

# A BIOCONSERVAÇÃO NA INDÚSTRIA DOS LACTICÍNIOS

Incorporar nos lacticínios espécies produtoras de compostos específicos visando a conservação daqueles e a segurança do consumidor



Ana Raquel Madureira

As bactérias lácticas (BLs), tais como as pertencentes aos géneros *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* e *Pediococcus*, são amplamente conhecidas porquanto produtoras de uma grande diversidade de compostos naturais (p.ex. ácidos orgânicos, dióxido de carbono, peróxido de hidrogénio, diacetil, etanol e bacteriocinas) com actividade antagonista sobre a multiplicação e sobrevivência de outras bactérias.

Aquelas BLs sintetizam ácidos láctico, acético e/ou fórmico a partir de produtos de fermentação, os quais, mercê do abaixamento de pH que promovem, criam um ambiente desfavorável ao crescimento de bactérias contaminantes (patogénicos ou degradativas). Algumas daquelas BLs segregam bacteriocinas, que são péptidos ou proteínas de baixa massa molecular, as quais actuam especificamente contra determinadas espécies de bactérias (Tabela 1). A incorporação nos produtos alimentares das referidas BLs, com o objectivo de produzirem estes compostos antimicrobianos, e assim inibir a contaminação pós-produção e aumentar o tempo de prateleira, constitui o âmago da bioconservação.

A capacidade antimicrobiana é uma das propriedades mais procuradas das bactérias probióticas – um grupo específico de

entre as BLs, conhecidas pela sua contribuição proactiva sobre a saúde humana, desde que consumidas regularmente e como parte de uma dieta equilibrada. A sua incorporação em produtos alimentares, com prazos de validade apertados e susceptíveis a contaminação pós-produção, tem vindo a ser profusamente investigada na Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica Portuguesa.

Um dos tipos de matrizes mais interessantes é o requeijão ou produtos similares, enquanto sobremesas ou produtos para barrar. Bactérias probióticas pertencentes aos géneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, quando incorporadas naqueles alimentos, mantiveram, ao longo de um período de armazenamento de 28 dias a 7°C, números de células viáveis suficientemente elevados (i.e. 10<sup>7</sup> UFC – unidades formadoras de colónias/g.) para poderem ser considerados produtos probióticos.

Paralelamente, observaram-se graus muito baixos de contaminação microbiana em relação ao controlo sem estirpes probióticas (Madureira *et al.*, 2005): quando incorporadas num produto alimentar, as bactérias probióticas competem com outras contaminantes, independentemente da concentração a que se encontram estas últimas. Da inspecção da Figura 1 pode constatar-se a inibição de *Bifidobacterium animalis* BB12 sobre *Staphylococcus aureus* e *Salmonella enteritidis*, em meio de cultura sob diferentes níveis de inóculo. Em particular, esta inibição deve-se provavelmente apenas à competição por nutrientes a par da produção de ácidos orgânicos e outros metabolitos inibitórios não peptídicos, visto que na triagem prévia em placa, contendo sobrenadante neutralizado com catalase e tripsina, não foi observado o halo de inibição típico das bacteriocinas.

## MELHORAR A SEGURANÇA ALIMENTAR COM BACTERIOCINAS

As bacteriocinas têm sido amplamente estudadas enquanto potenciais (e valiosas) ferramentas biológicas para melhorar a segurança alimentar. Podem ser incorporadas num alimento sob diversas formas: usando uma preparação de bacteriocina semipurificada ou purificada como ingrediente; incorporando uma mistura previamente fermentada usando uma cultura bacteriana produtora da bacteriocina; ou recorrendo a uma cultura bacteriana substituta, ou como parte da própria cultura



Foto: M. José Pinto/Editorias

de arranque, para produzir a bacteriocina *in-situ* (numa abordagem mais específica de bioconservação).

Uma das bacteriocinas actualmente mais utilizadas como ingrediente é a nisina (Nisaplin™), a qual é produzida pela fermentação de leite magro por *Lactococcus lactis*. Este péptido demonstrou ser bastante efectivo (como aditivo) na prevenção da contaminação e na extensão do período máximo para consumo, principalmente no que refere a lacticínios em que substitui os aditivos químicos normalmente utilizados, p.ex. nitrato de potássio (Chen & Hoover, 2003).

