

# PREPARO DE FORMULAÇÕES DE CULTURA *STARTER* DE DIFERENTES ESPÉCIES DE BACTÉRIAS LÁTICAS PARA A ELABORAÇÃO DE PRODUTOS LÁCTEOS FERMENTADOS

**Amanda Pereira Texeira<sup>1</sup>; Elinalva Maciel Paulo<sup>2</sup>; Bruno Pinto da Silva<sup>3</sup>**

1. Bolsista PIBITI/CNPq, Graduanda em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [amandatexeira28@hotmail.com](mailto:amandatexeira28@hotmail.com)
2. Orientadora, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [elinalvamaciel@yahoo.com.br](mailto:elinalvamaciel@yahoo.com.br)
3. Participante do projeto, Graduando em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [brunoslv403@gmail.com](mailto:brunoslv403@gmail.com)

**PALAVRAS-CHAVE:** Bactérias láticas; produtos fermentados; culturas *starters*.

## INTRODUÇÃO

As bactérias láticas (BAL) são largamente utilizadas como cultura *starter* - preparações com micro-organismos vivos ou em estado latente que se desenvolvem pela fermentação de um determinado substrato presente no meio (HAMMES; HERTEL, 1998) - na elaboração de produtos tecnológicos de origem alimentar. No Brasil, poucas indústrias as produzem e comercializam, sendo mais fácil para as pequenas e grandes empresas de produtos fermentados importarem culturas *starters* comercializadas por empresas estrangeiras (SIMONOVÁ *et al.*, 2006).

Há uma tendência atual para usar linhagens “selvagens” isoladas de alimentos fermentados tradicionais e ambientes considerados extremófilos para serem usadas como culturas *starters* em processos de fermentação, pois divergem fortemente de cepas utilizadas como iniciadoras em termos de diversidade de atividades metabólicas sendo bem adaptadas para o crescimento de forma rápida e eficiente, garantindo assim, uma cultura bem selecionada, adaptada e eficaz para a elaboração de produtos fermentáveis de excelente qualidade (PAULO, 2010). Isso justifica o uso desse tipo de linhagem já que há um grande potencial biotecnológico ainda não explorado economicamente.

Portanto, o propósito deste trabalho consiste em preparar formulações de culturas *starters* liofilizadas de bactérias láticas “selvagens” para posteriormente serem utilizadas na elaboração de iogurte, manteiga, Petit suisse, queijo frescal e cottage.

## METODOLOGIA

Foram utilizados isolados de bactérias láticas selvagens pertencentes à coleção de cultura de bactérias láticas do Laboratório de Microbiologia Aplicada e Saúde Pública (LAMASP/UEFS), identificados fenotipicamente pelo sistema API 50CHL (Biomérieux®) e procedentes das amostras de leite de cabra (*Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* LCMH1 e *Enterococcus* sp. LCMH13) e de leite de vaca (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LVMG, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* LVMP e *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* LVMC). Essas bactérias foram ativadas e checadas quanto à purificação de acordo com Paulo (2010), realizando também a técnica de coloração de Gram e o teste de catalase.

Baseado em Costa *et al.* (2009), cada isolado ativo foi inoculado em 4 tubos Falcon contendo 30 mL de caldo MRS, incubados a 35°C/48h e centrifugados após o período, onde os sobrenadantes foram descartados e adicionou-se em cada tubo, contendo o sedimento das culturas, 6 mL do meio de leite desnatado com extrato de levedura e glicose (BADIS *et al.*, 2004). A mistura final, para cada isolado, foi subdividida em alíquotas de 2mL em 12 tubos de penicilina que foram congelados em *ultrafreezer* (-80°C) para posterior liofilização.

As culturas liofilizadas, totalmente desidratadas, apresentando aspecto de pó esbranquiçado foram acondicionadas em frascos de vidro no congelador (-20°C). Em seguida, foram monitoradas mensalmente quanto à viabilidade celular durante 5 meses, de acordo com Paulo (2010).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as culturas de bactérias utilizadas apresentaram características preliminares de bactérias lácticas: resultado negativo para o teste de catalase, sendo Gram-positivas pela coloração de Gram (Figura 1). Os resultados da viabilidade das bactérias lácticas liofilizadas podem ser observados na Tabela 1.

