



VIXE MÃINHA,
FEIRA
É MASSA!

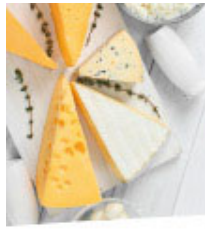




Bioproteção em Lácteos

Marcus Vinicius Aguiar • Fermentech





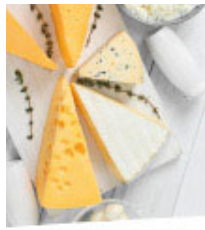
Biopreservação em Alimentos

- Os compostos antimicrobianos naturais fazem parte das práticas de biopreservação desde séculos passados.
- No entanto, somente depois descoberta de antibióticos por Fleming e particularmente após detecção de nisina, que vários peptídeos antimicrobianos, comumente referidos como bacteriocinas, tornaram-se o foco de muitos grupos de pesquisa biomédica e alimentar.



BIOPRESERVAÇÃO EM ALIMENTOS

- Nas últimas décadas, houve uma explosão de pesquisas aplicadas sobre a ação das bacteriocinas das bactérias ácido-láticas, por causa do seu potencial como biopreservadoras e da inibição do crescimento de bactérias deteriorantes.
- Na indústria alimentar, é essencial preservar a qualidades da matéria-prima através da inibição de bactérias deteriorantes e patogênicas. E com base nas tendências de mercado atuais isso precisa ser realizado através de produtos / processos naturais.



XXV Seminário Regional Técnico
23 de maio de 2019 - Feira de Santana-BA

fermentech
GENTE QUE AMA QUEIJO

DANISCO

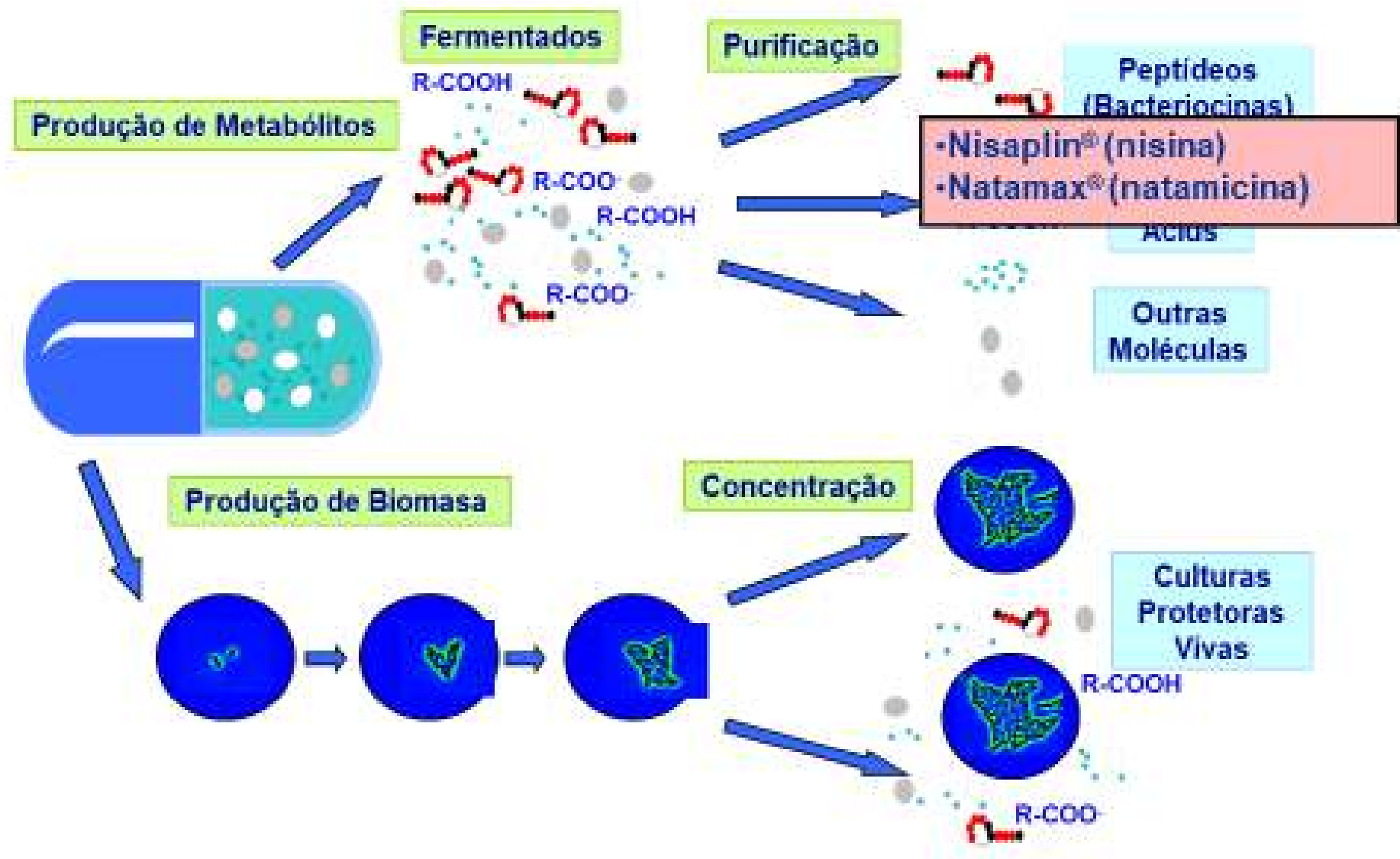
BIOPRESERVAÇÃO EM ALIMENTOS

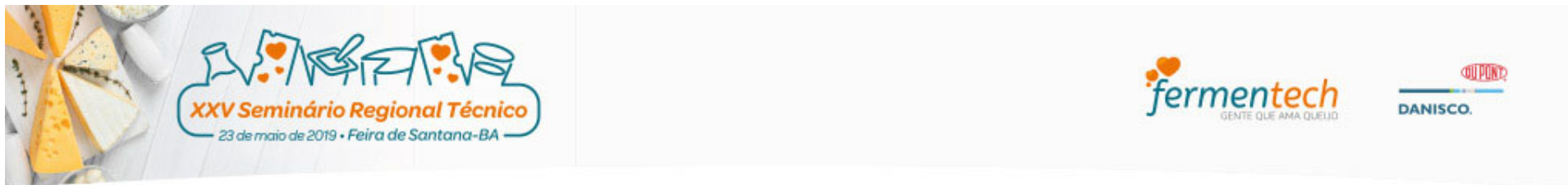
- O uso de bacteriocinas pode ajudar a reduzir o adição de conservantes químicos. Alternativamente, a aplicação de bacteriocinas, em combinação com outro tratamento convencional como parte da tecnologia de obstáculo, pode resultar em um alimento naturalmente preservado e com melhor propriedades sensoriais e nutricionais



Antimicrobianos Naturais

Preparações purificadas/Biomassa-Cultivos protetores





Uma gama de produtos para um rótulo “limpo”

NISAPLIN[®], Antimicrobiano Natural
NATAMAX[®], Antimicrobiano Natural
HOLDBAC[™], Culturas Protetoras

Para todos os antimicrobianos importante consultar a
legislação





Nisaplin® - Nisina

ATIVA

Bactéria Gram-positiva

- ✓ *Clostridium* sp
- ✓ *Bacillus* sp
- ✓ *Alicyclobacillus* sp
- ✓ *Listeria* sp
- ✓ *Micrococcus* sp
- ✓ *Lactobacillus* sp

INATIVA

Bactéria Gram -negativa

- X *E. coli*
- X *Salmonella*
- X *Campylobacter*
- X *Vibrio*
- X Coliforms
- X Mofos e Leveduras

Nisaplin®

Produto	Comp.	Propriedades	Aplicações (América do Sul)	Níveis
Nisaplin®	Preparação de nisina	Contra Gram + bacteria	Queijo, queijo pasteurizado, queijo UHT, queijo processado, requeijão, etc	Máx. 500 ppm

*** Regulatórios – consultar pois sempre há revisões na legislação



XXV Seminário Regional Técnico
23 de maio de 2019 • Feira de Santana-BA

fermentech
GENTE QUE AMA QUELHO

DANISCO

NATAMAX[®] - Natamicina

Antifúngico natural

Produzido por *Streptomyces natalensis* (bactéria encontrada no solo).

Usado comercialmente desde os anos 70, eliminando ou reduzindo o crescimento de bolores e leveduras.

