

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta TESE será disponibilizado somente a partir de 24/02/2025.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

**Efeito da proteína do soro de leite submetida à
radiação UV-C na colite induzida em modelo
animal**

Maria Jara Montibeller

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Alimentos e Nutrição para obtenção do título de Doutor em Alimentos e Nutrição.

Área de concentração: Ciência de Alimentos

Orientador: Prof^a. Dr^a Daniela Cardoso Umbelino Cavallini

Coorientador: Prof. Dr. Daniel Rodrigues Cardoso

Araraquara
2023

Efeito da proteína do soro de leite submetida à radiação UV-C na colite induzida em modelo animal

Maria Jara Montibeller

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Alimentos e Nutrição para obtenção do título de Doutor em Alimentos e Nutrição.

Área de concentração: Ciência de Alimentos

Orientador: Prof^a. Dr^a Daniela Cardoso Umbelino Cavallini

Coorientador: Prof. Dr. Daniel Rodrigues Cardoso

Araraquara
2023

M156e Montibeller, Maria Jara.
Efeito da proteína do soro de leite submetida à radiação UV-C na colite induzida em modelo animal / Maria Jara Montibeller. – Araraquara: [S.n.], 2023.
118 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Alimentos, Nutrição e Engenharia de alimentos. Área de Concentração em Ciência de Alimentos.

Orientadora: Daniela Cardoso Umbelino Cavallini.
Coorientador: Daniel Rodrigues Cardoso.

1. Colite ulcerativa. 2. Soro de leite. 3. Metabólica. 4. Microbiota intestinal. 5. Tratamento por ultravioleta. I. Cavallini, Daniela Cardoso Umbelino, orient. II. Cardoso, Daniel Rodrigues, coorient. III. Título.

ATESTADO DE APROVAÇÃO - DEFESA

Atestamos que **MARIA JARA MONTIBELLER**, RA nº: ANA180076, RG nº 5.749.237, expedido pela SSP/SC, defendeu, no dia 24/02/2023, a tese intitulada **Efeito da proteína do soro de leite submetida à radiação UV-C na colite induzida em modelo animal**, junto ao Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição, Curso de Doutorado, tendo sido 'APROVADA'.

Atestamos ainda que a obtenção do título dependerá de homologação pelo Órgão Colegiado competente.

Araraquara, 24 de fevereiro de 2023

Victor Picchi
Gandin:43047
576874

Assinado digitalmente por Victor Picchi
Gandin:43047576874
ND: CN=Victor Picchi Gandin:43047576874,
OU=UNESP - Universidade Estadual Paulista
Julio de Mesquita Filho, O=ICPEdu, C=BR
Razão: Eu sou o autor deste documento
Localização:
Data: 2023.03.13 08:47:48-03'00'
Foxit PDF Reader Versão: 12.1.0

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, à qual agradeço.

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio no projeto (FAPESP N. 2017/01189-0).

Agradeço à minha orientadora Daniela Cardoso Umbelino Cavallini e coorientador Daniel Rodrigues Cardoso.

Agradeço à Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP, aos professores, aos técnicos e aos colegas de pós-graduação que de alguma forma, direta ou indiretamente, ajudaram no desenvolvimento desse projeto.

Agradeço aos meus pais e ao Douglas pelo apoio durante todo meu percurso acadêmico.

RESUMO

A colite ulcerativa é uma doença inflamatória intestinal crônica e redicivante, que acomete parte do cólon, impactando a qualidade de vida do paciente. Diversas estratégias não farmacológicas têm sido utilizadas para auxiliar na modulação da microbiota intestinal e reduzir os sintomas dessa doença, com destaque para a ingestão de alimentos com potencial anti-inflamatório. Entre as estratégias dietéticas, a ingestão de proteína do soro de leite foi associada à modulação da microbiota e do sistema imune, tendo remissão dos sintomas da colite. Além disso, entre as tecnologias não térmicas que podem ser utilizadas para a produção de soro de leite, a luz ultravioleta pode aumentar a digestibilidade proteica, auxiliando na absorção de diversos aminoácidos essenciais. O objetivo do estudo foi avaliar o efeito do consumo de proteína de soro de leite (WP) submetida ao tratamento de luz na região do ultravioleta de 200-280 nm (UV-C) na colite aguda induzida em camundongos. Para isso os animais foram divididos em quatro grupos (n=10): (H) animais sadios sem consumo de WP, (C) animais com colite e sem consumo de WP, (W) animais com colite e que receberam WP não submetido à UV-C e (WU) animais com colite que receberam WP submetido à UV-C. O protocolo teve duração total de 14 dias, sendo que o WP foi ingerido durante todo o período experimental e a indução da colite pela ingestão de dextran sulfato de sódio ocorreu a partir do sétimo dia. A evolução da colite foi acompanhada pela determinação do índice de atividade da doença (IAD), variação da relação peso e comprimento e análise histopatológica do cólon, determinação da concentração de citocinas pró e anti-inflamatórias, análise da composição da microbiota fecal ao longo do experimento e análises metabolômicas nos rins e plasma após eutanásia. A determinação de metabólitos foi feita por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Prótons (RMN de ^1H) e a determinação da composição da microbiota fecal foi realizada em sequenciador de nova geração (IlluminaMiseq). O nível de 5% de significância ($p \leq 0,05$) foi adotado para todas as tomadas de decisão. Considerando a análise do conjunto de sintomas do IAD, o grupo WU resultou em menor progressão da doença. Os diferentes grupos experimentais não apresentaram diferenças significativas em relação às concentrações de IL-10 e TNF- α . Contudo, os níveis das citocinas inflamatórias IL-2 e IL-6 foram superiores no grupo induzido à colite e sem tratamento ($p < 0,05$). Não houve alteração na diversidade e riqueza da microbiota antes e após indução da colite nos grupos pertencentes às dietas WP (número de observações). Os resultados revelaram que cada um dos suplementos de WP modula a microbiota intestinal durante a inflamação de maneiras diferentes, com destaque para WP tratados com UV-C que apresentaram menor regressão da progressão nos parâmetros clínicos e conservação na abundância relativa dos gêneros. Além disso, a ingestão de WP tratado com UV-C resultou em modulação positiva da MI, com destaque para aumento de *Turicibacter* spp. e recuperação da família Ruminococcaceae, Lachnospiraceae_UCG_001 e *Blautia*, o que provavelmente contribuiu para o controle da colite. As análises de metabólitos nos rins não evidenciaram uma sobrecarga das funções renais devido

consumo de WP, e foram encontradas alterações em rotas metabólicas, que podem ter sido uma forma de reduzir a progressão da doença. A maior parte dos componentes encontrados nos rins foram estatisticamente diferentes em suas concentrações, quando comparados os grupos controle H e C ($p < 0,05$). O grupo W não apresentou diferenças estatísticas com grupo saudável em relação à asparagina, alanina, dimetilamina, isoleucina, fenilalanina e valina. Os resultados da análise de metabólitos no plasma sugeriram que este não é um biomarcador ideal para a colite, devido à semelhança entre os grupos que receberam os tratamentos e o grupo controle. Por fim, pode-se concluir que o consumo de W e WU reduziram a progressão da doença, porém com diferentes respostas nas vias metabólicas e na microbiota intestinal, constituindo uma opção de suplemento alimentar para auxiliar no controle dos sintomas da colite.

Palavras-chave: Colite ulcerativa. Soro de leite. Metabolômica. Microbiota intestinal. Tratamento por ultravioleta.

ABSTRACT

Ulcerative colitis is a chronic and relapsing inflammatory bowel disease that affects part of the colon, impacting the patient's quality of life. Several non-pharmacological strategies have been used to help modulate the intestinal microbiota and reduce the symptoms of this disease, with emphasis on the intake of foods with anti-inflammatory agent. Among dietary strategies, whey protein intake was associated with modulation of the microbiota and the immune system, with remission of colitis symptoms. Also, among the non-thermal technologies that can be used for the production of whey, ultraviolet light can increase protein digestibility, aiding in the absorption of several essential amino acids. The aim of the study was to evaluate the effect of consumption of whey protein (WP) subjected to light treatment in the ultraviolet region of 200-280 nm (UV-C) on acute colitis induced in mice. In this regard, the animals were divided into four groups (n=10): (H) healthy animals without WP consumption, (C) animals with colitis and without WP consumption, (W) animals with colitis and that received WP not submitted to UV-C and (WU) animals with colitis that received WP subjected to UV-C. The protocol had a total duration of 14 days. The WP was ingested throughout the experimental period and the induction of colitis by ingestion of sodium dextran sulfate occurred from the seventh day. The evolution of the colitis was followed by the determination of the disease activity index (DAI), variation in the weight and length ratio and histopathological analysis of the colon, determination of the concentration of pro and anti-inflammatory cytokines, analysis of the composition of the fecal microbiota throughout the experiment and metabolomic analysis of kidneys and plasma after euthanasia. The determination of metabolites was performed by Proton Nuclear Magnetic Resonance (^1H NMR) and the determination of fecal microbiota composition was performed in a new generation sequencer (IlluminaMiseq). The 5% significance level ($p \leq 0.05$) was adopted for all tests hypothesis. Considering the analysis of the set of DAI symptoms, the WU group resulted in less disease progression. The different experimental groups did not show significant difference in relation to the concentrations of IL-10 and TNF- α . However, the levels of the inflammatory cytokines IL-2 and IL-6 were higher in the colitis-induced and untreated groups ($p < 0.05$). There was no change in the diversity and richness of the microbiota before and after colitis induction in the groups belonging to the WP diets (number of observations). The results revealed that each of the WP supplements modulates the gut microbiota during inflammation in different ways, but UV-C-treated WP was more effective, considering less progression in clinical parameters and conservation in the relative abundance of the genera. In addition, the ingestion of WP treated with UV-C resulted in a positive modulation of gut microbiota, with emphasis on the increase of *Turicibacter* spp. and abundance recovery in the families Ruminococcaceae, Lachnospiraceae_UCG_001 and Blautia, which probably contributed to the control of colitis. Metabolites analysis in the kidneys did not show an overload of renal functions due to WP consumption, and alterations in metabolic pathways were found, which may have been a way to reduce the progression of the disease. Most of the components found in the kidneys were statistically

different in their concentrations when comparing the control groups ($p < 0.05$). The W group did not show statistical differences with the healthy group in relation to asparagine, alanine, dimethylamine, isoleucine, phenylalanine and valine. Results of plasma metabolite analysis suggested that this is not an ideal biomarker for colitis. Finally, it can be concluded that the consumption of W and WU reduced the progression of the disease, but with different responses in the metabolic pathways and in the intestinal microbiota, being an option for a food supplement to help control the symptoms of colitis.