**Tabela 1. Contagem das culturas lácticas liofilizadas em Log UFC/g durante o tempo de armazenamento a -20°C.**

| Bactéria<br>Mês | <i>S. salivarius</i><br>subsp.<br><i>thermophilus</i> | <i>L.</i><br><i>delbrueckii</i><br>subsp.<br><i>bulgaricus</i> | <i>L. lactis</i><br>subsp. <i>lactis</i> | <i>L. lactis</i><br>subsp.<br><i>cremoris</i> | <i>Enterococcus</i><br>sp. |
|-----------------|---|--|--|---|----------------------------|
| Março           | 10,818±0,045  | 11,785±0,010   | 10,897±0,031                             | 10,788±0,025                                  | 9,993±0,015                |
| Abril           | 10,220±0,022  | 11,544±0,005   | 11,206±0,034                             | 10,633±0,029                                  | 10,052±0,073               |
| Maió            | 10,054±0,030  | 11,529±0,004   | 11,154±0,006                             | 10,394±0,095                                  | 9,809±0,024                |
| Junho           | 10,057±0,011  | 11,608±0,004   | 11,412±0,005                             | 10,977±0,019                                  | 9,877±0,028                |
| Julho           | 10,079±0,031  | 11,536±0,007   | 11,149±0,013                             | 10,574±0,025                                  | 9,761±0,064                |

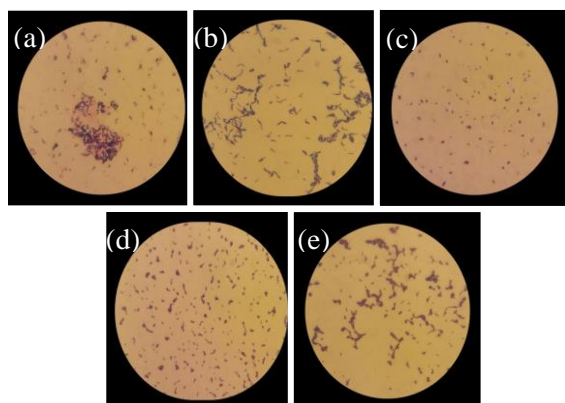
Quando se trata da contagem de bactérias para serem utilizadas como culturas *starters*, o fator mais importante a ser analisado é a ordem de grandeza (número exponencial) quando o valor é expresso em notação científica ou os algarismos antes das casas decimais quando o valor é expresso em Log, isso é observado na própria Legislação onde, por exemplo, para iogurtes a concentração dos cultivos utilizados ativos deve ser de no mínimo  $10^7$  UFC/ml ou g e que em logaritmo se expressa como 7,0 Log UFC/ml ou g (BRASIL, 2007). Dessa forma, a partir dos resultados na Tabela acima é possível notar para cada bactéria, que mesmo com a variação numérica dos decimais, com o passar dos meses não há variação discrepante dos algarismos antes das casas decimais, indicando estabilidade na viabilidade celular das culturas em estudo durante o período de 5 meses após a liofilização. Isto é esperado, pois a liofilização é considerada um método de conservação a longo prazo para micro-organismos, desde que o processo seja realizado de forma eficaz, retirando toda a umidade do meio e mantendo as células estocadas em condições adequadas utilizando ampolas ou frascos de vidro e acondicionamento em ambiente com baixa temperatura, abrigo de oxigênio, luz e contaminantes, como é ressaltado em Morgan *et al.* (2006).

As culturas preparadas podem ser utilizadas na elaboração de vários produtos como os citados a seguir, no entanto para sua aplicação direta é necessário realizar estudos específicos sobre o processo fermentativo para cada um deles:

- Iogurte (SAARELA *et al.*, 2000) - *S. salivarius* subsp. *thermophilus* e *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*;

- Queijo frescal e cottage (BURITI et.al., 2005) - *L. lactis* subsp. *lactis* e *L. lactis* subsp. *cremoris*;
- Manteiga (MADIGAN; MARTINKO, 2006) - *L. lactis* subsp. *lactis*;
- Petit suisse (MARUYAMA et.al., 2006) - *S. salivarius* subsp. *thermophilus*;
- Queijos *mediterranean-type* (MORENO et.al., 2006) - *Enterococcus* sp.

As formulações preparadas das culturas *starters* selvagens para a elaboração de produtos lácteos fermentados receberam a denominação de **LactIT** referindo-se às “bactérias lácticas” e à “Iniciação Tecnológica” (Figura 2).



**Figura 1.** Coloração de Gram (a) *S. salivarius* subsp. *thermophilus*, (b) *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, (c) *L. lactis* subsp. *lactis*, (d) *L. lactis* subsp. *cremoris* e (e) *Enterococcus* sp.



**Figura 2.** Formulações de culturas *starters* liofilizadas, acondicionadas e identificadas.

As cepas isoladas a partir da fermentação tradicional e de ambientes considerados extremófilos geralmente são bem adaptadas para o crescimento no substrato de forma rápida e eficiente, garantindo assim, uma seleção melhorada da cultura *starter* para a elaboração de produtos fermentáveis de excelente qualidade, isso evidencia a utilização de linhagens de bactérias lácticas isoladas da região do semiárido baiano por ser considerado um ambiente extremófilo possuidor de uma vasta biodiversidade de micro-organismos pertencentes ao grupo das bactérias lácticas e com grande capacidade biotecnológica a ser explorada de forma econômica (PAULO, 2010).