Potente antimicrobiano: não proporciona o surgimento de cepas resistentes



Natamicina (NATAMAX[®]) X Sorbato

Natamicina	Sorbato
Natural	Químico
Fungicida	Fungistático
Sem ação contra bactérias	Bactericida
Não migra para o interior do alimento	Migra para o interior do alimento
Sem sabor	Sabor amargo/metálico
Efetiva em dosagens de 2-25 ppm de natamicina	Efetivo a 1000 – 2000 ppm
Efetiva a pH 3 - 9	Mais Efetivo a pH ácido

NATAMAX®

Produto	Comp.	Propriedades	Aplicações (América do Sul)	Níveis
NATAMAX®	Natamicina	Contra bolores e leveduras	Queijo, processado, requeijão, etc - Para trat. de superfície máx 2mm profundidade) Queijo em pó, queijo ralado (tratamento na superfície)	2mg/dm ² 10mg/kg

*** Regulatórios – consultar pois sempre há revisões na legislação



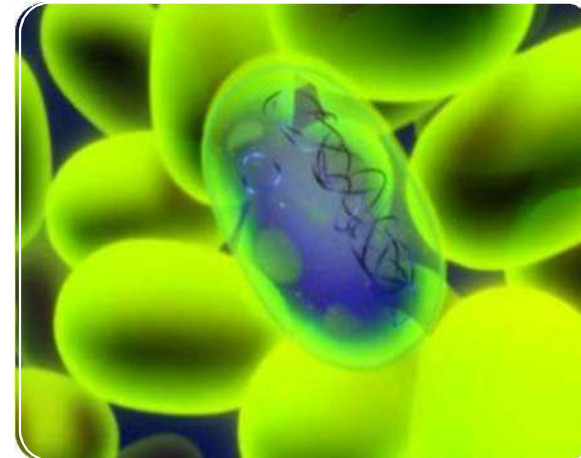
HOLDBAC™

Cultivos Protetores



O que são cultivos protetores?

- ✓ Espécies bacterianas selecionadas dos alimentos com “GRAS status”
- ✓ Especificamente selecionadas pela habilidade em controlar o crescimento de microrganismos indesejáveis
- ✓ Selecionadas por não interferir na qualidade sensorial
- ✓ Usadas como culturas viáveis (células vivas)

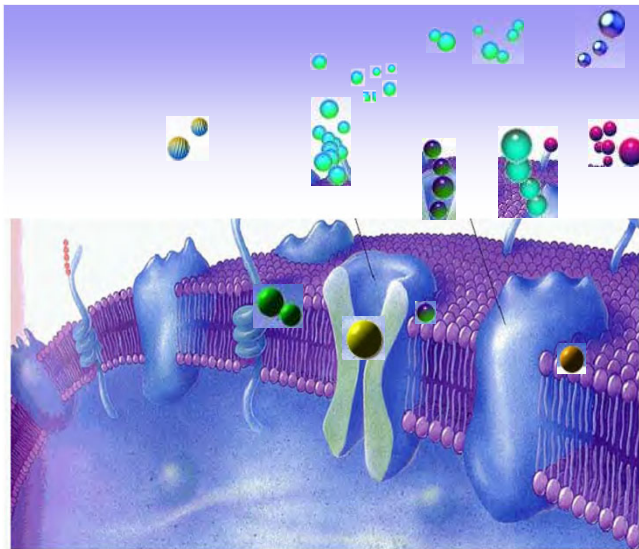




A BIOPRESERVAÇÃO - Bactérias

- As culturas protetoras são compostas por Bactérias Lácteas e Propiônicas.
- Atuam no controle do crescimento de microrganismos deteriorantes, mantendo a qualidade sem que haja alteração significativa do perfil sensorial.
- Formação de metabólitos antimicrobianos (biosinas) em paralelo à um estímulo do processo competitivo.
- Desfavorece microrganismos deteriorantes, com redução ou até eliminação completa de sua população.
- Sabor perdido com pasteurização.

Culturas láticas ativas



Metabólitos
Antimicrobianos,
podendo incluir
bacteriocinas



Inibição
competitiva



Inibição de
microrganismos
indesejados pela
competição por
nutrientes, oxigênio, etc.

Efeitos ainda
desconhecidos

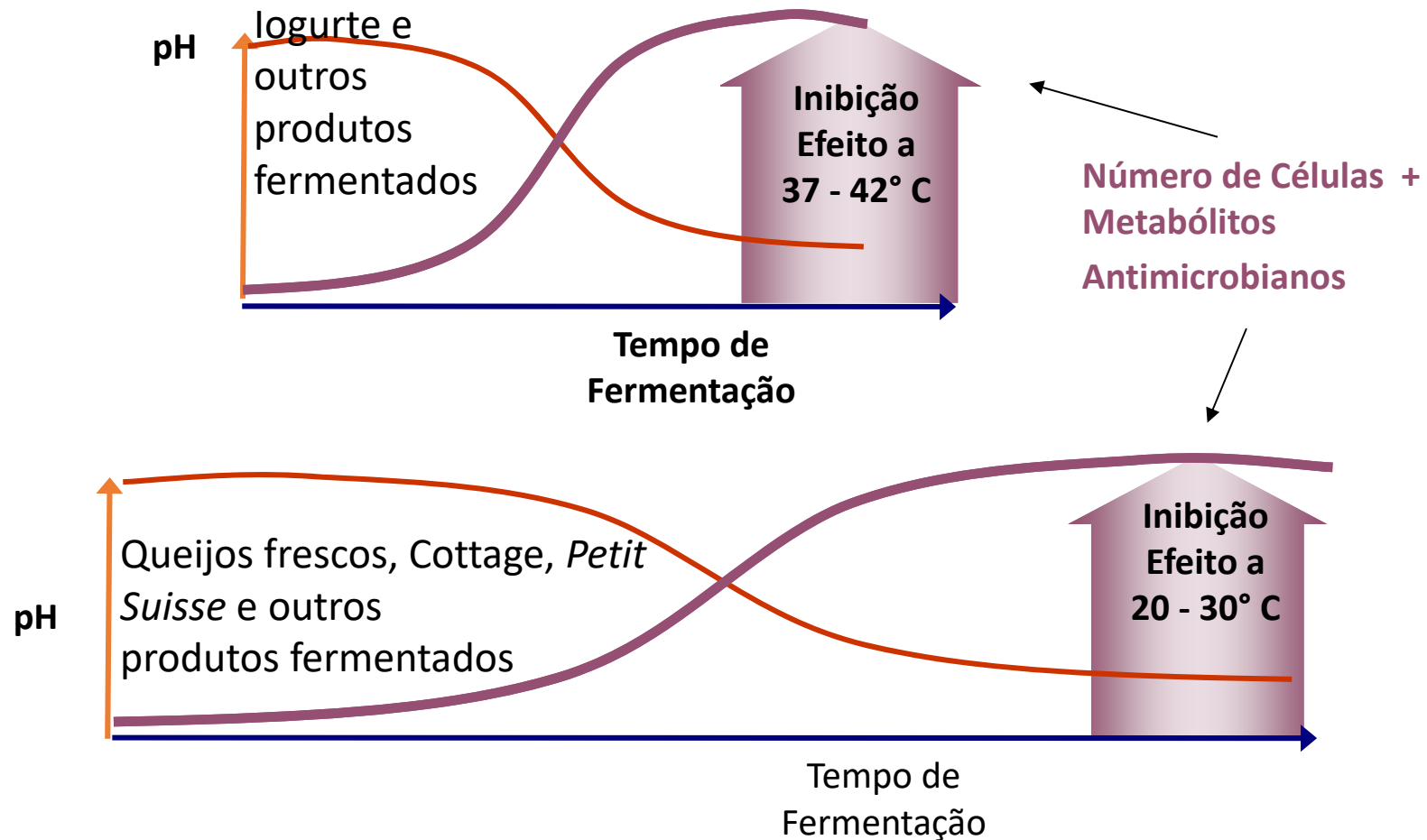


=

**Controle e/ou Inibição de patogênicos
e
microrganismos deteriorantes**



HOLDBAC™ - Culturas protetoras - Potencial inibitório durante a fermentação/processo





Principais fatores influenciando a inibição de grupos de microrganismos





Hurdle Technology - Tecnologia de obstáculos

Uma combinação de tratamentos e/ou ingredientes utilizados para aumentar a estabilidade, a segurança e a qualidade dos alimentos deverá ser implementada – é o que chamamos “Hurdle Technology” ou Tecnologia de obstáculos

Controlar e/ou inibir o crescimento de microrganismos, tanto deteriorantes quanto patogênicos!



