da ACE do que os mais maturados
  - ✦ Frações contendo peptídeos <3 kDa tiveram maior contribuição na inibição da ACE do que frações <10 kDa
  - ✦ Peptídeos derivados da  $\alpha$ s1 e  $\beta$ -caseína apresentaram atividade imunomodulatória e antimicrobiana
  - ✦ Simulação da digestão gastrointestinal não afetou a atividade inibitória

# Food Protein-Derived Bioactive Peptides: Production, Processing, and Potential Health Benefits

Chibuike C. Udenigwe and Rotimi E. Aluko

---

Concentração inibitória dos peptídeos para reduzir a atividade da ACE em 50%:

✦  $\alpha$ s1-caseína f(25-27) – 2  $\mu$ M

✦  $\beta$ -caseína f(74-76) – 5  $\mu$ M

✦  $\beta$ -caseína f(84-86) – 9  $\mu$ M

✦ Resíduos de AA hidrofóbicos (Pro, Trp, Phe e Tyr) no C-terminal e AA alifáticos (Leu, Ile e Val) no N terminal são peptídeos mais potentes

# Inibição da ACE

---

## Occurrence of the Angiotensin-Converting Enzyme–Inhibiting Tripeptides Val-Pro-Pro and Ile-Pro-Pro in Different Cheese Varieties of Swiss Origin

U. Bütikofer, J. Meyer, R. Sieber, B. Walther, and D. Wechsler<sup>1</sup>

Agroscope Liebefeld-Posieux Research Station ALP, Schwarzenburgstrasse 161, 3003 Bern, Switzerland

José Ángel Gómez-Ruiz · Gonzalo Taborda ·  
Lourdes Amigo · Isidra Recio · Mercedes Ramos

## Identification of ACE-inhibitory peptides in different Spanish cheeses by tandem mass spectrometry

Acute effect of whey peptides upon blood pressure of hypertensive rats, and relationship with their angiotensin-converting enzyme inhibitory activity

Tânia Tavares<sup>1</sup>, María-Ángeles Sevilla<sup>2</sup>, María-José Montero<sup>2</sup>, Rosalía Carrón<sup>2</sup>  
and F. Xavier Malcata<sup>1,3</sup>

# Efeitos anti-carcinogênicos

---

- ✦ Ácido linoleico conjugado (CLA) e esfingolipídeos - potencial efeito anti-carcinogênicos
- ✦ CLA está envolvido nos estágios da carcinogênese – modulação da proliferação das células e apoptose, regulação da expressão de genes, influência na síntese e metabolismo de eicosanóides e mecanismos anti-oxidativos
- ✦ Estudos adicionais são necessários para esclarecer os mecanismos de ação

# Atividade antioxidante

---

- ✦ Peptídeos com atividade antioxidante liberados na hidrólise enzimática da caseína e fermentação do leite;
- ✦ Ação anti-radicais livres;
- ✦ Inibição da oxidação lipídica de origem enzimática e não enzimática.

Antioxidant activity of Cheddar cheeses at different stages of ripening

APARNA GUPTA, BIMLESH MANN,\* RAJESH KUMAR and  
RAM BHAGAT SANGWAN

*Dairy Chemistry Division, National Dairy Research Institute, Karnal-132001, India*



# Bioactive peptides in dairy products

JONGWOO CHOI,<sup>1</sup> LATHA SABIKHI,<sup>2</sup> ASHRAF HASSAN<sup>1</sup> and SANJEEV ANAND<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Dairy Science, South Dakota State University, Brookings, SD 57007, USA, and <sup>2</sup>Department of Dairy Technology, National Dairy Research Institute, Karnal 132001, Haryana, India

<b>Queijo</b>	<b>Propriedade</b>	<b>Referencia</b>
Cheddar	Fosfopeptídeos	Meisel, 2005
Comté	Fosfopeptídeos	Meisel, 2005
Gorgonzola	Inibição da ACE	Gobbetti et al. 2004
Edam, Emental, Festivo	Inibição da ACE	Ryhanen et al. 2001
Feta, Swiss, Cheddar, Edam, Camembert	Inibição da ACE, imunomodulatória, anti amnésica, opióide	FitzGerald et al. 2004
Gouda, Havarti	Inibição da ACE	Meisel, Bockelmann, 1999
Mozzarella, Quarg	Inibição da ACE	Meisel, 2005
Parmesão	Opióide	Meisel, 2005

# Identification of bioactive peptides in commercial Cheddar cheese

Stephanie Rae Pritchard<sup>a</sup>, Michael Phillips<sup>b</sup>, Kasipathy Kailasapathy<sup>b,\*</sup>

<sup>a</sup>Centre for the Plants and the Environment, University of Western Sydney, Hawkesbury Campus, Locked Bag 1797, Penrith South DC, New South Wales 1797, Australia

<sup>b</sup>School of Natural Sciences, University of Western Sydney, Hawkesbury Campus, Locked Bag 1797, Penrith South DC, New South Wales 1797, Australia

- 
- ✦ Peptídeos extraídos de queijo Cheddar apresentaram atividade antimicrobiana (*Bacillus cereus*), atividade anti-oxidante e inibição da ACE
  - ✦ Outros autores também observaram peptídeos bioativos em queijo Gouda e Queijos Suíços