Keywords: Ulcerative colitis; Whey protein; Metabolomics; Gut microbiota; Ultraviolet treatment.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

16S rRNA	RNA ribossomal 16S
CLA	<i>cis-9,trans-11 conjugated linoleic acid</i>
CU	Colite ulcerativa
Cys	Cisteína
DC	Doença de Crohn
DII	Doenças Inflamatórias Intestinais
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DNBS	Ácido dinitrobenzeno sulfônico.
DSS	Dextran sulfato de sódio
ESPE	<i>European Society for Clinical Nutrition and Metabolism</i>
HTST	High Temperature, Short Time
IAD	Índice de Atividade da Doença
IL-10	Interleucina 10
IL-6	Interleucina 6
LTLT	<i>Low Temperature, Long Time</i>
MALDI-TOF/TOF	<i>Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time Of Flight Mass Spectrometry</i>
MUC2	Mucina 2
NFK	N-formilquinurenina
nLC-ESI-MS	<i>Nano-scale liquid chromatographic tandem mass spectrometry</i>
NOD2	<i>Nucleotide-Binding Oligomerization Domain 2</i>
OTU	<i>Operational taxonomic units</i>
REG3γ	<i>Regenerating islet-derived protein 3</i>
RMN de H¹	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de prótons
RNA	Ácido ribonucleico
RSSR•-	Ânion radical
-SH	Pontes de dissulfeto
Th1	<i>T helper 1</i>
Th17	<i>T helper 17</i>
TNBS	Ácido 2,4,6 trinitrobenzeno sulfônico
Treg	Células T reguladoras
Trp	Triptofano
UHT	<i>Ultra High Temperature</i>
UV	Luz ultravioleta
UV-C	Luz na região do ultravioleta de 200-280 nm
UV-vis	Luz ultravioleta visível
α-La	α -lactalbumina
B-Lg	β -lactoglobulina

LISTA DE SÍMBOLOS

kg	Quilograma
s	Segundo
g	Grama
W / m²	Potência por área em metros
W / cm³	Potência por área em centímetros
g / L	Gramas por litro
kDa	Quilo Dalton
nm	Nanômetro

LISTA DE QUADROS

	Página
Quadro 1. Resumo dos efeitos físicos e na bioatividade de soro de leite obtido por diferentes processos não-térmicos.	22
Quadro 2. Efeitos da intervenção com componentes do leite e seus derivados em modelos animais de DII.	36

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Principais processamentos aplicados ao soro de leite para garantir a sua segurança microbiológica.	18
Figura 2. Estrutura da β - Lg. As ligações das duas pontes de dissulfeto (Cys-66 / Cys-160, Cys-106 / Cys-119), um resíduo de cisteína livre (Cys121), dois resíduos de triptofano (Trp-19, Trp-61) e cadeias presentes na estrutura (A até I).	25

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO EXPANDIDA	15
1.1 Soro de leite: métodos de produção	15
1.1.1 Aplicação de Luz na região do ultravioleta de 200-280 nm (UV-C) em soro de leite	23
1.2 Doenças Inflamatórias Intestinais (DII): Colite Ulcerativa	26
1.2.1 Microbiota intestinal de DII	29
1.2.2 Tecnologias ômicas nos estudos das DII	31
1.3 Suplementação com proteína do soro de leite e seu impacto nas DII	33
2 OBJETIVOS GERAIS	44
2.1 Organização dos capítulos	45
3 REFERÊNCIAS	45
4 CAPÍTULO 1	54
5 CAPÍTULO 2	76
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	119

1 INTRODUÇÃO EXPANDIDA

1.1 Soro de leite: métodos de produção

O leite é uma importante fonte de proteína (30 a 36 g/L) com alto valor nutricional, sendo composta aproximadamente por 80% de caseína e 20% de proteínas presentes em seu soro ^{1,2}.

A porção aquosa do leite, conhecida como soro de leite, possui em sua composição proximal cerca de 94% de água, 5% de lactose e 1% de proteínas. Além desses, há presença de traços de minerais, ácidos cítrico e láctico ³.

A fração proteica do soro de leite é utilizada das mais diversas formas na indústria de alimentos e é composta por β -lactoglobulina (β -Lg), α -lactalbumina (α -La) e pequenas concentrações de soroalbumina, peptonas e imunoglobulinas. Essas proteínas são formadas principalmente por lisina, triptofano, isoleucina e treonina, o que torna o soro uma fonte de aminoácidos essenciais ^{2,4}.

A β -Lg possui um peso molecular de aproximadamente 18,4 kDa, que proporciona uma resistência às enzimas proteolíticas presentes no estômago, sendo absorvida apenas no intestino. É composta por 16 tipos de aminoácidos, totalizando 178 aminoácidos, com a presença de duas pontes de dissulfeto (-SH). Essa proteína globular, com sua formação principal em β -

barril, corresponde a cerca de 50% do total de proteínas presentes no soro de leite bovino, e sua desnaturação completa ocorre a partir de 65°C ^{4,5,6}.

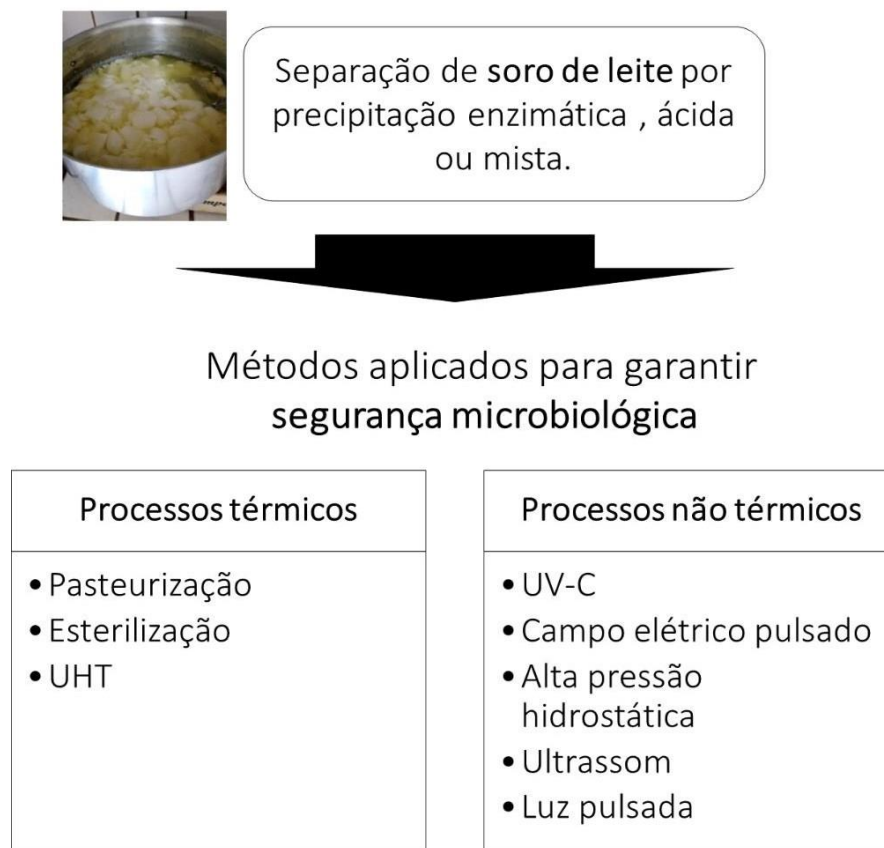
A α -La é a segunda proteína mais encontrada no soro de leite bovino, representando cerca 20% do total de proteínas desse produto. Com peso molecular de aproximadamente 14,2 kDa, é definida como uma metaloproteína, pois contém íons metálicos que se ligam a átomos de cálcio. Sua composição conta com um total de 142 aminoácidos, constituída por 19 diferentes aminoácidos e possui a maior quantidade de triptofano dentre todas as fontes proteicas (aproximadamente 6%). A estrutura terciária dessa proteína inclui um domínio helicoidal e um pequeno domínio β -folha. Por fim, apresenta instabilidade frente ao tratamento térmico, sendo totalmente desnaturada quando exposta a temperaturas iguais ou superiores a 90°C por mais de 30 minutos ^{4,5,7}.

O soro de leite é considerado um ingrediente fundamental na indústria de alimentos e exibe propriedades funcionais como gelificação, emulsificação e capacidade de formação de espuma. Esse pode ser submetido a operações unitárias para obtenção de diferentes produtos, como *spray drying* (proteína de soro concentrada), microfiltração (proteína de soro isolada) e aplicação de hidrólise enzimática (hidrolisados de proteína de soro de leite)⁸. As concentrações de proteínas obtidas por essas operações variam de 35% a 80% em soro de leite concentrado, enquanto o soro de leite isolado pode conter até 90% ⁸. Essas variações nas concentrações de proteínas afetam diretamente as propriedades físico-químicas dos produtos. Por exemplo, o soro de leite isolado tem características de gel sob condições de baixa

temperatura, o que altera as interações hidrofóbicas e as funcionalidades da proteína⁸. Com isso, para otimizar a funcionalidade do produto, é fundamental selecionar matéria-prima e processamento adequados, incluindo os métodos de obtenção e conservação aplicados para fornecer componentes biodisponíveis e segurança alimentar⁵.

A primeira etapa para obtenção das proteínas do soro de leite envolve a precipitação ácida e/ou enzimática da caseína, separando-a da fração solúvel (soro de leite)⁵. Antes de ser concentrado ou desidratado, o soro de leite deve ser submetido a tratamentos capazes de garantir a sua segurança microbiológica⁹. O resumo sobre os principais métodos utilizados na produção de soro de leite pode ser visualizado na Figura 1. Além desses, outros processos como precipitação, complexação e separação por cromatografia podem ser utilizados¹⁰.

Figura 1 – Principais processamentos aplicados ao soro de leite para garantir a sua segurança microbiológica.