Os Antimicrobianos e o Sistema de Múltiplas Barreiras “Hurdle Technology”

°C Temperatura de processo

pH Acidez

O Microbiota Competitiva

a_w Atividade de água

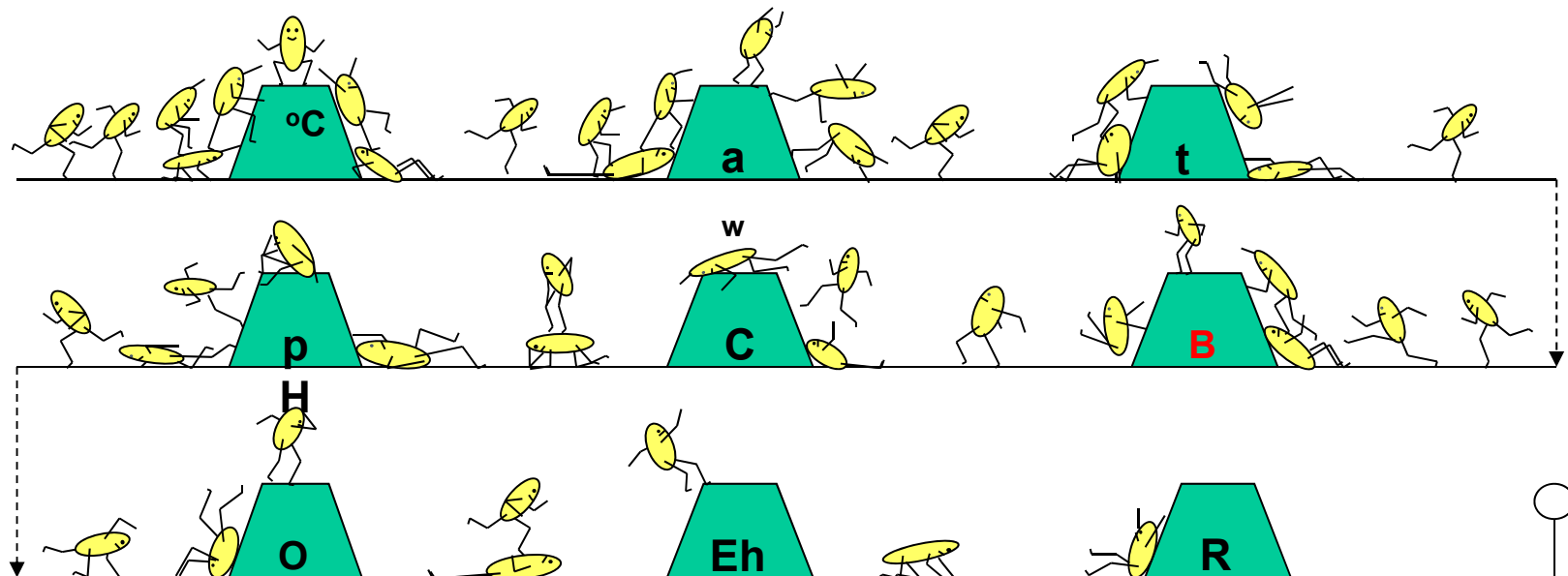
C Conservantes químicos

Eh Tensão de oxigênio
Mudança de Gases

t Temperatura de armazenamento

B Antimicrobianos

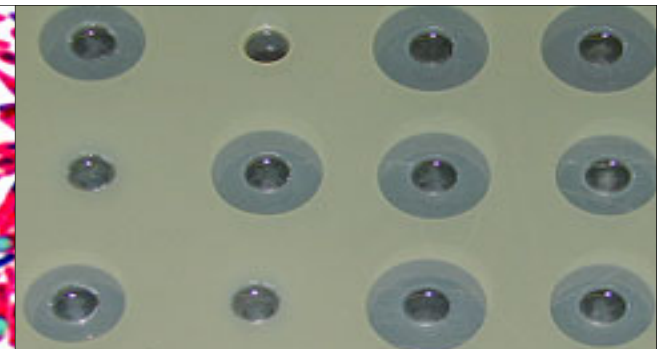
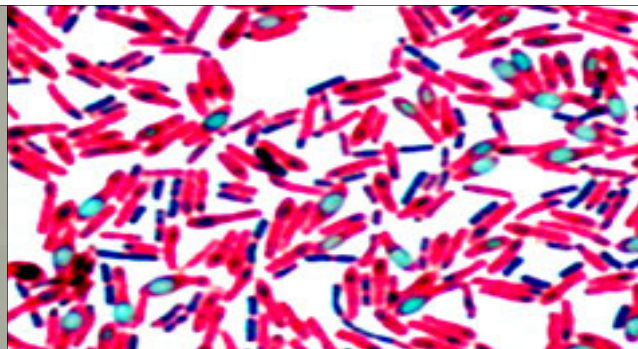
R Radiação UV γ





Obstáculos em alimentos

- ✓ Controle de temperatura (aquecimento, refrigeração)
- ✓ Atmosfera Controlada (atmosfera modificada)
- ✓ O controle de aW (ou controle da umidade)
- ✓ Controle del pH
- ✓ Agentes químicos / limpeza (sais, ácidos orgânicos)
- ✓ Outros ingredientes (extrato) - Antimicrobianos naturais (CULTURAS PROTETORAS)





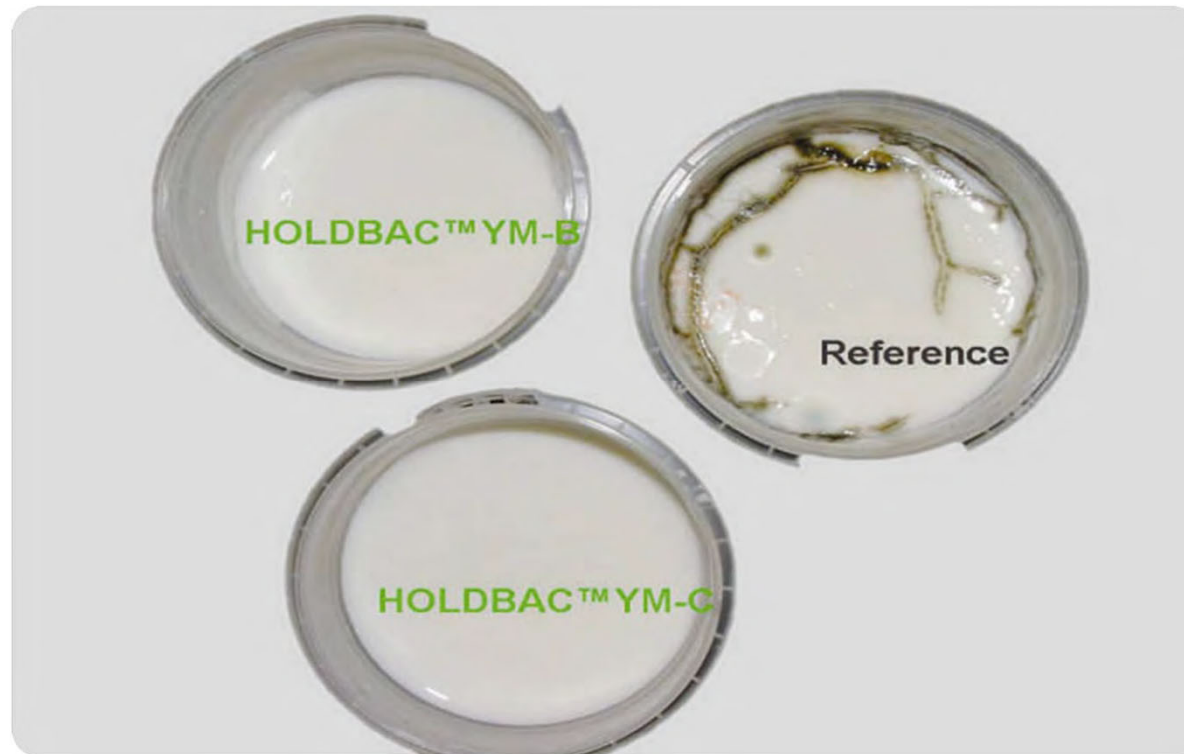
Aplicação de HOLDBAC™ YM e YM *plus* em produtos fermentados frescos

- Proteção contra deterioração normal por bolores durante a vida útil;
- Proteção contra deterioração por bolores por abuso normal de temperatura;
- Tempos largos de fermentação aumentam efeito protetor
- Proteção contra diferentes espécies de bolores, dependendo do nível de contaminação
- Proteção contra leveduras
- Pouco ou nenhum efeito sobre o “flavour”
- Nenhum efeito adverso sobre o pH durante estocagem para iogurtes e efeito controlado sobre queijos frescos (Minas Frescal)





Deterioração por bolores em iogurtes - HOLDBAC™ YM





Culturas Protetoras: funcionalidade e aplicação

Pode...

- Desenvolver uma ação protetora pelo crescimento durante a fermentação, promovendo aumento de vida útil.
- Substituir (parcialmente) alguma barreira de segurança
- Ser usada como uma ferramenta **adicional** no programa de BPF.
- Estatisticamente reduzir o número de reclamações e aumentar a qualidade do produto, durante a vida útil

Não pode...