A utilização de culturas produtoras de nisina em alimentos e, em particular, em lacticínios não é viável devido à inibição por parte de algumas culturas bacterianas comerciais empregues na produção de queijo. Este problema foi, até certo ponto, ultrapassado através da concertação das culturas usadas: *Listeria monocytogenes* pode ser inibida pela combinação de *Lactobacillus curvatus* e *Lactococcus lactis* em salsicha (Benkerroum *et al.*, 2005), enquanto espécies de *Carnobacterium* têm-se mostrado eficientes na inibição de *L. monocytogenes* em salmão fumado (Brillet *et al.*, 2004). Várias espécies bacterianas pertencentes aos géneros *Enterococcus*, *Pediococcus* e *Lactobacillus* (e produtoras de bacteriocinas) mostraram-se igualmente eficazes em termos de inibição de *L. monocytogenes*,

quando expostas a condições prevalentes no salmão fumado, como é o caso de elevadas concentrações de sal, baixas temperaturas e atmosfera anaeróbia (Tomé *et al.*, 2008a,b).

Uma alternativa é a utilização de filmes plásticos impregnados com nisina, na sequência das novas tendências mundiais relativas a embalagens activas. Ao envolver salmão fumado, prévia e deliberadamente infectado com *L. monocytogenes*, em filmes plásticos impregnados com 2000 IU/cm<sup>2</sup> de nisina, a viabilidade deste microrganismo sofreu uma queda dramática (Neeto *et al.*, 2008).

A limitação tecnológica mais relevante da nisina é a sua perda de actividade a pH neutro, ao contrário da lactocina 3147 (produzida por uma estirpe da mesma espécie) que mantém a sua actividade naquela gama de pH, sendo ainda termoestável sob pH ácido (McAuliffe *et al.*, 1998). Em queijo Cottage foi observada uma redução de 99,9% de *L. monocytogenes* Scott A em 5 dias a 4°C, quando uma espécie produtora de lactocina 3147 foi usada na sua produção (Ross *et al.*, 2000).

Por outro lado, a capacidade de bioconservação pode ser medida pela diminuição de compostos antinutritivos ou 'tóxicos' promovida pela actividade fermentativa das BLs (Tabela 1). Recorde-se, a este título, que a capacidade de fermentação da lactose e de


**testo 265**

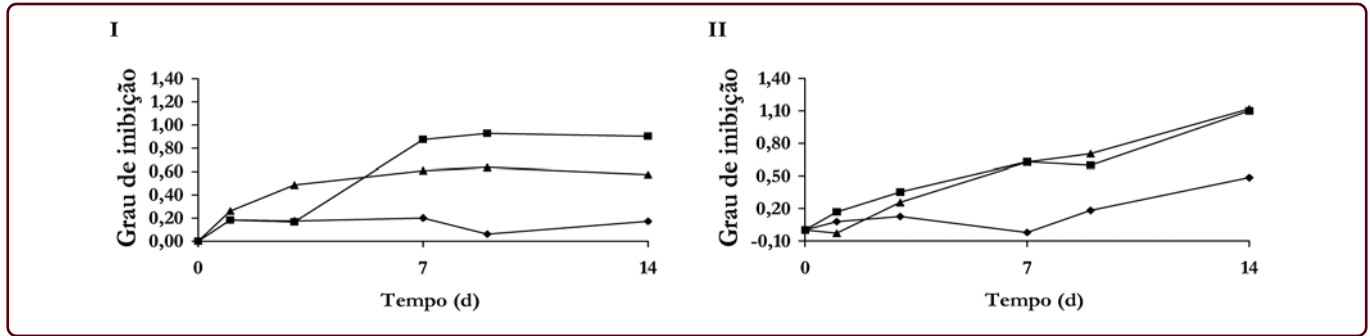

## Medidor da qualidade dos óleos de fritura para cumprimento do HACCP

Testo 265 é um instrumento compacto e portátil para medir a qualidade dos óleos de fritura para o uso diário em cozinhas.