Fonte: Elaborado pelo autor Adaptado de TUNICK, 2008 ¹¹ apud MARWAHA; KENNEDY, 1988 ¹²; SISO, 1996 ¹³; ABD EL-SALAM; EL-SHIBINY; SALEM, 2009 ⁸; ORDÓÑEZ et al., 2005 ⁵. Notas: UHT –*Ultra High Temperature*; UV-C – Aplicação de luz na região do ultravioleta de 200 - 280 nm.

As principais tecnologias utilizadas para garantir a segurança do soro de leite para o consumo humano envolvem o uso de temperaturas elevadas (esterilização e *Ultra High Temperature* - UHT), ou mais brandas

(pasteurização). A pasteurização é subdividida em "*Low Temperature, Long Time*" (LTLT - 63°C, 30 min) e "*High Temperature, Short Time*" (HTST - 72°C – 15 s), conferindo ao produto um prazo de validade de três a seis dias, sob refrigeração. Os processos que envolvem o uso de temperaturas mais altas, como a esterilização (120°C – 20 min) e UHT (130-150°C – 3 a 5 s) aumentam a estabilidade microbiológica do produto, que permanece em condições ideais de consumo por quatro meses, sem a necessidade de refrigeração ⁵.

Apesar de sua eficácia para controlar a contaminação e prolongar a vida útil dos alimentos, os processos térmicos podem afetar a digestibilidade gastrointestinal e a alergenicidade das proteínas do soro de leite ^{14,15}. As principais alterações físico-químicas observadas são a desnaturação, agregação, reação de Maillard, redução de lisinas, interações proteína-lípido ou proteína-proteína, redução de compostos bioativos, além de promoverem alterações sensoriais no produto final ¹⁶.

Com isso, métodos de conservação não térmicos têm sido propostos como alternativa para garantir segurança microbiológica, sem alterar negativamente as propriedades tecnológicas, sensoriais e funcionais do soro de leite ^{17,18}. Os métodos não térmicos com maior destaque atualmente são: alta pressão hidrostática ¹⁹, exposição ao campo elétrico pulsado ²⁰, ultrassom, luz pulsada e a luz ultravioleta (UV) ²¹.

A alta pressão hidrostática utiliza pressão em um sistema fechado por redução mecânica de volume e gera um aumento moderado na temperatura (geralmente adicionado por aquecimento adiabático), o que lhe confere vantagens nos aspectos sensoriais dos produtos alimentícios ²². Zeece,

Huppertz e Kelly (2008) estudaram o efeito desse tratamento na digestibilidade *in vitro* da β -lactoglobulina e demonstraram um aumento na digestibilidade e acessibilidade dos grupos tióis ²³.

Na exposição aos campos elétricos pulsados, a inativação microbiológica também ocorre em temperaturas mais baixas. Essa tecnologia é baseada na eletroporação para permeabilizar as membranas celulares. Os principais parâmetros a serem controlados são a intensidade do campo elétrico, tempo, formato e largura do pulso ²⁴. Em relação a sua ação no soro de leite, quando comparadas concentrações de 5% e 3% de soro de leite isolado, a porção mais rica em proteínas (5%) causou menor intensidade de fluorescência intrínseca relativa ²⁵. Além disso, esse processo apresentou a capacidade de inativar a *Listeria innocua*, um dos indicadores de inativação microbiológica eficiente ²⁶.

O tratamento com ultrassom é dividido em duas categorias: uma que utiliza ondas sonoras mais altas ($>3 \text{ W/cm}^2$) e outra com uso de ondas sonoras baixas ($<3 \text{ W/cm}^2$). Ambas possuem capacidade de alterar aspectos físico-químicos do material e podem ser aplicadas em temperatura ambiente ou combinadas com altas temperaturas ²⁷. Jambrak et al. (2008) compararam o efeito dos dois tipos de ondas sonoras e concluíram que o ultrassom com alta potência melhora as propriedades físicas, como solubilidade e capacidade de formação de espuma da proteína do soro de leite ²⁸.

No tratamento com luz pulsada, o equipamento utiliza uma lâmpada xenon e pulsos de curta duração ²⁹. Esse processo foi associado à melhora de muitas propriedades físico-químicas do soro de leite, incluindo solubilidade

e propriedades emulsificantes ³⁰. Além disso, Siddique, Maresca, Pataro e Ferrari (2017), após analisar as mudanças estruturais e demonstrar o aumento imediato do conteúdo de tióis livres em soro de leite isolado, levantou a hipótese que a desnaturação parcial pode melhorar as propriedades funcionais e tecnológicas desse produto ³¹.

Por fim, no Quadro 1 são apresentadas algumas vantagens associadas à utilização desses métodos. O tratamento por luz ultravioleta será tratado em seção a seguir.

Quadro 1 – Resumo dos efeitos físicos e na bioatividade de soro de leite obtido por diferentes processos não-térmicos.

Processo	Efeitos	Referências
Alta pressão hidrostática	Aumento da digestibilidade de β -Lg (em condições gástricas <i>in vitro</i>). Retenção de sabor e coloração características do produto.	22,23
Exposição ao campo elétrico pulsado	Aumento da solubilidade e poder de emulsificação do produto. Sem ação negativa em compostos bioativos presentes no soro.	25, 26, 30
Ultrassom	Aumento da solubilidade da proteína. Diminuição da turbidez. Alterações físicas que promovem a bioatividade.	28, 32,33
Luz Pulsada	Melhoria na solubilidade, na agregação de monômeros desdobrados por meio de interações hidrofóbicas e na formação de espuma. Essas mudanças podem melhorar as propriedades funcionais.	31,34,35
Exposição à luz ultravioleta	Perdas sensoriais e nutricionais menores que em processos térmicos. Ausência de formação de compostos tóxicos. Aumento da hidrólise pela ação da pepsina. Redução na desnaturação, quando comparada com UHT.	36,37

Fonte: Elaborado pelo autor.

1.1.1 Aplicação de Luz na região do ultravioleta de 200-280 nm (UV-C) em soro de leite

Dentre as tecnologias não térmicas que podem ser utilizadas para a produção de soro de leite, a luz ultravioleta (UV) destaca-se por sua comprovada ação no alimento, garantindo a segurança do alimento ³⁶. O tratamento por UV pode ocorrer em diversos comprimentos de ondas: ondas curtas (UV-C) - 200 a 280 nm, ondas médias (UV-B) - 280 a 320 nm e ondas longas (UV-A) - 320 a 400 nm. O mecanismo de ação da luz UV envolve absorção da radiação pelo material genético da célula do microrganismo e a formação de fotoprodutos (dímeros de ciclobutano pirimidina e (6-4)-pirimidina-pirimidona). Os fotoprodutos formados inibem a transcrição e replicação do DNA, além de poder causar mutagênese e morte celular ^{38,39}.

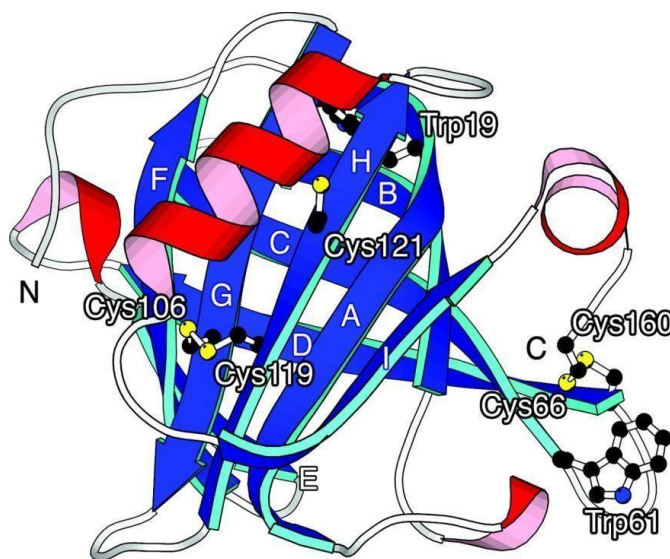
A região UV-C é considerada a mais eficiente na conservação de alimentos, pois corresponde ao comprimento de onda mais absorvido pelo DNA ³⁶. Entretanto, esse processo é mais recomendado para alimentos líquidos ou com pequenos sólidos em suspensão, pois possui baixo poder de penetração e necessita de equipamentos operados sob turbulência, para facilitar a ação no alimento ⁴⁰.

O tratamento por UV-C é qualitativamente comparável aos processos de conservação térmicos. Cappozzo, Koutchma e Barnes (2015) compararam o efeito de UHT, HTST, UV-C (254 nm, 1,045 e 2,090 J/L) e diferentes combinações entre HTST e UV-C na conservação e composição do leite ⁴¹. Os autores observaram que o UV-C, sozinho ou em associação com HTST,

não alterou a composição proximal, a oxidação de lipídios e o perfil de ácidos graxos e de proteínas ao longo dos 14 dias de armazenamento do produto. Nas condições do estudo, a tecnologia não térmica apresentou potencial para ser usada como alternativa para aumentar a vida útil do leite. Outro estudo conduzido por Buhler et al. (2019) analisou a eficiência do uso do tratamento UV-C (253,7 nm) na qualidade e no valor nutricional de soro de leite desnatado e concentrado ⁴². O estudo concluiu que a segurança microbiológica e a qualidade nutricional do soro de leite desnatado foram preservadas, inclusive exibindo maior concentração de proteínas solúveis em comparação com a amostra submetida ao tratamento térmico. Para a amostra de soro de leite concentrado, os autores sugerem uma otimização na configuração do reator para melhorar a segurança do produto final.

Além disso, o processo UV-C gera redução de -SH nas pontes de tióis pela transferência direta de elétrons da cadeia lateral e de triptofanos excitados próximo às pontes. Com isso, o estado triplete de um triptofano transfere elétron diretamente para a ligação de dissulfeto, formando um ânion radical (RSSR^{•-}) e ocasionando a quebra da ponte de dissulfeto, o que expõe mais facilmente a β -Lg a reações enzimáticas (quebra parcial de enovelamento) (Figura 2) ⁴³.

Figura 2 – Estrutura da β -Lg. As ligações das duas pontes de dissulfeto (Cys-66 / Cys-160, Cys-106 / Cys-119), um resíduo de cisteína livre (Cys121), dois resíduos de triptofano (Trp-19, Trp-61) e cadeias presentes na estrutura (A até I).