- Ser eficiente em um processo que não permite o seu crescimento (da cultura).
- Ser eficiente como uma barreira de segurança única no processo.
- Ser usada como uma ferramenta de “desinfecção” ou ser eficiente em níveis muito altos de contaminação.
- Garantir 100% o perigo de deterioração.



HOLDBAC™ YM e YM *Plus**

HOLDBAC™ LC**

Aplicações:

- Iogurtes*
- Minas frescal **
- Cottage*
- Quark*
- Manteiga*
- Outros queijos
(sob consulta)





HOLDBAC™ YM line e HOLDBAC™ LC em produtos lácteos frescos

	HOLDBAC™ YM-B eYM-B Plus	HOLDBAC™ YM-C eYM-C Plus	HOLDBAC™ LC
Composição	<i>Propionibacterium freudenreichii</i> subsp. <i>shermanii</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Propionibacterium freudenreichii</i> subsp. <i>shermanii</i> <i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
Dosagem (DCU/100 l milk)	logurte, leites fermentados, sour cream : 10-50 DCU Minas Frescal: 2.5 a 5 DCU Cottage: 5-10 DCU **	logurte e leites fermentados: 10 DCU-20 DCU Sour cream: 10-30 DCU Minas Frescal: 2.5 a 5 DCU Cottage: 5-10 DCU **	Minas Frescal: 2.5 a 5 DCU
Modo de uso	inocular no mesmo momento de adição da cultura principal	inocular no mesmo momento de adição da cultura principal	inocular no mesmo momento de adição da cultura principal

** Sugestão de que o dressing também possa ser adicionado de cultura protetora



Controlando microrganismos indesejáveis em Queijos

HOLDBAC™ *YM Plus*

HOLDBAC™ LC

HOLDBAC™ Listeria dairy





HOLDBAC™ YM e HOLDBAC™ LC

Queijo “MINAS FRESCAL” – Exemplo Prático

HOLDBAC™ YM-C e LC adicionados ao leite antes da coagulação

Avaliação visual – casca melada – amostras a 10 a 12°C

	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias
Padrão	-	+ /-	+	+ +
HOLDBAC™ YM-C 5 DCU / 100 lts	-	-	-	+ /-
HOLDBAC™ LC 2,0 DCU / 100 lts	-	-	+ /-	+



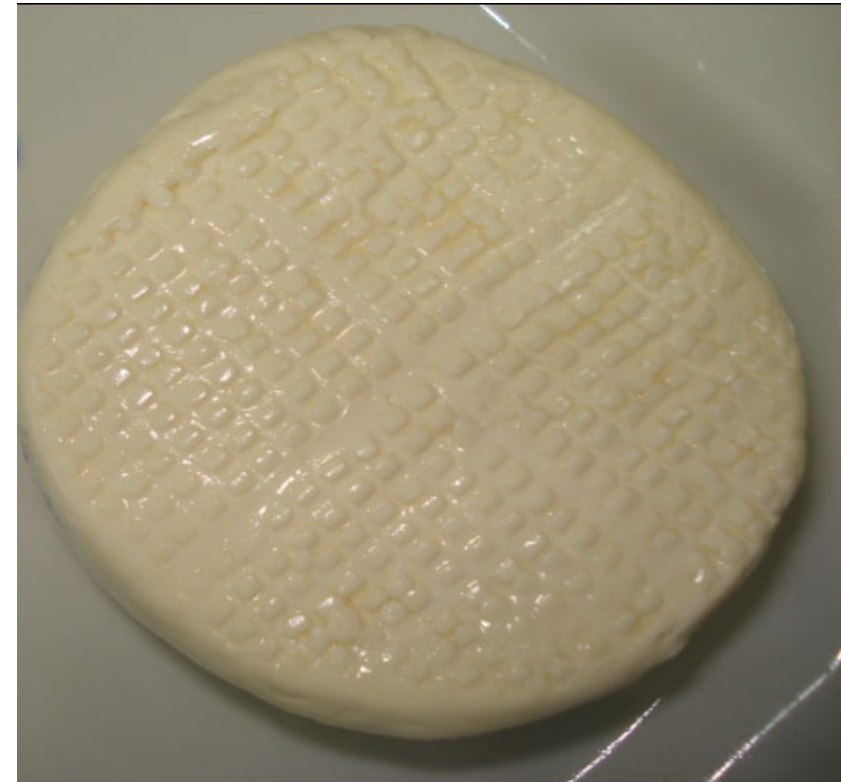
HOLDBAC™ YM e HOLDBAC™ LC

Queijo “MINAS FRESCAL” – Exemplo Prático



Padrão

Após 14 dias - início de casca melada



HOLDBAC™ LC

Após 21 dias - início de casca melada

HOLDBAC™ YM-C

Após 28 dias - início casca melada



HOLDBAC™ LC e as NSLAB

O Leite cru

- É a maior fonte de NSLAB em queijos

A contaminação pós pasteurização

- Também contribui para o desenvolvimento das NSLAB no queijo, os biofilmes em plantas sanitizadas, o silo de leite cru, a unidade de ultrafiltração, a tina, etc. (Sommers et al., 2001; Agarwal et al., 2006)
- HOLDBAC™ LC (*L. rhamnosus*) - **poderia ser uma solução para o problema?**
- Doses e momento de inoculação? Sugestão 10e5 a 10e6/ml