# Bioactive Peptides in Ovine and Caprine Cheeselike Systems Prepared with Proteases from *Cynara cardunculus*

S. V. Silva,\* A. Pihlanto,† and F. X. Malcata\*<sup>1</sup>

\*Escola Superior de Biotecnologia, Universidade Católica Portuguesa, Rua Dr. António Bernardino de Almeida, P-4200-072 Porto, Portugal

†MTT Agrifood Research Finland, Food Research, FIN-31600 Jokioinen, Finland

- 
- ✦ Cardosina A (específica ligações Phe105-Met106) e cardosina B (não específica, altamente proteolítica)
  - ✦ Extratos de queijos com peptídeos de 3 kDa simulando 45 dias de maturação
  - ✦ Peptídeos derivados da  $\beta$  e da  $\alpha$ s1-caseína apresentaram atividade inibitória da ACE
  - ✦ Peptídeos liberados pela hidrólise da ligação entre os AA Leu 190-Tyr191 da  $\beta$ -caseína possuem atividade antioxidante



The *Portuguese Paradox*: Why do some inhabitants of Portugal appear to live so long when their diet is based on whey cheese?

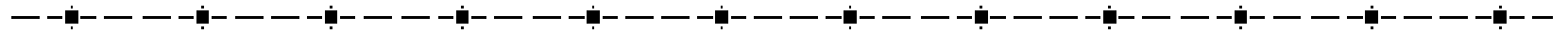
Tânia G. Tavares<sup>a,b</sup>, F. Xavier Malcata<sup>b,c,\*</sup>

- 
- ✦ Requeijão – queijo de soro semelhante à Ricota – obtido por precipitação térmica do soro de origem bovina, ovina ou caprina
  - ✦ Soro obtido por coagulação com *Cynara cardunculus* (Flor do cardo)
  - ✦ Cardosina hidrolisa a  $\alpha$  e  $\beta$ -caseína além das ligações Phe105-Met106 da  $\kappa$ -caseína liberando uma variedade de peptídeos
  - ✦  $\alpha$ -lactorfina -  $\alpha$ -la f(16-26) - interage com receptores opióides reduzindo a pressão arterial

# Cheese peptidomics: A detailed study on the evolution of the oligopeptide fraction in Parmigiano-Reggiano cheese from curd to 24 months of aging

S. Sforza,<sup>1</sup> V. Cavatorta, F. Lambertini, G. Galaverna, A. Dossena, and R. Marchelli

Department of Organic and Industrial Chemistry, University of Parma, Viale delle Scienze 17a, University Campus, I-43124, Parma, Italy



- ✦ 53 peptídeos com massa molecular entre 200 e 7000 Da; 12 AA não proteolíticos, 17 gerados pela proteólise da  $\alpha$ s1-caseína e 24 da  $\beta$ -caseína
- ✦  $\alpha$ s1-caseína f(1-23) – isracidina e  $\beta$ -caseína f(193-209) – efeito imunomodulatório
- ✦ Fosfopeptídeos derivados da  $\beta$ -caseína – capacidade de ligar a minerais – aumentam com o tempo de maturação
- ✦ 10 meses: *Lb. helveticus* → *Lb. rhamnosus*

# Bioactive peptides in water-soluble extracts of ovine cheeses from Southern Brazil and Uruguay

Stela Maris Meister Meira <sup>a</sup>, Daniel Joner Daroit <sup>b</sup>, Virginia Etges Helfer <sup>a</sup>, Ana Paula Folmer Corrêa <sup>a</sup>, Jéferson Segalin <sup>c</sup>, Silvana Carro <sup>d</sup>, Adriano Brandelli <sup>a,\*</sup>

<b>Produtor</b>	<b>Queijo</b>	<b>Função biológica</b>
A – RS Brasil	Tipo Feta	inibição da ACE
	Tipo Pecorino Toscano	Antioxidante, inibição da ACE
B – RS Brasil	Tipo Feta	inibição da ACE
	Tipo Roquefort	Antioxidante, inibição da ACE
SC Brasil	Tipo Pecorino	Quelante ferro
A – Uruguai	Tipo Pecorino Sardo	inibição da ACE
B - Uruguai	Cerrillano	Antioxidante, inibição da ACE

Radicais reativos - Oxidação - degradação celular, associado a doenças crônicas

# Estudos adicionais

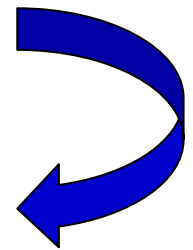
---

- ✦ Ensaio nutricionais, fisiológicos e/ou toxicológicos em animais (entendimento do mecanismo de ação)
- ✦ Estudos epidemiológicos e ensaios clínicos dos efeitos terapêuticos
- ✦ Biodisponibilidade dos componentes nos alimentos
- ✦ Avaliação da adição de compostos bioativos em alimentos.

# Alimentos com compostos bioativos

- 
- ✦ Ampliação da vida de prateleira
  - ✦ Redução de lipídeos sanguíneos
  - ✦ Propriedades anti-tumorais
  - ✦ Regulação hipertensão
  - ✦ Regulação imunológica
  - ✦ Redução da incidência de doenças

**Melhoria qualidade de vida**





# Agradecimentos

---



Associação Brasileira das  
Indústrias de Queijo - ABIQ

unesp 

Universidade Estadual Paulista



# Dúvidas ?

---

Obrigada pela  
atenção

---

Ana Lúcia Barretto Penna  
analucia@ibilce.unesp.br

---