Fonte: YAGI et al., 2003 ⁴⁴. O diagrama foi criado com uso do programa Molscript (KRAULIS, 1991) ⁴⁵ e possui código 1BEB (3) do Protein Data Bank.

Em estudo realizado por Cardoso et al. (no prelo), constatou-se que o tratamento por UV-C (266 nm, 4 W/m²) resulta em mudança conformacional das proteínas majoritárias do soro do leite em solução aquosa (especialmente da β -Lg), com aumento de 127% na sua digestibilidade e mudança no perfil de aminoácidos ⁴⁶. O tratamento não térmico provocou alterações na estrutura secundária da β -Lg, com redução significativa na contribuição da estrutura em folha e volta β . Tais alterações foram induzidas pela clivagem de -SH de β -Lg (Cys160 - Cys66 e Cys106 - Cys119), com um rendimento quântico de 0,0015 $\pm$ 0,0003. Os resultados de espectroscopia de luz ultravioleta visível (UV-Vis)

e de emissão molecular de fluorescência sugerem ainda a formação de N-formilquinurenina (NFK), como principal produto de fotooxidação por triptofano-61. Apesar de não existir consenso entre os pesquisadores, dados da literatura apontam um efeito positivo de metabólitos do triptofano, em especial da quinurenina, na colite induzida em modelo animal, via inibição da resposta inflamatória ^{47,48}. O perfil de peptídeos liberados durante a digestão *in vitro* da proteína modificada por UV-C foi determinado por MALDI-TOF/TOF e nLC-ESI-MS. Os resultados evidenciaram que o perfil de aminoácidos da proteína irradiada é significativamente diferente da amostra não irradiada, com maior abundância de peptídeos com bioatividade (por homologia) anti-hipertensiva, antioxidante, imunomoduladora e anti-inflamatória ⁴⁹.

1.2 Doenças Inflamatórias Intestinais (DII): Colite Ulcerativa

As doenças inflamatórias intestinais (DII) são caracterizadas por inflamações crônicas e recidivantes, que podem acometer parte (colite ulcerativa - CU) ou todo o trato intestinal (doença de Crohn - DC)⁵⁰.

Uma revisão sistemática conduzida por Alatab et al. (2020) avaliou a evolução global das DII entre os anos de 1990 e 2017, envolvendo 195 países ⁵¹. Os resultados evidenciaram um aumento de cerca de 85% na prevalência dessa doença inflamatória comparado ao período inicial do estudo, totalizando cerca de 6 milhões de pessoas acometidas por DII no mundo.

Os sintomas da CU e DC são semelhantes e incluem diarreia, dor abdominal, presença de sangue nas fezes e perda de peso ⁵⁰. Os fatores

envolvidos na iniciação e progressão das DII envolvem uma associação entre predisposição genética, fatores ambientais (dieta, tabagismo, região geográfica, situação econômica e social e uso de drogas), resposta imune desregulada e composição do microbioma intestinal ^{52,53,54}.

Entre os fatores de predisposição genética, destacam-se as mutações em alguns genes, como domínio de oligomerização de ligação a nucleotídeos (*Nucleotide-Binding Oligomerization Domain 2* - NOD2) e genes relacionados à autofagia (ATG16L1, IRGM, XBP1 e LRRK2), que estão associados ao desenvolvimento de DII. Essas alterações, juntamente com os fatores ambientais (dieta, uso de antibióticos e tabagismo), podem favorecer a disbiose intestinal (desequilíbrio da composição e funcionalidade da microbiota intestinal), a penetração e a translocação de microrganismos que irão participar do processo inflamatório associado à colite ⁵⁵. No processo inflamatório observa-se hiperativação dos linfócitos T CD4 de padrão das células *T helper 1* (Th1) e *T helper 17* (Th17), alteração nas proteínas de junção e oclusão, aumento da permeabilidade intestinal, redução de células T reguladoras (Treg), de proteína 3 (peptídeo antimicrobiano) derivada de ilhotas em regeneração (*Regenerating islet-derived protein 3* - REG3 γ) e da citocina anti-inflamatória IL-10 ⁵⁶.

Por ser considerada uma doença multifatorial, de difícil diagnóstico e cuja patogênese não é completamente conhecida, a colite tem sido alvo de estudos que avaliaram diferentes terapias (tanto medicamentosas como alimentares), que possam auxiliar na melhora da qualidade de vida do paciente ^{52,53,54}.

Os tratamentos convencionais para DII são baseados na gravidade dos sintomas e incluem anti-inflamatórios, antibióticos, imunossupressores ou agentes biológicos (como a terapia monoclonal, como uso de anti-TNF). No entanto, não existe uma terapia universalmente eficaz ou aceita, e muitos pacientes apresentam efeitos adversos que afetam a continuidade do tratamento ^{56,57}. Por exemplo, o tratamento com imunossupressores, pode favorecer infecções e até levar a óbito, caso não ocorra um acompanhamento correto ⁵⁹. O uso de sulfassalazina pode causar erupção cutânea, pancreatite, pneumonite e agranulocitose, enquanto o tratamento prolongado com corticosteróides pode favorecer o desenvolvimento de obesidade, hipertensão, diabetes, catarata, glaucoma, depressão, ansiedade, insônia, irritabilidade e necrose avascular ⁶⁰. Além disso, muitos dos tratamentos clínicos perdem eficácia ao longo do tempo, sendo que pesquisadores da área recomendam a procura de terapias individualizadas com auxílio de uma equipe médica multidisciplinar ⁶¹.

As pesquisas iniciais para avaliação da ação das terapias alternativas são realizadas em modelos animais, envolvendo majoritariamente o uso de ratos ou camundongos. Esses animais podem ser manipulados geneticamente, imunodeficientes ou induzidos à doença pela ingestão de compostos químicos ou microrganismos capazes de promover a inflamação intestinal ⁵⁸. Na indução química, as cobaias recebem uma dose específica de determinado substrato (oxazolona, ácido acético, carragenina, peptidoglicano, anti-inflamatórios não-esteroidais, dextran sulfato de sódio - DSS ou ácido 2,4,6 trinitrobenzeno sulfônico – TNBS), que promove a inflamação ⁶². TBNS e DSS são os compostos mais recomendados na indução da colite em modelo animal e amplamente aplicados em estudos de DII ^{63,64,65,66,67}. Entre esses, o uso de DSS destaca-se como o mais popular, devido a sua simplicidade e reprodutibilidade ⁶⁸.

A verificação de eficácia do tratamento ou suplementação alimentar em animais induzidos à colite envolvem a determinação do índice de atividade da doença (IAD), perfil de citocinas pró e anti-inflamatórias, análise histológica de porções do cólon e composição da microbiota intestinal ⁶⁹.

1.2.1. Microbiota intestinal de DII

Pacientes acometidos por DII apresentam modificações na composição da microbiota intestinal e inibição na produção ou degradação de mucinas intestinais (MUC 2) – proteínas glicosiladas que protegem a superfície da mucosa ^{70,71}.

A microbiota intestinal e os seus metabólitos influenciam inúmeras funções vitais e estão envolvidos na manutenção da integridade da mucosa intestinal e da homeostase do sistema imune ^{72,73}. Possíveis alterações em sua composição podem auxiliar no entendimento da colite e no estabelecimento de tratamentos ou abordagens dietéticas adequadas ⁷⁴.

O termo microbiota está relacionado a uma comunidade de microrganismos, comumente quantificada por métodos independentes de cultivo, baseados em seu material genético ⁷⁵. A microbiota intestinal humana é composta por centenas de espécies, que conferem ao hospedeiro uma identidade própria. Estudo metagenômico de Arumugam et al. (2011) concluiu que a mesma pode ser dividida em três “*Clusters*” ou “entererótipos” identificados pela variação na população de *Bacteroides* spp. (*Enterotype* 1), *Prevotella* spp. (*Enterotype* 2) e *Ruminococcus* spp. (*Enterotype* 3)⁷⁵. Essa

divisão tem sido questionada por sua incapacidade de representar uma comunidade dinâmica e outras classificações, baseadas em combinações ou gradientes de filos e gêneros, foram propostas ^{76,77}. Apesar de ser criticada por alguns pesquisadores, essa segmentação em “enterótipos” explicaria, ao menos parcialmente, as diferenças observadas em estudos clínicos com intervenções dietéticas ou medicamentosas ⁷⁵. Novas técnicas de bioinformática para identificar essas particularidades e, principalmente compreendê-las, ainda estão em seus passos iniciais ^{78,79,80}.

Pacientes com DII exibem modificação na diversidade e predominância na microbiota intestinal, sendo comum a redução de *Firmicutes* e aumento de *Enterobacteriaceae* ^{71,81,82}. Apesar da participação da microbiota na etiologia da colite ser inegável, não está completamente estabelecido se tais alterações são causa ou consequência da colite, sendo necessários maiores estudos acerca do tema ⁷².

Com isso, destaca-se a importância de coletar dados para buscar saber quais são as modificações na microbiota intestinal que ocorrem durante a progressão da doença e quais são os diversos gêneros bacterianos envolvidos nesse mecanismo ⁸³.

Heenan et al., (2020), em sua revisão sobre o papel da microbiota intestinal nas DII, destacaram três tópicos que devem ser priorizados: as diferenças na composição da microbiota entre os diversos subtipos de DII e modelos saudáveis; como a proporção de “más” e “boas” bactérias influencia a progressão da doença; e aprimoramento de técnicas de sequenciamento genético (como 16S rRNA), pois as técnicas dependentes de cultura

convencionais não são apropriadas para estudar a complexidade da microbiota intestinal ⁷⁴.

1.2.2. Tecnologias ômicas nos estudos das DII

As tecnologias ômicas, que englobam a genômica (metataxonômica e metagenômica), transcriptômica, proteômica e metabolômica, oferecem instrumentos para estudar a estrutura e função de um sistema biológico, de forma integrada. O sequenciamento de DNA e RNA é muito utilizado para a análise do genoma, enquanto técnicas de espectrometria de massa e espectroscopia de ressonância magnética nuclear de prótons (RMN de ¹H) são escolhidas para avaliar o proteoma e o metaboloma ⁸⁴.