HOLDBAC™ LC e as NSLAB

Queijos semi-duros e duros



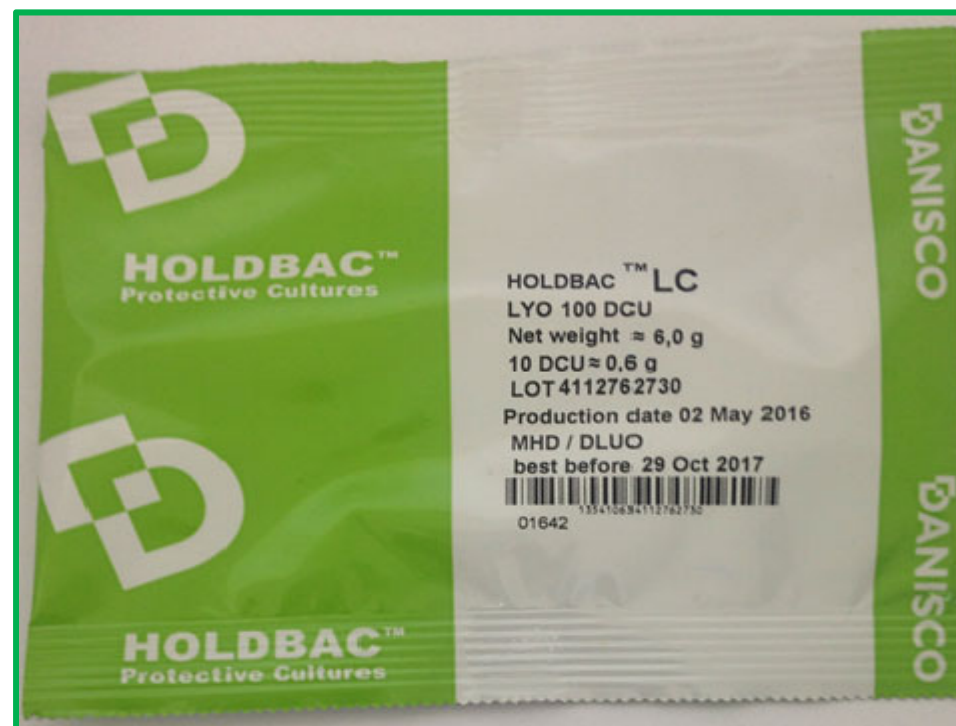


HOLDBAC™ LC e as NSLAB

Queijos semi-duros e duros

Teste - Queijo duro – **HOLDBAC™ LC**

Dose aplicada: 3.000 DCU/ 20.000 litros de leite





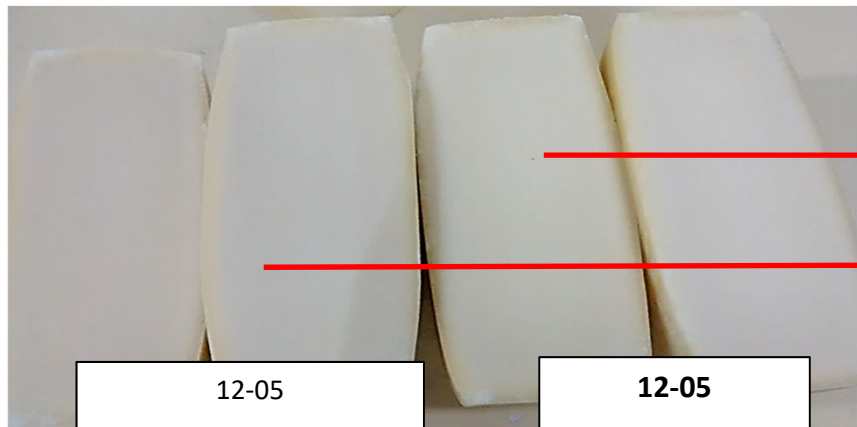
HOLDBAC™ LC e as NSLAB

Queijos na saída da salmoura - 19/04



HOLDBAC™ LC e as NSLAB

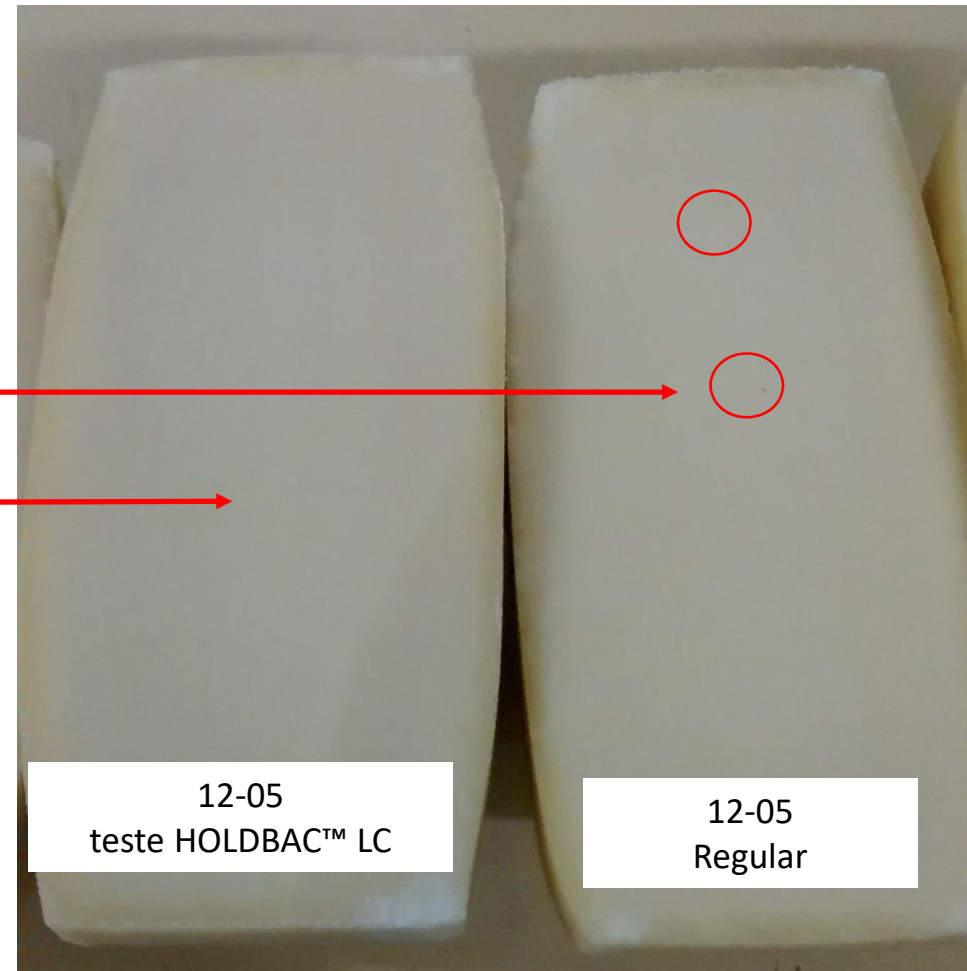
Saída da Secagem - 12/05
Aproximadamente 25 dias de
elaboração



12-05
teste HOLDBAC™ LC

12-05
Regular

Observa-se indícios de fermentação no
queijo regular (teste)
Não se observa olhaduras na amostra
com HOLDBAC™ LC