- Medição directa no óleo quente
- Medição dos componentes polares (% TPM) e da temperatura em simultâneo
- Visor óptico de alarme (podem-se fixar 2 valores limites)
- Fácil de limpar
- Sem custos de manutenção nem consumíveis (funciona com 1 pilha AAA)
- Elevada estanqueidade (IP65 com Top Safe)


**Medição fácil e rápida**

**Figura 1** – Graus de inibição de *B. animalis* BB12 sobre *S. enteritidis* (I) e *S. aureus* (II), quando inoculados a  $10^6$ - $10^8$  (▲),  $10^4$ - $10^6$  (★) e  $10^3$ - $10^4$  UFC/ml (◆), durante 14 d a 7°C



remoção da galactose de um produto alimentar é essencial para os consumidores que padecem de intolerância à lactose. Outros exemplos incluem (Holzapfel, 2002) a remoção da rafinose, estaquiose e verbascose da soja (evitando flatulência e cólicas abdominais), do ácido fítico e dos taninos dos cereais e legumes (contribuindo para o aumento da biodisponibilidade dos minerais), e de toxinas naturais, tais como os glicosídeos cianogénicos da cassava e as aminas biogénicas de alimentos fermentados tradicionais (ultrapassando os efeitos secundários associados).

Em resumo: a utilização de espécies capazes de remover compostos indesejáveis (acção passiva) ou produtoras de metabolitos antimicrobianos, incluindo bacteriocinas (acção activa), na obtenção de determinados produtos alimentares, é promissora, servindo simultaneamente de base a modos mais naturais de conservação. A incorporação de espécies produtoras destes compostos nos produtos alimentares parece ser a forma mais efectiva de usufruir de tais capacidades, tanto ao nível da

preservação das características naturais do produto como ao nível económico.

Benkerroum, N. et al. (2005). *Journal of Applied Microbiology* 98, 56-63.  
 Brillet, A. et al. (2004). *Journal of Applied Microbiology* 97, 1029-1037.  
 Chen, H. & Hoover, D. G. (2003). *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2, 82-100.  
 Gomes, A. et al. (2007). In: McElhatton, A. & Marshall, E. (Eds), *Food Safety: A Practical and Case Study Approach*, Springer, pp. 177-201.  
 Holzapfel, W. H. (2002). *International Journal of Food Microbiology* 75, 197-212.  
 Madureira, A. et al. (2005). *Journal of Food Science* 70, 160-165.  
 McAuliffe, D. et al. (1998). *Applied and Environmental Microbiology* 64, 439-445.  
 Neetoo, H. et al. (2008). *International Journal of Food Microbiology* 122, 8-15.  
 Ross, R. P. et al. (2000). *Trends in Food Science and Technology* 11, 96-104.  
 Tome, E. et al. (2008). *Food Control* 19, 535-543.  
 Tomé, E. et al. (2008). *International Journal of Food Microbiology* 121, 285-294.

**A. Raquel Madureira, Ana M. Gomes, Manuela E. Pintado, F. Xavier Malcata**  
 – Escola Superior de Biotecnologia, Universidade Católica Portuguesa

**Tabela 1** – Exemplos seleccionados de culturas microbianas detentoras de funcionalidade específica ao nível da bioconservação (Gomes et al., 2008)

PARÂMETROS	FUNCIONALIDADE	matriz	MICROORGANISMO
<b>CONSERVAÇÃO</b>	<b>Produção de bacteriocinas</b>	Lacticínios Carnes fermentadas	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>Enterococcus</i> spp. <i>Lactobacillus curvatus</i> , <i>Lactobacillus sakei</i> , <i>Pediococcus</i> , <i>Acidilactici</i> , <i>Enterococcus faecium</i>
		Azeitonas fermentadas Legumes fermentados	<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactococcus lactis</i>
<b>TECNOLOGIA</b>	<b>Resistência a bacteriófagos</b>		Várias estirpes
	<b>Prevenção de sobre-acidificação</b> <b>Autólise de cultura microbiana</b>	Mediada por fagos Mediada por bacteriocinas	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>  <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> <i>Lactococcus lactis</i>
<b>NUTRIÇÃO</b>	<b>Produção de oligossacarídeos</b> <b>Produção de vitaminas do grupo B</b>		<i>Lactococcus lactis</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i>
	<b>Libertação de péptidos bioactivos com actividade antimicrobiana</b> <b>Redução dos níveis de compostos antinutricionais e tóxicos</b>	Remoção de galactose e lactose Remoção de rafinose Redução do teor de ácido fítico Inibidor da amilase Produção reduzida de aminas biogénicas	Várias estirpes  <i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i> Várias estirpes <i>L. plantarum</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Enterococcus faecalis</i>