As principais estratégias de sequenciamento de alto rendimento (*High throughput sequencing*) utilizadas para a análise de comunidades microbianas, usando plataformas de sequenciamento de nova geração (*Next-generation sequencing*) compreendem a metataxonômica (sequenciamento de amplicon de genes alvo) e a metagenômica (sequenciamento do DNA isolado de toda a comunidade microbiana). A metataxonômica é a técnica mais utilizada para o estudo da composição da microbiota, pois permite a execução eficiente de muitas amostras a custos relativamente baixos em comparação com as técnicas de metagenômica ⁸⁵. Esta consiste no agrupamento de sequências similares com limiar de circunscrição definido (entre 97 a 99%), em unidades taxonômicas operacionais (*Operational taxonomic units* - OTU), baseado (*open-reference*) ou não (*closed-reference*)

em bancos de dados de sequências referenciais. As OTU são comparadas com esses bancos de dados taxonômicos, como SILVA ou *Greengenes*, onde recebem a atribuição taxonômica à qual representam ⁸⁵.

Além disso, essa análise permite a compreensão da diversidade alfa e beta. De forma resumida, a alfa diversidade pode ser definida como a diversidade dentro de um ecossistema específico e geralmente é expressa pelo número de espécies no mesmo (ou em um grupo do experimento). Enquanto a beta diversidade examina a mudança na diversidade de espécies entre esses ecossistemas (comparação de diferentes grupos do experimento) ⁸⁶.

As análises metagenômicas e metataxonômicas, juntamente com análises metabolômicas abrem novas possibilidades de compreensão da etiologia das DII. O avanço nessas técnicas possibilita o entendimento global sobre a relação das rotas metabólicas, suas funções e estruturas em comparação com os achados na microbiota ^{87,88}.

Nesse contexto, a RMN de ^1H é uma técnica espectroscópica com objetivo de verificar campos magnéticos locais ao redor de núcleos atômicos e tem como principais vantagens a precisão e exatidão na medição de macro e micromoléculas, além de ser uma análise não destrutiva e de fácil preparação das amostras ⁸⁹.

A RMN de ^1H é considerada uma potente técnica para a análise de metabólitos (metabolômica), e utilizada para auxiliar no entendimento das vias metabólicas associadas a iniciação e progressão das DII. Esta mostrou-se aplicável na separação de grupos saudáveis e entre grupos de modelo animal

empregados a diferentes subtipos da doença, além de fornecer importantes informações sobre o desenvolvimento da mesma ⁹⁰. Nesse aspecto, essa análise tem demonstrado grandes avanços na identificação de alterações metabólicas e há uma tendência em torná-la uma ferramenta preditiva pois, estas assinaturas metabólicas podem auxiliar no diagnóstico precoce de doenças ⁹¹.

1.3 Suplementação com proteína do soro de leite e seu impacto nas DII

Apesar de não existir consenso sobre o perfil da microbiota associado à colite, diferentes estratégias têm sido utilizadas para auxiliar na modulação desse ecossistema, objetivando a redução dos sintomas da doença. Entre as estratégias não farmacológicas utilizadas para modular a microbiota destacam-se a restrição calórica, a ingestão de microrganismos probióticos e de substâncias prebióticas e a suplementação com vitamina D ⁷². Alguns estudos também evidenciam um efeito positivo da ingestão de dietas contendo proteínas específicas, como β -caseínas, proteínas do soro de leite e peptídeos hidrolisados presentes em produto lácteos, como adjuvante no controle da colite ^{67,92}.

O soro de leite bovino possui aminoácidos essenciais com diversos benefícios na regressão de DII. Entre eles estão a histidina (associado à remissão de danos ocorridos na parede do cólon e diminuição da citocina IL-6), a metionina (envolvido na produção de glutathione, um potente antioxidante)

e a treonina (essencial para a manutenção da integridade da mucosa intestinal)^{93,94}. Outros aminoácidos como leucina, isoleucina e valina também possuem propriedades anti-inflamatórias e podem reduzir alguns dos sintomas da DII^{95,96}. Martínez-Maqueda et al. (2013) concluíram que a ingestão regular de um concentrado de soro de leite hidrolisado e rico em β -Lg estimula a secreção de mucina e a expressão gênica de mucina 5AC *in vitro*, mostrando potencial para melhora na saúde gastrointestinal⁹⁷. Além disso a β -Lg e a α -La demonstraram conter sequências de peptídeos bioativos com funções imunomoduladoras⁹⁸.

O mecanismo de ação relacionado ao efeito protetor das proteínas do soro de leite envolve a modulação da microbiota e do sistema imune, bem como a produção de metabólitos. Algumas bactérias anaeróbias presentes no cólon são capazes de fermentar aminoácidos, produzindo ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), como acetato, butirato e propionato. Tais metabólitos estão envolvidos em diferentes processos fisiológicos, incluindo a modulação do metabolismo energético, da resposta inflamatória e a produção de neurotransmissores⁹⁹. Ademais, esses estão também envolvidos na manutenção da fisiologia intestinal, do fígado e de tecidos periféricos¹⁰⁰. Entretanto, considerando que o principal substrato para a produção de AGCC são os carboidratos complexos não digeríveis, a sua produção a partir de aminoácidos está relacionada à quantidade e qualidade da proteína ingerida na dieta e a sua composição de aminoácidos^{99,100}. A contribuição de cada um desses fatores na produção de AGCC não é completamente conhecida, sendo recomendada a realização de estudos que avaliem o efeito da fonte proteica

e dos processamentos aplicados no perfil de aminoácidos, bem como a sua relação com os metabólitos gerados ¹⁰⁰.

Entretanto, os benefícios obtidos pelo consumo dos peptídeos bioativos presentes no soro são influenciados por diversos aspectos, como protocolo de indução da DII, quantidade ingerida e método de produção ^{101,102}. Com isso, o efeito das proteínas do soro do leite no controle de sintomas e auxílio da remissão da CU ainda é controverso. No Quadro 2 são apresentados resultados de estudos publicados entre 2016-2022, que avaliaram o uso de proteína de soro de leite ou derivados no controle de DII.

Quadro 2 – Efeitos da intervenção com componentes do leite e seus derivados em modelos animais de DII.

Estratégia não farmacológica	Concentração do ingrediente	Modelo <i>in vivo</i> , duração do estudo e forma de consumo	Modelo da indução da DII	Principais resultados	Principais conclusões	Referência
Lactoferrina saturada de ferro derivada de leite bovino	1,25% da ração	Camundongos machos BALB/c (7–12 semanas de vida).	4% DSS (adicionado em água potável com 10% sacarose)	O colostro de soro de leite foi o mais eficaz na redução da atividade de mieloperoxidase	Primeiro artigo publicado com objetivo de avaliar estes componentes do	66
Angiogenina	0,3% da ração	Duração: 24 dias.	adicionado em	(enzima derivada de leucócitos que catalisa a formação	leite em DII. Cada um dos	
Osteopontina	0,3% da ração	Consumo <i>ad libitum</i> . Adição dos compostos	água potável do quinto a		componentes	
Colostro de soro de leite	1,25% da ração					

Extrato de caseína em pó (Nestlé®)	4,2% da ração	na ração levando em conta volume final da ração e peso do composto (peso/volume).	sétimo dia de protocolo.	de numerosas espécies reativas oxidantes) e redução do IAD.	apresentou benefícios diferenciados no modelo de estudo.	
Gordura do leite enriquecida com <i>cis-9,trans-11 conjugated linoleic acid</i> (CLA)	2% da ração					
Soro de leite de cabra obtido após coagulação mista (enzimática e ácida) de leite de cabra	1 g/kg/dia, dissolvido em 1 mL de água potável 2 g/kg/dia, dissolvido em 1	Ratos <i>Wistar</i> fêmeas (peso médio de 220 ± 20 g)	CU induzida por por enema retal de solução contendo	Os tratamentos com soro de leite de cabra e SAZ causaram efeitos benéficos (parâmetros	Os autores sugerem que o soro de leite de cabra pode trazer benefícios durante o	64

pasteurizada, seguida de desidratação por <i>spray drying</i>	mL de água potável 4 g/kg/dia, dissolvido em 1 mL de água potável	Duração: 17 dias. Consumo por gavagem oral.	ácido acético a 10%	histológicos preservados, diminuição do IAD e atividades enzimáticas).	tratamento da inflamação intestinal. Destaque para o efeito nas doses de 2 e 4 g/kg.	
Sulfasalazina (SAZ)	250 mg/kg/dia, dissolvido em 1 mL de água potável					
Mesalamina	4800 mg/dia					
Soro de leite de cabra obtido após coagulação mista (enzimática e	4 g/kg/dia, dissolvido em 100 µL de água potável	Camundongos machos CD1 (peso médio de 3 ± 2 g).	CU induzida por DNBS (2,5 mg dissolvido em 100 µl com	O soro de leite de cabra inibiu a secreção de citocinas pró-	Recomenda o uso de soro de leite de cabra	65

ácida) de leite de cabra pasteurizada, seguida de <i>spray drying</i>		Duração: 17 dias. Consumo por gavagem oral.	50% de etanol) utilizando cateter intracolônico no 13º dia.	inflamatórias e preservou parâmetros histológicos.	para tratamento de DII.	
Proteína de leite 14% (P14)	140 g/kg de ração	Camundongos machos C57BL/6 (7 semanas de vida) Duração: 28 dias. Consumo <i>ad libitum</i> .	CU induzida por 3,5% DSS adicionado em água potável do primeiro a sétimo dia de protocolo.	P30 apresentou os melhores resultados em relação à restauração da barreira do cólon e outras funções para controle da doença.	Recomenda analisar um valor limite de ingestão de proteína para evitar efeitos negativos.	67
Proteína de leite 30% (P30)	300 g/kg de ração					
Proteína de leite 53% (P53)	530 g/kg de ração					

Fonte: Elaborado pelo autor. Notas: ¹mistura de proteínas do leite contendo soro de leite e caseína na porção 20:80,
DSS: Dextran sulfato de sódio, DNBS: ácido dinitrobenzeno sulfônico.