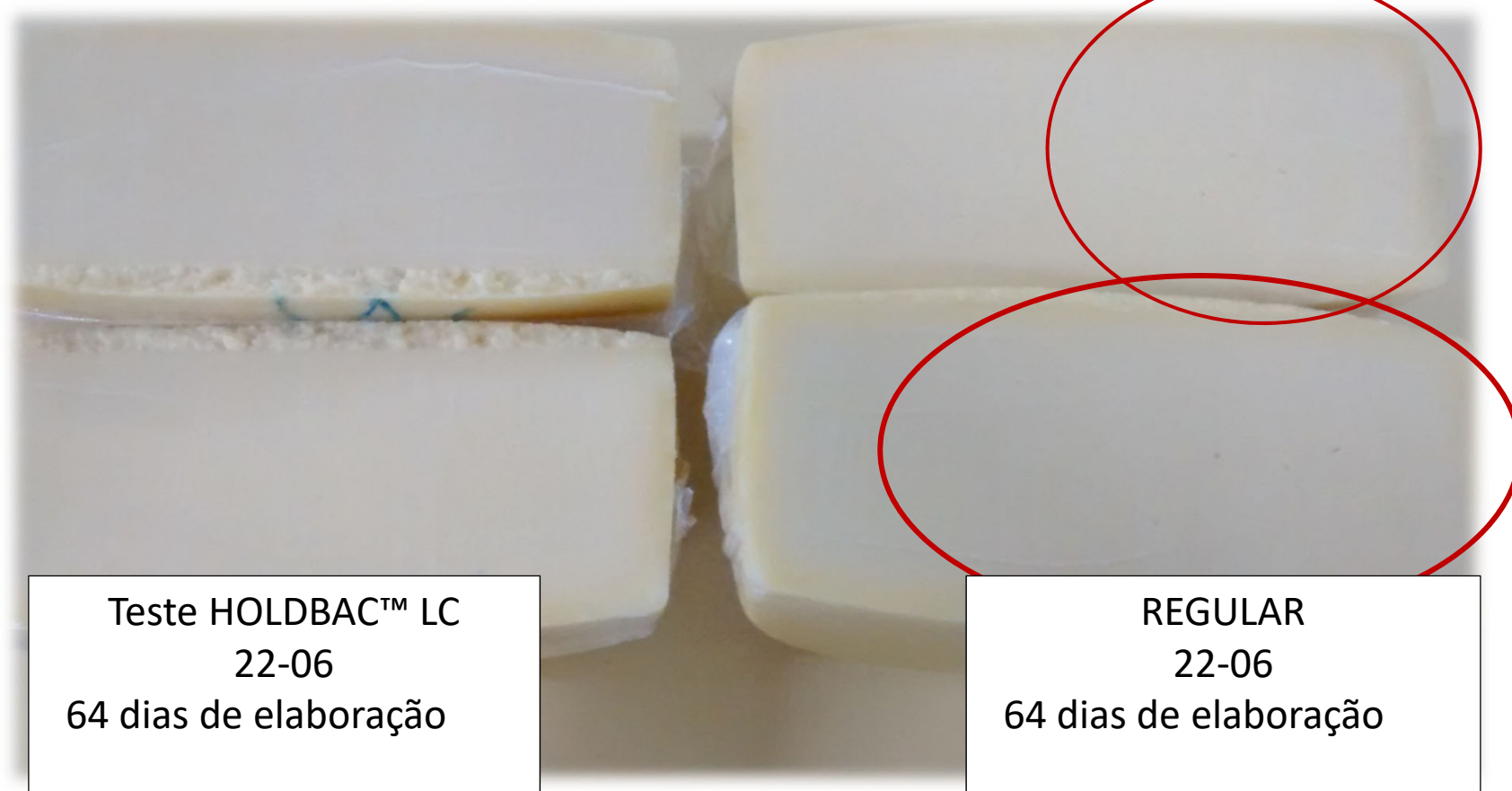
12-05
teste HOLDBAC™ LC

12-05
Regular

HOLDBAC™ LC e as NSLAB

Queijos nas Câmara “FRIA” (4 °C) - 22/06 – 64 dias de elaboração

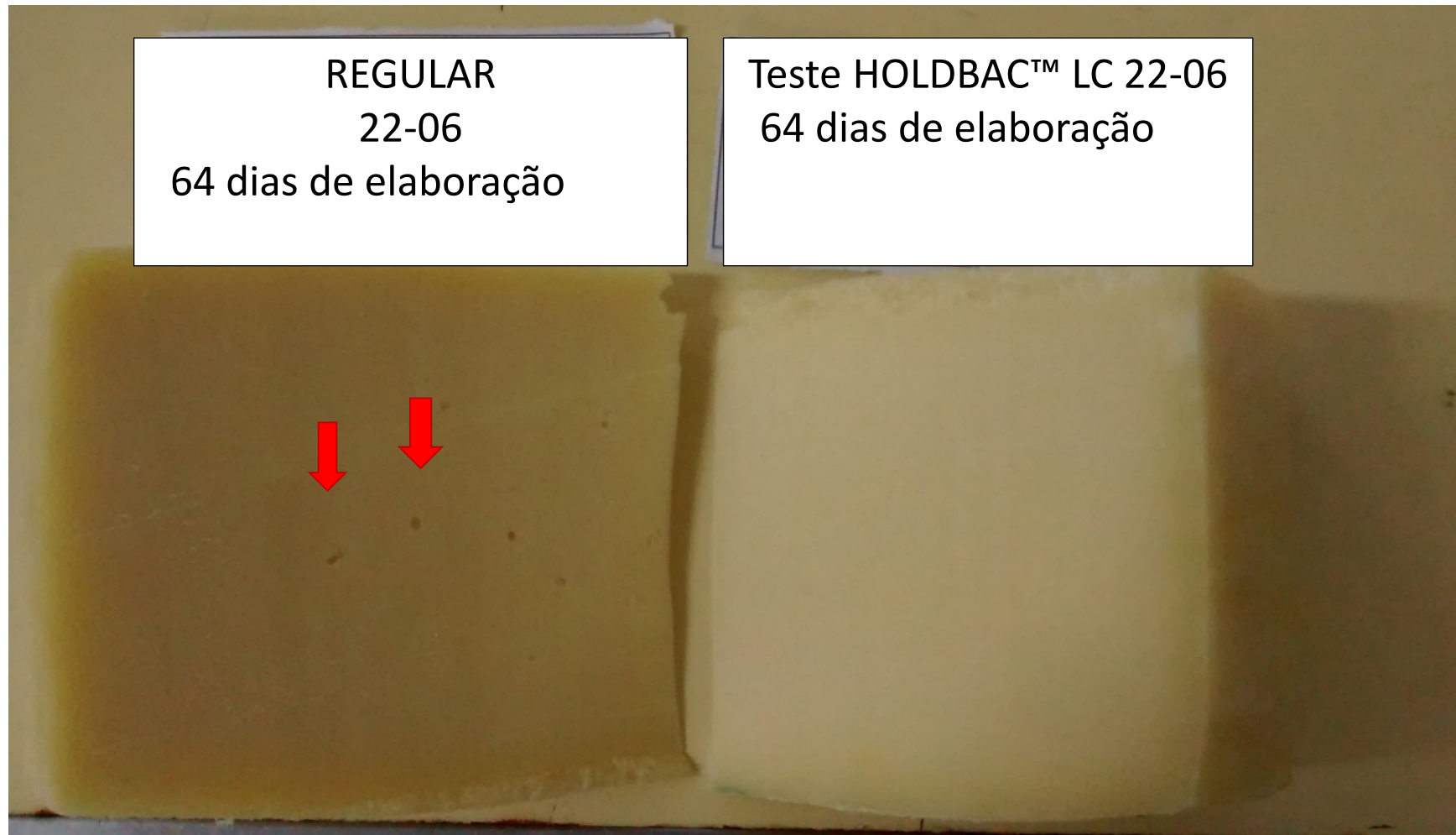
- Observa-se olhadura de fermentação na amostra regular.
- Não se observa olhadura de fermentação na amostra com HOLDBAC™ LC





HOLDBAC™ LC e as NSLAB

Queijos nas Câmara “FRIA” (4 °C)



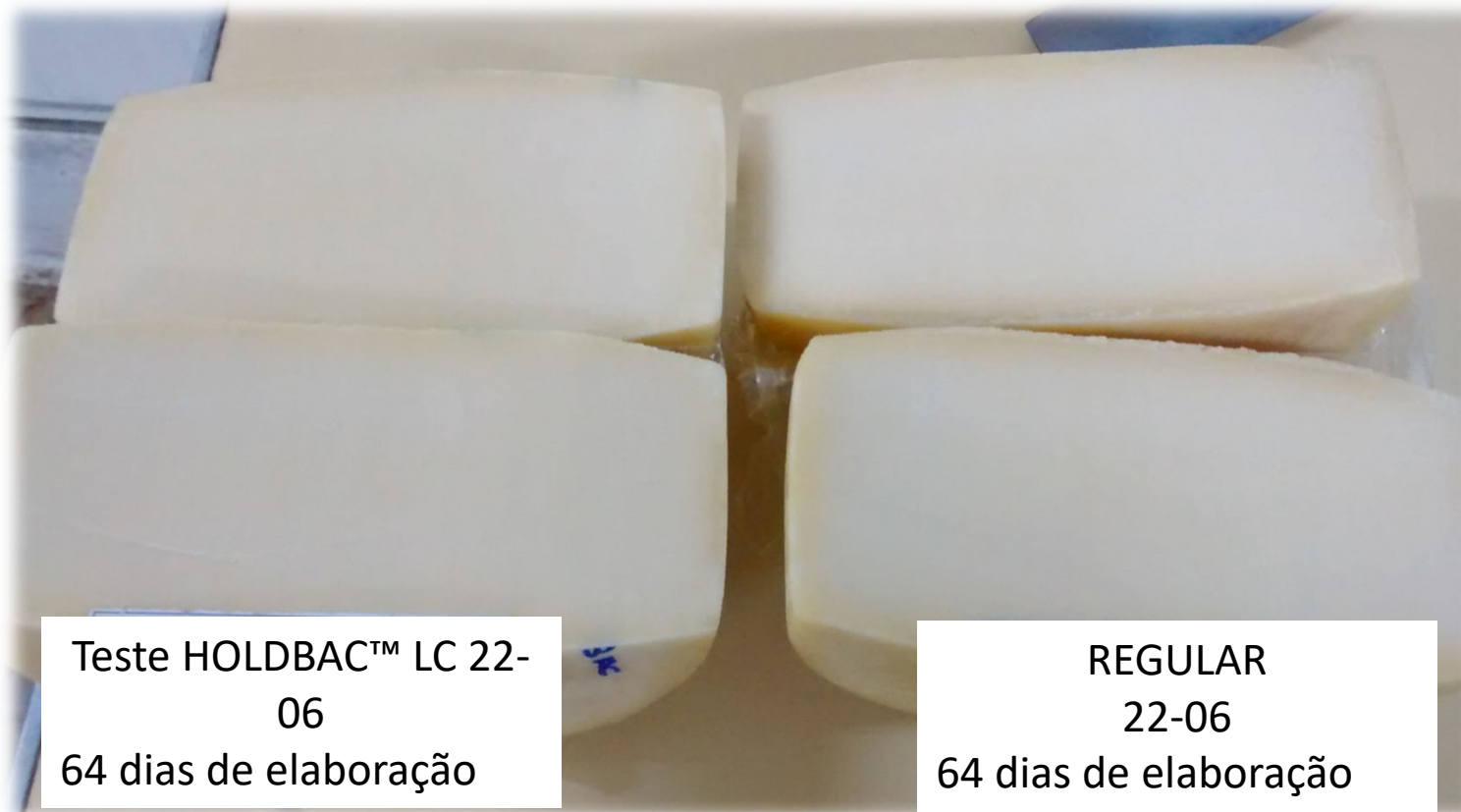


HOLDBAC™ LC e as NSLAB

Queijos na Câmara “QUENTE” (17-18 °C)