A vantagem que mais se destaca no uso de bactérias lácticas selvagens liofilizadas é prover culturas *starters* de qualidade com um baixo custo na produção de produtos lácteos fermentados, já que no Brasil, poucas indústrias produzem e comercializam culturas *starters* as pequenas e grandes empresas de produtos fermentados preferem importar essas culturas comercializadas por empresas estrangeiras, como por exemplo a Christian Hansen, empresa Dinamarquesa de maior produção mundial de bactérias lácticas com filial no Brasil (SIMONOVÁ *et al.*, 2006). Além disso, a utilização de cepas internacionais é cara tanto para as grandes e pequenas indústrias alimentícias, quanto para o consumidor comum que deseja fazer produtos lácteos fermentados de forma caseira.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A realização deste trabalho mostrou que a partir do isolamento de bactérias lácticas selvagens é possível obter o preparo de formulações de culturas *starters* de alta viabilidade e estabilidade em um grande período de estocagem, dando condições para pequenos e grandes fabricantes de produtos lácteos fermentados elaborarem seus produtos com custo mais baixo.

Para a aplicação direta das culturas preparadas na elaboração destes produtos será necessário realizar estudos específicos do processo fermentativo para cada um deles.

## REFERÊNCIAS

- BADIS, A.; LUDWIG, W.; SCHLEIFER, K. H. Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. *Food Microbiol.* v. 21, n. 2, p. 579-588, 2014.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 46, de 23 de outubro de 2007. Adota o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados, anexo à presente Instrução Normativa. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, 23 out.2007. Seção 1, p. 5, 2007.
- BURITI, F. C. A.; ROCHA, J. S.; SAAD, S. M. I. Incorporation of *Lactobacillus acidophilus* in Minas fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties during storage. *Int. Dairy J.*, n. 15, p. 1279-1288, 2005.
- COSTA, E. C.; TEIXEIRA, M. F. S.; DANTAS, T. V. M.; MELO, V. S. P.; ARAUJO, S.C.; ROLIM, B. N. Princípios da estocagem e preservação de amostras microbiológicas. *Ciência Animal*, Goiânia, v. 19, n. 2, p.111-122, 2009.
- HAMMES, W. P.; HERTEL, C. New developments in meat starter cultures. *Meat Science*, Amsterdam, v. 49, n. S1, p. S125-S138, 1998.
- MADIGAN, M. T.; MARTINKO. J. M. *Brock Biology of Microorganisms*. Upper Saddle River: Prentice Hall, 2006.
- MARUYAMA, L. Y.; CARDARELLI, H. R.; BURITI, F. C. A.; SAAD, S. M. I. Textura instrumental de queijo petit-suisse potencialmente probiótico: Influência de diferentes combinações de gomas. *Ciência Tecnol. Alime.*, Campinas v.26, n.2, p.386-393, abr-jun. 2006.
- MORENO, M. R. F.; SARANTINOPOULOS, P.; TSAKALIDOU, E.; VUYST, L.D. The role and application of enterococci in food and health. *Int. J. Food Microbiol.*, v. 106, p. 1-24, 2006.
- MORGAN, C. A.; HERMAN, N.; WHITE, P. A.; VESEY, G. Preservation of microorganisms by drying – a review. *J. Microbiol. M.*, Amsterdam, v.66, n.2, p.183-193, ago. 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16632005>>. Acesso em 07 jul. 2016.
- PAULO, E. M. 2010. *Produção de exopolissacarídeos (EPS) por bactérias lácticas visando microencapsulação de Lactobacillus acidophilus La-5 pelo processo de Spray drying*. 2010. Tese 212f. (Doutorado em Biotecnologia), Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2010.
- SAARELA, M.; MOGENSEN, G.; FONDÉN, R.; MATTO, J.; MATTILASANDHOLM, T. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *J. Biotechnol.*, v.84, n.3, p.197-215, 2000.
- SIMONOVÁ, M.; STROMPFOVÁ, V.; MARCIŇÁKOVÁ, M.; LAUKOVÁ, A.; VESTERLUND, S.; MORATALLA, M. L.; BOVER-CID, S.; VIDAL-CAROU, C. Characterization of *Staphylococcus xylosus* e *Staphylococcus carnosus* isolated from Slovak meat products. *Meat Science*, Amsterdam, v. 73, n. 4, p. 559-564, 2006.