Os resultados obtidos nos estudos do Quadro 2 foram inconsistentes entre si, provavelmente devido aos protocolos adotados, que variaram em relação à concentração do indutor (DSS - 3,5% e 4%) ^{66,67} e ao tempo de indução (entre quatro e cinco dias) ^{65,66,67}.

A concentração de proteínas do soro de leite administradas diariamente também é um fator discrepante. Araújo et al., (2016)⁶⁵ restringiram a administração diária por gavagem oral entre 1 e 4 g/Kg de peso corpóreo, enquanto Vidal-Iletjós et al. (2019)⁶⁷ e Kanwar et al. (2016)⁶⁶ optaram pela ingestão *ad libitum*, o que certamente influenciou os resultados obtidos.

Diretrizes de ingestão diária de proteínas para humanos, como as propostas pela *European Society for Clinical Nutrition and Metabolism* (ESPE), afirmam que não há evidências de que pacientes com DII precisem de mais proteína diária do que pessoas saudáveis (sendo essa em torno de 1g/Kg)¹⁰³. No entanto, a ESPE destacou que aumento no consumo de proteína pode ser necessário devido à perda de apetite e ingestão dietética restrita dos pacientes, justificando um aumento na oferta para 1,2 ou 1,5 g/kg de peso corporal ¹⁰³.

Dietas contendo proteína do soro de leite têm sido associadas ao controle dos sintomas e à redução do risco da colite. No primeiro caso, a ingestão da proteína do soro de leite foi feita de forma concomitante ou somente após a indução da doença ^{66,67} e no segundo, o consumo é iniciado antes do estabelecimento da colite ^{64,65}.

Outra questão a ser discutida é como os diferentes produtos derivados do soro de leite influenciam os efeitos observados em modelos animais

induzidos à DII. Kanwar, et al. (2016) relataram como sendo o primeiro estudo que comparou o efeito de diferentes componentes do leite na colite induzida por DSS em camundongos. Cada produto lácteo mostrou respostas positivas diferentes no modelo de estudo ⁶⁶. Os melhores resultados foram obtidos com a gordura do leite enriquecida com *cis-9,trans-11 conjugated linoleic acid* (CLA) – que ajudou a restaurar o peso e inibiu as citocinas inflamatórias e os danos no epitélio – e o extrato de caseína em pó (Nestlé®) que diminuiu os efeitos clínicos e o escore inflamatório. Os autores enfatizaram a necessidade de mais estudos para entender como os suplementos podem funcionar em sinergia para tratar a DII.

Araújo et al. (2016) e (2017) publicaram outras descobertas sobre esse tema. O primeiro estudo comparou o efeito de fármacos anti-inflamatórios comumente usados no tratamento de DII (sulfasalazina e mesalamina) e do soro de leite de cabra em diferentes concentrações em modelo com ratos e agente indutor por enema retal ^{64,65}. O soro de leite de cabra trouxe benefícios na remissão da colite induzida em animais. Já em 2017, esse grupo de pesquisa aplicou a concentração de soro de leite que obteve melhores respostas (4 g/kg/dia) em modelo com camundongos machos CD1 e também obteve respostas positivas no seu auxílio na regressão de colite ulcerativa. Nesse caso o agente indutor foi químico por ácido dinitrobenzeno sulfônico (DNBS).

Por fim, em 2019, Vidal-Lletjós e colaboradores também verificaram o efeito do consumo de diferentes porcentagens de produtos lácteos (sendo nesse caso, com porção 20:80 de proteínas do soro do leite e caseína,

respectivamente) na remissão da colite ⁶⁷. Os autores optaram por ingestão *ad libitum*, o que correspondeu a presença de 140 g a 530 gramas do produto por quilo de ração oferecida aos animais. Os principais resultados relacionados ao consumo desses suplementos foram a manutenção da barreira do cólon e modulação da microbiota intestinal.

Apesar das discrepâncias relatadas, em geral os resultados obtidos nos diferentes protocolos foram promissores, com sinais de restauração da barreira intestinal, e redução de escores clínicos, evidenciando a importância da continuação dos estudos utilizando esta abordagem.

Todos os estudos apresentados no Quadro 2 avaliaram produtos obtidos por processo térmico tradicional. No entanto, alguns processos não térmicos, como UV-C e outros tratamentos, podem induzir modificações físicas e a produção de compostos bioativos em soro de leite e gerar um impacto positivo na função corporal ¹⁰⁴.

Até o presente momento não foram encontradas publicações acerca do uso de soro de leite bovino tratado por UV-C em DII. O presente estudo faz parte do projeto temático “*Novel Aging - Technologies and solutions to manufacture novel dairy products for healthy aging*” (Acordos de Cooperação / IFD - Innovation Foundation Denmark) (FAPESP 2017/01189-0), sediado no IQSC - USP - São Carlos, em parceria com a EMBRAPA - São Carlos, University of Copenhagen - Dinamarca, e FCF - UNESP – Araraquara, que avaliou os efeitos do tratamento UV-C na qualidade da proteína do soro de leite e o uso desse suplemento para manutenção da saúde. A partir dos resultados iniciais, que evidenciaram que o tratamento da proteína do soro de

leite com UV-C gerou peptídeos bioativos e melhorou a sua digestão, nossa hipótese é que esse tratamento não-térmico possibilitará a obtenção de um suplemento alimentar com capacidade de auxiliar no controle da colite ¹⁰⁵.

2. OBJETIVOS GERAIS

O objetivo principal do estudo foi avaliar o efeito do consumo de proteína de soro de leite submetida ao tratamento de UV-C na colite aguda induzida em camundongos.

Objetivos específicos:

Comparar grupos de estudo por meio de avaliação de:

1. Índice de Atividade da Doença (IAD);
2. Determinação da concentração de citocinas pró e anti-inflamatórias.
3. Determinação dos metabólitos no plasma e rins por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Prótons (RMN de ¹H);
4. Variação da relação peso e comprimento (da junção ileocecal à margem anal);
5. Histomorfologia do cólon dos animais;
6. Determinação da composição da microbiota fecal ao longo do protocolo experimental.

Destaca-se que durante doutorado foi realizado um estágio no exterior pelo programa Capes PDSE (Processo 88881.624770/2021-01), sob a supervisão do Dr Ilario Ferrocino (*Microbiology and Food Science laboratory - University of Turin – DISAFA - Itália*), de novembro de 2021 a abril de 2022. Neste estágio foram realizadas análises dos dados obtidos no sequenciamento realizado no Brasil, utilizando técnicas avançadas de bioinformática.

2.1. Organização dos capítulos

Os capítulos 1 e 2 visaram apresentar e discutir os objetivos específicos definidos nos tópicos anteriores de 1 a 3 e de 4 a 6, respectivamente.

3. REFERÊNCIAS

- 1 SWAISGOOD, H. E. Características do Leite. *In*: DAMODARAN, S.; PARKIN, K.. **Química de Alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. p. 689–717.
- 2 GUETOUACHE, M.; GUESSAS, B.; MEDJEKAL, S. Composition and nutritional value of raw milk. **Issues in Biological Sciences and Pharmaceutical Research**, v. 2, n. 10, p. 115-122, 2014.
- 3 LO, Y. M.; ARGIN-SOYSAL, S.; HSU, C. Bioconversion of whey lactose into microbial exopolysaccharides. **Bioprocessing for value-added products from renewable resources**, p. 559-583, 2007.
- 4 FARRELL JR, H. M. *et al.* Nomenclature of the proteins of cows' milk—Sixth revision. **Journal of dairy science**, v. 87, n. 6, p. 1641-1674, 2004.
- 5 ORDÓÑEZ, J. A. *et al.* Características gerais do leite e componentes fundamentais. *In*: ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de Alimentos: Volume 2 - Alimentos de Origem Animal**. 1. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 279.
- 6 BOLAND M., 3 - Whey proteins. *In*: Phillips G.O., Williams P.A. , **Handbook of Food Proteins**, 1. Ed. Woodhead Publishing, 2011. p. 30-35.

- 7 BREW, K. α -Lactalbumin. *In*: FOX, P.F., MCSWEENEY, P.L.H. **Advanced Dairy Chemistry—1 Proteins**. Boston: Springer, 2003. p 387-419.
- 8 ABD EL-SALAM, M. H.; EL-SHIBINY, S.; SALEM, A. Factors affecting the functional properties of whey protein products: A review. **Food Reviews International**, v. 25, n. 3, p. 251–270, 2009.
- 9 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n. 94, de 18 de setembro de 2020**. Diário Oficial da União: seção 1, edição 182, página 5, 2020.
- 10 SCHMIDT, R. H.; PACKARD, V. S.; MORRIS, H. A. Effect of processing on whey protein functionality. **Journal of Dairy Science**, v. 67, n. 11, p. 2723-2733, 1984.
- 11 TUNICK, M. H. Whey protein production and utilization: a brief history. *In*: ONWULATA, C.I.; HUTH P.J. **Whey processing, functionality and health benefits**, 1 ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2008. p. 1-13.
- 12 MARWAHA, S. S.; KENNEDY, J. F. Whey—pollution problem and potential utilization. **International journal of food science & technology**, v. 23, n. 4, p. 323-336, 1988.
- 13 SISO, MI González. The biotechnological utilization of cheese whey: a review. **Bioresource technology**, v. 57, n. 1, p. 1-11, 1996.
- 14 RAHAMAN, T.; VASILJEVIC, T.; RAMCHANDRAN, L. Effect of processing on conformational changes of food proteins related to allergenicity. **Trends in Food Science & Technology**, v. 49, p. 24–34, 2016.
- 15 RANKIN, S. A. et al. The application of alkaline phosphatase assays for the validation of milk product pasteurization. **Journal of dairy science**, United States, v. 93, n. 12, p. 5538–5551, 2010.
- 16 RUDLOFF, S.; LONNERDAL, B. Solubility and digestibility of milk proteins in infant formulas exposed to different heat treatments. **Journal of pediatric gastroenterology and nutrition**, United States, v. 15, n. 1, p. 25–33, 1992.
- 17 DE TOLEDO GUIMARÃES, J. *et al.* Non-thermal emerging technologies and their effects on the functional properties of dairy products. **Current Opinion in Food Science**, v. 22, p. 62-66, 2018.