22/06 – 64 dias de elaboração

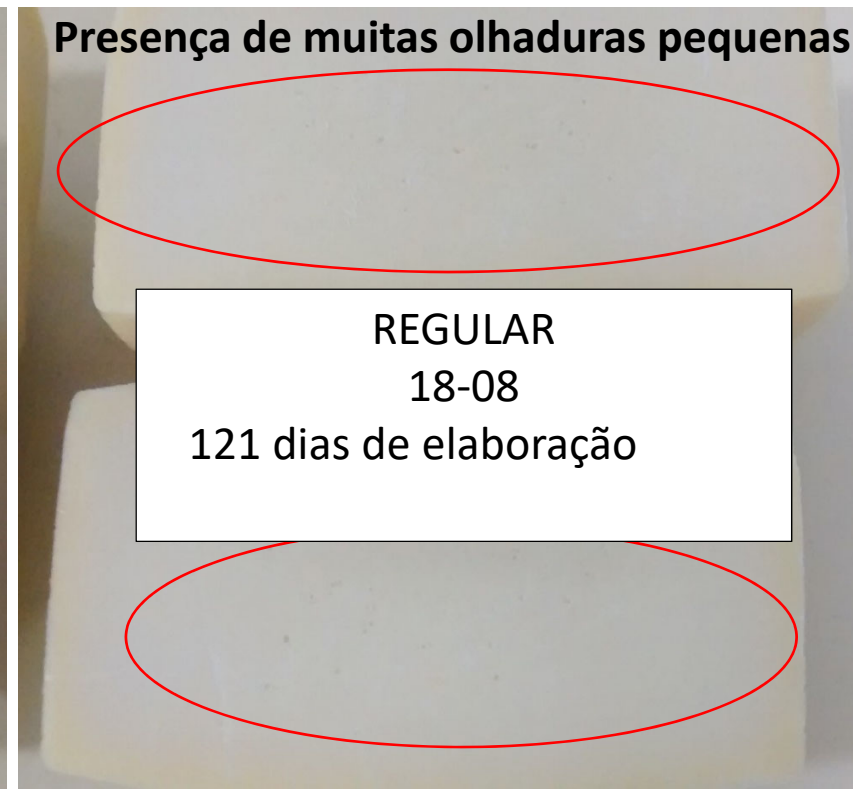
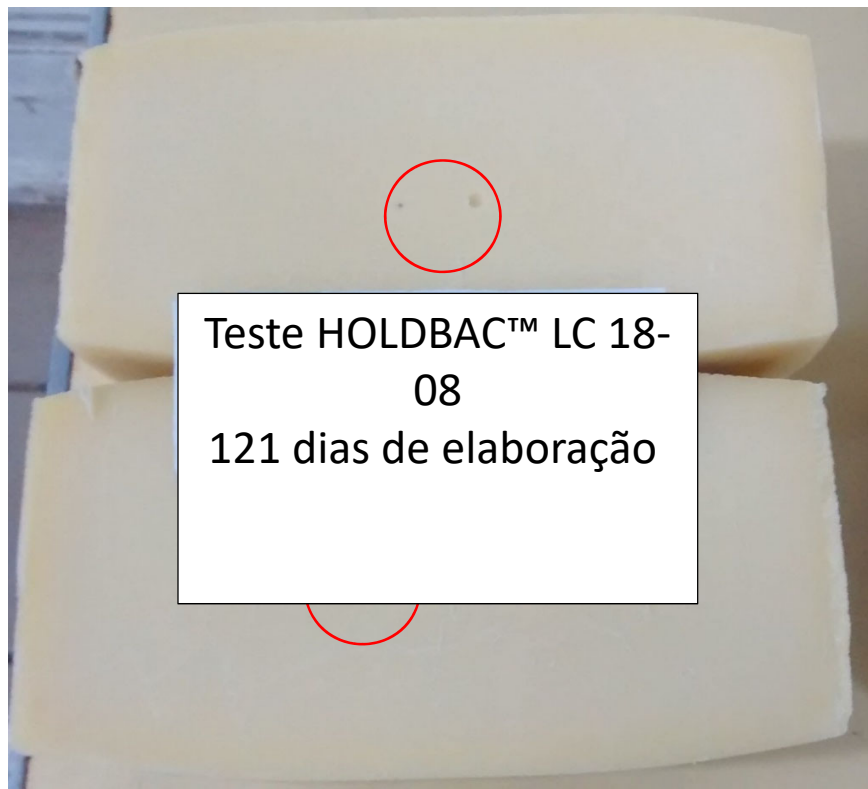
Não se observa olhadura de fermentação em nenhuma amostra



HOLDBAC™ LC e as NSLAB

Queijos nas Câmara “FRIA” (4 °C)

18/08 - 121 dias de elaboração



Queijo Coalho

Um brasileiro em evolução....



É possível distinguir duas categorias de queijos:

queijos fabricados com leite cru com ou sem a adição de starters e os queijos fabricados com leite pasteurizado com adição de starters.....

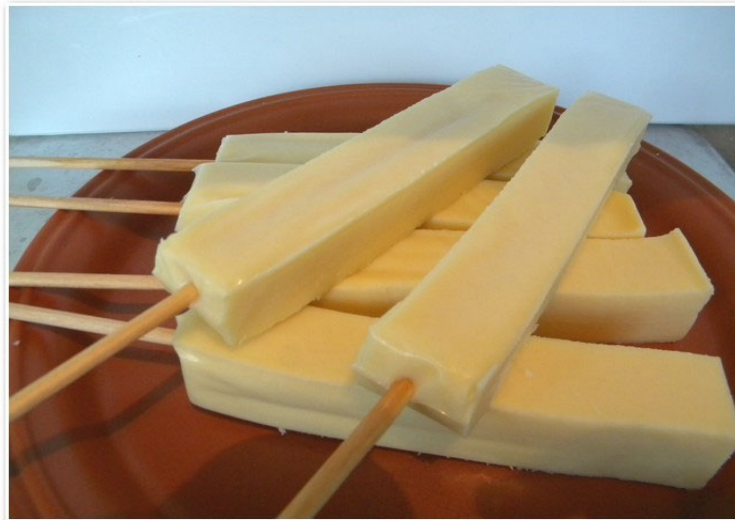


X



Adição de starters??

Estudos de identificação de culturas lácticas endógenas presentes.



X



Não fermentação do queijo,
Exposição da lactose como substrato para grupos contaminantes....

A cultura endógena....

“Bactérias ácido-láticas (BAL) foram isoladas de leite, coalhada e queijos coalho artesanais fabricados no Ceará (CARVALHO, 2007). Carvalho (2007) também detectou bactérias com potencial tecnológico para serem empregadas no desenvolvimento de uma cultura láctica adequada para a produção de queijo coalho utilizando leite pasteurizado.”

Tabela 1. Bactérias ácido-láticas (BAL) e origem.

Nº da BAL	Código da BAL	Identificação bioquímica	Origem
01	134	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	Queijo coalho
02	378	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	Queijo coalho
03	414	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	Queijo coalho
04	453	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	Queijo coalho
05	456	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	Queijo coalho
06	457	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	Queijo coalho
07	466	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	Queijo coalho
08	613	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	Leite cru
09	626	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	Leite cru
10	639	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	Leite cru
11	688	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	Leite cru
12	698	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	Coalhada
13	718	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	Leite cru
14	960	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	Leite cru
15	963	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	Leite cru
16	969	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	Leite cru
17	1033	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	Leite cru
18	1083	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	Leite cru
19	1113	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	Leite cru
20	275	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Queijo coalho
21	682	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Leite cru
22	700	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Leite cru
23	787	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Leite cru
24	1119	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Queijo coalho
25	270	<i>Lactobacillus paracasei</i> spp. <i>paracasei</i>	Queijo coalho
26	373	<i>Lactobacillus paracasei</i> spp. <i>paracasei</i>	Queijo coalho
27	455	<i>Lactobacillus paracasei</i> spp. <i>paracasei</i>	Queijo coalho
28	460	<i>Lactobacillus paracasei</i> spp. <i>paracasei</i>	Queijo coalho
29	483	<i>Lactobacillus paracasei</i> spp. <i>paracasei</i>	Queijo coalho
30	485	<i>Lactobacillus paracasei</i> spp. <i>paracasei</i>	Queijo coalho
31	1018	<i>Lactobacillus paracasei</i> spp. <i>paracasei</i>	Queijo coalho
32	1020	<i>Lactobacillus paracasei</i> spp. <i>paracasei</i>	Queijo coalho
33	1024	<i>Lactobacillus paracasei</i> spp. <i>paracasei</i>	Queijo coalho
34	1042	<i>Lactobacillus paracasei</i> spp. <i>paracasei</i>	Queijo coalho
35	1120	<i>Lactobacillus paracasei</i> spp. <i>paracasei</i>	Queijo coalho
36	1122	<i>Lactobacillus paracasei</i> spp. <i>paracasei</i>	Queijo coalho



*“Tanto os supostos *Lb. plantarum* como os *Lb. paracasei* (Tabela 1) submetidos à identificação específica para espécie neste estudo haviam sido previamente analisados em relação às propriedades tecnológicas para elaboração de queijo coalho e haviam demonstrado potencial*

Tabela 2. Protocolos e *primers* usados na amplificação do DNA de bactérias lácticas.

Microrganismo	Primers	Sequência	Referência
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	Lhis3F Lhis4R	5' AAAGAATTTTCAGAGAAA3' 5' ATTTAGAATTGGTTCAAC3'	BEIMFOHR et al., 1997
<i>Lactobacillus paracasei</i>	LU-5 Lpar-4	5' CTAGCGGGTGCGACTTTGTT3' 5' GGCCAGCTATGTATTCACTGA3'	SONG et al., 2000
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Lpla2 Lpla3	5' CCTGAACTGAGAGAATTTGA3' 5' ATTCATAGTCTAGTTGGAGGT3'	SONG et al., 2000

Fonte: Dados das autoras.

Lb. paracasei, importante cultura
NSLAB's.



Figura 1 : sem HOLDBAC LC



Figura 2 : Com Holdbac LC



Figura 1

Fig 1: Queijo de Coalho com orégano, sem uso de HOLDBAC LC com 20 dias de fabricação, deixado 7 horas em temperatura ambiente. Queijo ficou deformado e muito derretimento quando aquecido.



Figura 2

Fig 2 : Queijo de Coalho com orégano, com uso de HOLDBAC LC com 20 dias de produção, deixado 7 horas em temperatura ambiente. Queijo continuou firme e assou muito bem.