- 18 RIBEIRO, Nathalia G. *et al.* Dairy foods and novel thermal and non-thermal processing: A bibliometric analysis. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 76, p. 102934, 2022.
- 19 DUMAY, E. *et al.* Technological aspects and potential applications of (ultra) high-pressure homogenisation. **Trends in Food Science & Technology**, v. 31, n. 1, p. 13–26, 2013.
- 20 YU, L. J.; NGADI, M.; RAGHAVAN, G. S. V. Effect of temperature and pulsed electric field treatment on rennet coagulation properties of milk. **Journal of Food Engineering**, v. 95, n. 1, p. 115–118, 2009.
- 21 DE CASTRO, R. J. S. *et al.* Whey protein as a key component in food systems: Physicochemical properties, production technologies and applications. **Food Structure**, v. 14, p. 17–29, 2017.
- 22 NAIK, L.; SHARMA, R.; MANJU, G. Application of High Pressure Processing Technology for Dairy Food Preservation - Future Perspective: A Review. **Journal of Animal Production Advances**, v. 3, n. 8, p. 232, 2013.
- 23 ZEECE, M.; HUPPERTZ, T.; KELLY, A. Effect of high-pressure treatment on in-vitro digestibility of β -lactoglobulin. **Innovative food science & emerging technologies**, v. 9, n. 1, p. 62–69, 2008.
- 24 ARSHAD, R. N. *et al.* Electrical systems for pulsed electric field applications in the food industry: An engineering perspective. **Trends in Food Science and Technology**, v. 104, p. 1–13, 2020.
- 25 XIANG, B. Y. *et al.* Pulsed electric field-induced structural modification of whey protein isolate. **Food and Bioprocess Technology**, v. 4, n. 8, p. 1341–1348, 2011.
- 26 SCHOTTROFF, F. *et al.* Pulsed electric field preservation of liquid whey protein formulations—Influence of process parameters, pH, and protein content on the inactivation of *Listeria innocua* and the retention of bioactive ingredients. **Journal of food engineering**, v. 243, p. 142–152, 2019.
- 27 CHÁVEZ-MARTÍNEZ, A. *et al.* Low and High-Intensity Ultrasound in Dairy Products: Applications and Effects on Physicochemical and Microbiological Quality. **Foods**, v. 9, n. 11, p. 1–27, 2020.
- 28 JAMBRAK, A. R. *et al.* Effect of ultrasound treatment on solubility and foaming properties of whey protein suspensions. **Journal of Food Engineering**, v. 86, n. 2, p. 281–287, 2008.

- 29 POLLOCK, A. M. et al. Pulsed light destruction kinetics of *L. monocytogenes*. **LWT - Food Science and Technology**, v. 84, p. 114–121, 2017.
- 30 SUN, W.-W. et al. Properties of whey protein isolate–dextran conjugate prepared using pulsed electric field. **Food Research International**, v. 44, n. 4, p. 1052–1058, 2011.
- 31 SIDDIQUE, M. A. B.; MARESCA, P.; PATARO, G.; FERRARI, G. Influence of pulsed light treatment on the aggregation of whey protein isolate. **Food Research International**, v. 99, p. 419–425, 2017.
- 32 MARTINI, S.; POTTER, R.; WALSH, M. K. Optimizing the use of power ultrasound to decrease turbidity in whey protein suspensions. **Food Research International**, v. 43, n. 10, p. 2444–2451, 2010.
- 33 SHEN, X.; SHAO, S.; GUO, M. Ultrasound-induced changes in physical and functional properties of whey proteins. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 2, p. 381–388, 2017.
- 34 FERNÁNDEZ, E. et al. Effect of pulsed-light processing on the surface and foaming properties of β -lactoglobulin. **Food Hydrocolloids**, v. 27, n. 1, p. 154–160, 2012.
- 35 SIDDIQUE, M. A. B.; MARESCA, P.; PATARO, G.; FERRARI, G. Effect of pulsed light treatment on structural and functional properties of whey protein isolate. **Food Research International**, v. 87, p. 189–196, 2016.
- 36 GAYÁN, E.; CONDÓN, S.; ÁLVAREZ, I. Biological Aspects in Food Preservation by Ultraviolet Light: a Review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 7, n. 1, p. 1–20, 2014.
- 37 KRISTO, E.; HAZIJAJ, A.; CORREDIG, M. Structural changes imposed on whey proteins by UV irradiation in a continuous UV light reactor. **Journal of agricultural and food chemistry**, United States, v. 60, n. 24, p. 6204–6209, 2012.
- 38 LÓPEZ-MALO, A.; PALOU, E. Ultraviolet Light and Food Preservation. In: BARBOSA-CANOVAS G.V., TAPIA M.S., CANO M. P. **Novel food processing technologies**. Madrid: CRC, 2004. p. 408–409.
- 39 ADAMS, M. R.; MOSS, M. O. **Food Microbiology**. Cambridge: Royal Society of chemistry, 1995.
- 40 KOUTCHMA, T. N.; FORNEY, L. J.; MORARU, C. I. Principles and Applications of UV Technology. In: SUN, D.-W. **Ultraviolet Light in**

Food Technology: Principles and Applications. 2. ed. New York: Taylor & Francis Group, 2009. p. 300.

- 41 CAPPOZZO, J. C.; KOUTCHMA, T.; BARNES, G. Chemical characterization of milk after treatment with thermal (HTST and UHT) and nonthermal (turbulent flow ultraviolet) processing technologies. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 8, p. 5068–5079, 2015.
- 42 BUHLER, S. *et al.* UV irradiation as a comparable method to thermal treatment for producing high quality stabilized milk whey. **LWT**, v. 105, p. 127–134. 2019.
- 43 NEVES-PETERSEN, Maria Teresa; GAJULA, Gnana Prakash; PETERSEN, Steffen B. UV light effects on proteins: from photochemistry to nanomedicine. **Molecular photochemistry-various aspects**, p. 125-158, 2012.
- 44 YAGI, M. *et al.* Reversible Unfolding of Bovine β -Lactoglobulin Mutants without a Free Thiol Group. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 47, p. 47009–47015, 2003.
- 45 KRAULIS, P. J. MOLSCRIPT. A program to produce both detailed and schematic plots of protein structures. **Journal of Applied Crystallography**, v. 24, n. 5, p. 947–950, 1991.
- 46 CARDOSO, Daniel R. *et al.* UV-C Light Promotes Reductive Cleavage of Disulfide Bonds in B-Lactoglobulin Improving Digestibility and Release of Bioactive Peptides. **Available at SSRN 4189832**. No prelo.
- 47 TAKAMATSU, M. *et al.* IDO1 plays an immunosuppressive role in 2,4,6-trinitrobenzene sulfate-induced colitis in mice. **Journal of immunology**, United States, v. 191, n. 6, p. 3057–3064, 2013.
- 48 TASHITA, C. *et al.* Kynurenine plays an immunosuppressive role in 2,4,6- trinitrobenzene sulfate-induced colitis in mice. **World journal of gastroenterology**, United States, v. 26, n. 9, p. 918–932, 2020.
- 49 DA SILVA, J. F. **Processamento UV-C de proteínas do soro do leite: Efeitos na estrutura e digestibilidade**. Dissertação (Mestre em Ciências), Universidade de São Paulo, Instituto de Química de São Carlos, São Carlos, 2019. Disponível em: Acesso em: <https://doi.org/10.11606/D.75.2019.tde-03102019-090331>. Acesso em: 18 jan. 2023.
- 50 YOUNIS, N.; ZARIF, R.; MAHFOUZ, R. Inflammatory bowel disease: between genetics and microbiota. **Molecular Biology Reports**, v. 47, n. 4, p. 3053–3063, 2020.

- 51 ALATAB, Sudabeh *et al.* The global, regional, and national burden of inflammatory bowel disease in 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. **The Lancet gastroenterology & hepatology**, v. 5, n. 1, p.17-30, 2020.
- 52 KOBAYASHI, T. *et al.* Ulcerative colitis (Primer). **Nature Reviews: Disease Primers**, v. 6, n. 1, 2020.
- 53 GAJENDRAN, Mahesh *et al.* A comprehensive review and update on ulcerative colitis. **Disease-a-month**, v. 65, n. 12, p. 100851, 2019.
- 54 ARMUZZI, A.; LIGUORI, G. Quality of life in patients with moderate to severe ulcerative colitis and the impact of treatment: A narrative review. **Digestive and Liver Disease**, v. 53, n. 7, p. 803-808, 2021.
- 55 CARUSO, R.; LO, Bernard C.; NÚÑEZ, G. Host–microbiota interactions in inflammatory bowel disease. **Nature Reviews Immunology**, v. 20, n. 7, p. 411-426, 2020.
- 56 ZHANG, Ming *et al.* Interactions between intestinal microbiota and host immune response in inflammatory bowel disease. **Frontiers in Immunology**, v. 8, p. 942, 2017.
- 57 BÜRGER, M.; SCHMIDT, C.; STALLMACCH, A. Medical Therapy of Active Ulcerative Colitis. *Viszeralmedizin: Gastrointestinal Medicine and Surgery*, [s. l.], v. 31, n. 4, p. 236–245, 2015.
- 58 HENDRICKSON, B. A.; GOKHALE, R.; CHO, J. H. Clinical aspects and pathophysiology of inflammatory bowel disease. **Clinical microbiology reviews**, United States, v. 15, n. 1, p. 79–94, 2002.
- 59 ZABANA, Yamile *et al.* Relevant infections in inflammatory bowel disease, and their relationship with immunosuppressive therapy and their effects on disease mortality. **Journal of Crohn's and Colitis**, v. 13, n. 7, p. 828-837, 2019.
- 60 LICHTENSTEIN, Gary R. *et al.* American Gastroenterological Association Institute medical position statement on corticosteroids, immunomodulators, and infliximab in inflammatory bowel disease. **Gastroenterology**, v. 130, n. 3, p. 935-939, 2006.
- 61 CAI, Zhaobei; WANG, Shu; LI, Jiannan. Treatment of inflammatory bowel disease: a comprehensive review. **Frontiers in Medicine**, v. 8, p. 765474, 2021.
- 62 RANDHAWA, P. K.; SINGH, K.; SINGH, N.; JAGGI, A. S. A review on chemical-induced inflammatory bowel disease models in rodents. **The Korean journal of physiology & pharmacology : official journal of**