“Food Safety” é uma preocupação mundial

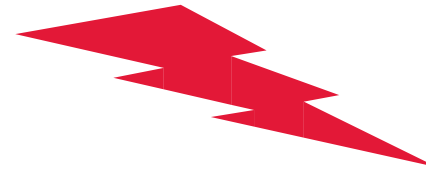


- Mais de 200 enfermidades conhecidas se transmitem através dos alimentos, 10% da população sofrem com enfermidades transmitidas por alimentos;
- Em 2005, mais de 1,8 milhões de pessoas no mundo morreram devido ao consumo de alimentos contaminados;
- Nos EUA, aprox. 76 milhões de casos de enfermidades transmitidas por alimentos ocasionando 325.000 hospitalizações e 5.000 mortes cada ano;
- Alto custo por tratamento médico (governo , indústria , pessoal);
- Indústria – proteção da marca.



HOLDBAC™ Listeria dairy

Aplicação em Queijos



Lembre-se que nunca um cultivo ou solução antimicrobiana será isoladamente responsável pela inibição ou eliminação de microrganismos e especificamente microrganismos patogênicos



HOLDBAC™ *Listeria* dairy

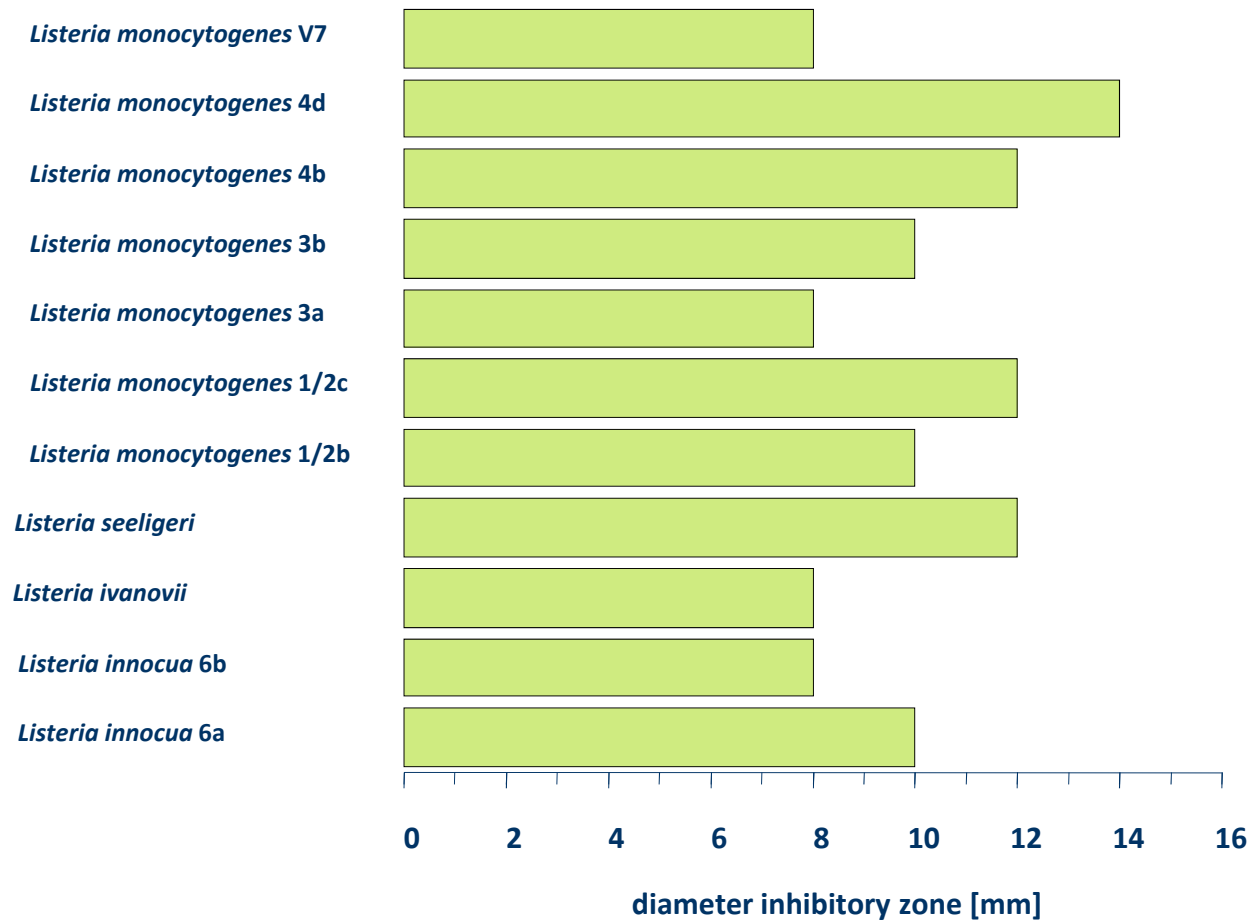
- HOLDBAC™ *Listeria* dairy é uma cultura protetora com capacidade para inibir ou controlar o crescimento de certos “strain/serotypes” de *Listeria* (incluindo *L. monocytogenes*);
- Tem baixa capacidade de acidificação;
- Composta de *Lactobacillus plantarum*





HOLDBAC™ *Listeria* dairy

Aplicação



Eficaz contra vários
“strains”





HOLDBAC™ Listeria dairy Aplicação



Dosagem:

Depende da contaminação inicial. Portanto, deve ser avaliada caso a caso.

Identificar parâmetros do processo, a fonte ou compilar toda a informação sobre a presença na planta e produto.

**HOLDBAC™ Listeria dairy não pode
substituir as BPF**

HOLDBAC™ *Listeria* dairy



FORMAS DE APLICAÇÃO:

- **Direto no leite:**

10 IP se a contaminação inicial - até 7 UFC *Listeria*/ ml de leite

Doses maiores se a contaminação > 10 UFC of *Listeria* / ml de Leite

- **Aspersão:**

0.2 – 0.3 IP por m² de superfície – “Spray” deve ser feito no início da maturação no caso de queijos camembert, brie etc.

HOLDBAC™ *Listeria* dairy não pode substituir as BPF

HOLDBAC™ Listeria dairy

Formas de aplicação:

- na massa:

10 IP **HOLDBAC™ Listeria dairy** misturado com sal e adicionado a 100 kg de massa

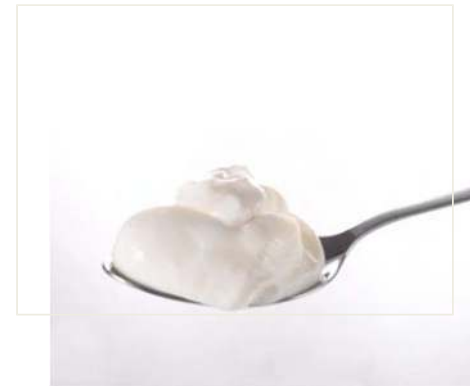




LINHA HOLDBAC™

Nós podemos lhe ajudar a proteger uma ampla gama de productos lácteos

- Queijos frescos brancos
- Queijos duros e semiduros
- Queijos com coalhadas ácidas por acidificação (acid curd cheese)
- Iogurtes e fermentados



PRODUTOS DE EXCELÊNCIA ★★★★★





DÚVIDAS?







GENTE QUE  O QUE FAZ





XXV Seminário Regional Técnico

23 de maio de 2019 • Feira de Santana-BA

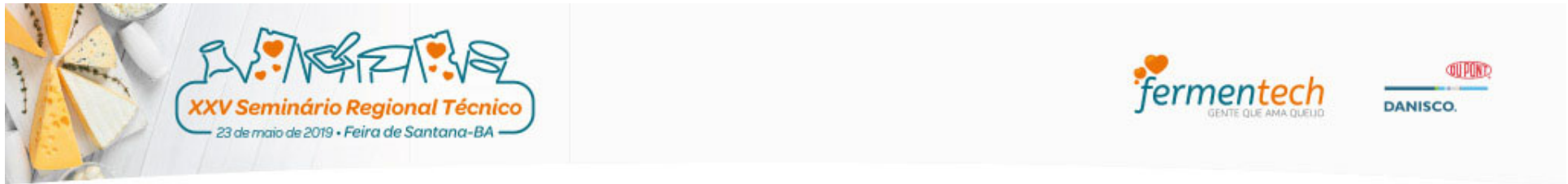


OBRIGADO
PELA
PRESENÇA

Marcus Vinicius Aguiar

tel: 11 99574.5279 • marcus@fermentech.com.br





**OS ARQUIVOS PDF DAS PALESTRAS
DISPONÍVEIS NO SITE:**

www.fermentech.com.br/feiradesantana

LOGIN: bahia

SENHA: feira2019