- the Korean Physiological Society and the Korean Society of Pharmacology**, Korea (South), v. 18, n. 4, p. 279–288, 2014.
- 63 AL-OMARI, M. M. *et al.* Camel milk whey inhibits inflammatory colorectal cancer development via down regulation of pro-inflammatory cytokines in induced AOM/DSS mouse model. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 31, n. 4, p. 256–262, 2019.
 - 64 ARAÚJO, D. F. S. *et al.* Goat whey ameliorates intestinal inflammation on acetic acid-induced colitis in rats. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 12, p. 9383–9394, 2016.
 - 65 ARAÚJO, D. F. S. *et al.* Intestinal anti-inflammatory effects of goatwhey on DNBS-induced colitis in mice. **PloS one**, v. 12, n. 9, p.e0185382–e0185382, 2017.
 - 66 KANWAR, J. R. *et al.* Comparative activities of milk components in reversing chronic colitis. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 4, p. 2488–2501, 2016.
 - 67 VIDAL-LLETJÓS, S. *et al.* Dietary Protein Intake Level Modulates Mucosal Healing and Mucosa-Adherent Microbiota in Mouse Model of Colitis. **Nutrients**, v. 11, n. 3, p. 514, 2019.
 - 68 EICHELE, D. D.; KHARBANDA, K. K. Dextran sodium sulfate colitis murine model: An indispensable tool for advancing our understanding of inflammatory bowel diseases pathogenesis. **World journal of gastroenterology**, v. 23, n. 33, p. 6016–6029, 2017.
 - 69 KIM, J. J.; SHAJIB, M. S.; MANOCHA M. M.; KHAN, W. I. Investigating Intestinal Inflammation in DSS-induced Model of IBD. **JoVE**, n. 60, p. e3678, 2012.
 - 70 CORNICK, S.; TAWIAH, A.; CHADEE, K. Roles and regulation of the mucus barrier in the gut. **Tissue barriers**, United States, v. 3, n. 1–2, p. e982426, 2015.
 - 71 MUKHOPADHYA, I.; HANSEN, R.; EL-OMAR, E. M.; HOLD, G. L. IBD-what role do Proteobacteria play? **Nature reviews. Gastroenterology & hepatology**, England, v. 9, n. 4, p. 219–230, 2012.
 - 72 CELIBERTO, L. S. *et al.* Inflammatory bowel disease and immunonutrition: novel therapeutic approaches through modulation of diet and the gut microbiome. **Immunology**, England, v. 155, n. 1, p. 36–52, 2018.
 - 73 VALDES, A. M.; WALTER, J.; SEGAL, E.; SPECTOR, T. D. Role of the gut microbiota in nutrition and health. **BMJ**, v. 361, 2018.

- 74 HEENAN, *et al.* Irritable bowel syndrome and the gut microbiota. **Journal of the Royal Society of New Zealand**, v. 6758, 2020.
- 75 ARUMUGAM, M. *et al.* Enterotypes of the human gut microbiome. **Nature**, England, v. 473, n. 7346, p. 174–180, 2011.
- 76 COSTEA, P. I. *et al.* Enterotypes in the landscape of gut microbial community composition. **Nature Microbiology**, v. 3, n. 1, p. 8–16, 2018.
- 77 KNIGHTS, D. *et al.* Rethinking “enterotypes.” **Cell Host & Microbe**, v. 16, n. 4, p. 433–437, 2014.
- 78 ELZINGA, J.; OOST J. V. D.; VOS W. M.; SMIDT H. The use of defined microbial communities to model host-microbe interactions in the human gut. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 83, n. 2, p. e00054-18, 2019.
- 79 MORAN, N. A.; OCHMAN, H.; HAMMER, T. J. Evolutionary and ecological consequences of gut microbial communities. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 50, n. 1, p. 451, 2019.
- 80 MALLOTT, E. K.; AMATO, K. R. Host specificity of the gut microbiome. **Nature Reviews Microbiology**, v. 19, n. 10, p. 639-653, 2021.
- 81 HARRIS, K. G.; CHANG, E. B. The intestinal microbiota in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases: new insights into complex disease. **Clinical science**, England, v. 132, n. 18, p. 2013–2028, 2018.
- 82 KOSTIC, Aleksandar D.; XAVIER, Ramnik J.; GEVERS, Dirk. The microbiome in inflammatory bowel disease: current status and the future ahead. **Gastroenterology**, v. 146, n. 6, p. 1489-1499, 2014.
- 83 DISTRUTTI, E.; MONALDI, L.; FIORUCCI S. Gut microbiota role in irritable bowel syndrome: New therapeutic strategies. **World journal of gastroenterology**, v. 22, n. 7, p. 2219, 2016.
- 84 DAI, X.; SHEN, L.; LU, P. Advances and trends in omicstechnology development. **Frontiers in Medicine**, p. 1546, 2022.
- 85 QUAIST, M. *et al.* Comparative Analysis of Metagenomics and Metataxonomics for the Characterization of Vermicompost Microbiomes. **Frontiers in microbiology**, v. 13, 2022.
- 86 WHITTAKER, Robert H. Evolution and measurement of species diversity. **Taxon**, v. 21, n. 2-3, p. 213-251, 1972.
- 87 JI, B.; NIELSEN, J. New insight into the gut microbiome through metagenomics. **Adv Genomics Genet**, v. 5, p. 77–91, 2015.

- 88 JOVEL, J. *et al.* Characterization of the gut microbiome using 16S or shotgun metagenomics. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 459, 2016.
- 89 BHARTI, S. K.; ROY, R. Quantitative ¹H NMR spectroscopy. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 35, p. 5-26, 2012.
- 90 STORR, M.; VOGEL, Hans J.; SCHICHO, R. Metabolomics: is it useful for IBD?. **Current opinion in gastroenterology**, v. 29, n. 4, p. 378, 2013.
- 91 ALDARS-GARCÍA, L.; GISBERT, J. P.; CHAPARRO, M. Metabolomics Insights into Inflammatory Bowel Disease: A Comprehensive Review. **Pharmaceuticals**, v. 14, n. 11, p. 1190, 2021.
- 92 SANTIAGO-LOPEZ, L.; GONZALEZ-CORDOVA, A. F.; HERNANDEZ-MENDOZA, A.; VALLEJO-CORDOBA, B. Potential Use of Food Protein- Derived Peptides in the Treatment of Inflammatory Diseases. **Protein and peptide letters**, Netherlands, v. 24, n. 2, p. 137–145, 2017.
- 93 ALMEIDA, C. C.; ALVARES, T. S.; COSTA, M. P.; CONTE-JUNIOR, C. A. Protein and Amino Acid Profiles of Different Whey Protein Supplements. **Journal of Dietary Supplements**, v. 13, n. 3, p. 313–323, 2016.
- 94 LIU, Y.; WANG, X.; HU, C. A. A. Therapeutic potential of aminoacids in inflammatory bowel disease. **Nutrients**, v. 9, n. 9, p. 1–18, 2017.
- 95 LAGRANGE, V.; CLARK, D. C. Nutritive and Therapeutic Aspects of Whey Proteins. *In*: DEETH, H. C.; BANSAL, N. **Whey Proteins: From Milk to Medicine**. 1 ed. Elsevier Inc., 2019. p 549-577.
- 96 SMITHERS, G. W. Whey and whey proteins—From ‘gutter-to-gold’. **International dairy journal**, v. 18, n. 7, p. 695-704, 2008.
- 97 MARTÍNEZ-MAQUEDA, D. *et al.* Effect of β -lactoglobulin hydrolysate and β -lactorphan on intestinal mucin secretion and gene expression in human goblet cells. **Food Research International**, v. 54, n. 1, p. 1287-1291, 2013.
- 98 URISTA, M. C. *et al.* Production and functionality of active peptides from milk. **Food Science and Technology International**, v. 17, n. 4, p. 293-317, 2011.
- 99 SILVA, Y. P.; BERNARDI, A.; FROZZA, R. L. The Role of Short-Chain Fatty Acids From Gut Microbiota in Gut-Brain Communication. **Frontiers in Endocrinology**, v. 11, p. 1–14, 2020.

- 100 PORTUNE, K. J. *et al.* Gut microbiota role in dietary protein metabolism and health- related outcomes: The two sides of the coin. **Trends in Food Science & Technology**, v. 57, 2016.
- 101 DULLIUS, A.; GOETTERT, M. I.; DE SOUZA, C. F. V. Whey protein hydrolysates as a source of bioactive peptides for functional foods Biotechnological facilitation of industrial scale-up. **Journal of Functional Foods**, v. 42, p. 58–74, 2018.
- 102 YADAV, J. S. S. *et al.* Cheese whey: A potential resource to transform into bioprotein, functional/nutritional proteins and bioactive peptides. **Biotechnology Advances**, v. 33, n. 6, p. 756–774, 2015.
- 103 FORBES, A. *et al.* ESPEN guideline: Clinical nutrition in inflammatory bowel disease. *Clinical Nutrition*, v. 36, n. 2, p. 321–347, 2017.
- 104 ESTEGHLAL, S. *et al.* Bridging the knowledge gap for the impact of non-thermal processing on proteins and amino acids. **Foods**, v. 8, n.7, 2019.
- 105 SILVA, J. F.; MORAIS, A. T. B.; SANTOS, W. G.; CARDOSO, D. R. UV-light induced conformational changes in β -lactoglobulin improves digestibility and generation of bioactive peptides. *In*: LA FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS DE LA UNIVERSIDAD ANDRÉS BELLO- UNAB, 2019, Viña del Mar. **Anais** [...] Viña del Mar: La Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Andrés Bello- UNAB, 2019. Disponível em: <http://14elafot.ciq.uchile.cl/Documentos/LIBRO%20DEFINITIVO%20sp.pdf>. Acesso em: 18 jan. 2023.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apoiados nos resultados obtidos nesta pesquisa, pode-se concluir que ambos suplementos auxiliaram na manutenção da microbiota intestinal durante a progressão da doença, porém com diferentes respostas ao longo do processo de inflamação nas vias metabólicas e na microbiota intestinal. Recomenda-se maiores estudos na análise de diferentes concentrações de soro de leite tratado por UV-C para verificar eventuais sobrecargas nas funções renais, mas também avaliando as particularidades nas mudanças da microbiota intestinal.