



Where science  
& creativity meet

# BIOPROTEÇÃO EM QUEIJOS E BEBIDAS FERMENTADAS

NOVEMBRO 2023 – ANTONIO SALLES – MOSSORÓ/RN  
[antonio.salles@iff.com](mailto:antonio.salles@iff.com) 11 972816325




## A SUSTENTABILIDADE NA CADEIA PRODUTIVA DE ALIMENTOS

Para o mundo é urgente dispor de uma alimentação sustentável e uma cadeia de suprimentos eficiente, mediante uma melhoria contínua e inovadora.

©2023 Propriedade de IFF Inc.





A sustentabilidade tem sido um fator central para o mundo e para o IFF desde o início. Nosso propósito é redefinir como vivemos em nosso mundo e como cuidamos de seus recursos. Temos o compromisso de reduzir as emissões de carbono dos clientes em 50% até 2030.

# CONSUMIDORES

« Percepções e  
tendências de  
mercado »

# BIOPROTEÇÃO

Desafios da indústria e as necessidades do mercado



## Preservando produtos contra deterioração por fungos

Os bolores e leveduras são responsáveis por 5 a 10% das perdas de alimentos (Yang e Chang 2010).



## Manter a qualidade durante a vida útil

cadeia de frio - fator-chave de sucesso para a expansão geográfica



## Demanda por “rótulos limpos”

Substituindo conservantes químicos por ingredientes de rotulagem amigáveis



## Contribuição para a imagem de sustentabilidade da empresa

Reduzir o desperdício de alimentos e permitir o uso de embalagens ecológicas

## AMÉRICA LATINA

### Foco em aditivos

Principais reivindicações relacionadas ao rótulo limpo é a **ausência de aditivos ou conservantes/antimicrobianos.**

Outras alegações que muitas vezes estão vinculadas ao rótulo limpo incluem alegações naturais (por exemplo, orgânica, totalmente natural)

Mais recente - bem-estar animal e alegações de habitat sustentável.

Source: Mintel GNPD  
From defining-clean-in-latin-america 2020 report

# A INDÚSTRIA DE ALIMENTOS/LÁCTEOS

## OS DESAFIOS

# DEFINIÇÕES – BENEFÍCIOS DE PROTEÇÃO + TECNOLÓGICOS

## DETERIORAÇÃO

- MICROBIOLÓGICA
- FÍSICO-QUÍMICA

+

## SEGURANÇA DOS ALIMENTOS

- PATÓGENOS
- TOXINAS



“Food protection”

Benefícios tecnológicos que ultrapassam a bioproteção são observados em muitos casos



## A DETERIORAÇÃO DOS ALIMENTOS

- ✓ “Food and Agriculture Organization” (FAO) cerca de 1/3 de todos os alimentos destinados ao consumo humano se perdem por diversos motivos e a **deterioração microbiológica** desempenha um papel predominante;
- ✓ Os bolores e leveduras são responsáveis por 5 a 10% das perdas de alimentos (Yang e Chang 2010).

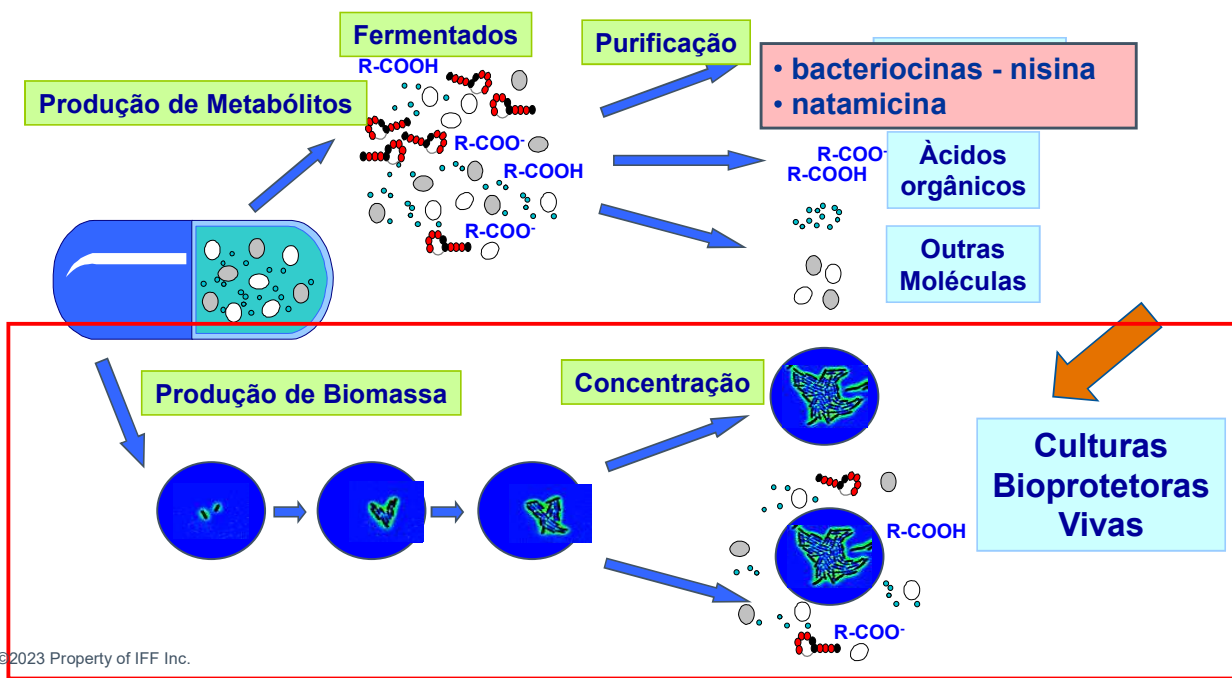


Public

## A BIOPROTEÇÃO/ BIOPRESERVAÇÃO OU BIOCONTROLE

- ✓ A bioproteção/biopreservação é definida como a extensão da vida de prateleira e aumento da segurança dos alimentos através do uso de uma microbiota natural e controlada e seus compostos antimicrobianos sem ainda alterar drasticamente suas propriedades sensoriais (Stiles 1996, Hugas 1998, Vermeiren, Devlieghere et al 2004, Annou S 2007).

# CULTURAS PROTETORAS



# AS CULTURAS PROTETORAS

- A) QUEM SÃO?
- B) REQUISITOS BÁSICOS
- C) COMO TRABALHAM E COMO SÃO APLICADAS?
- D) A TEORÍA DOS OBSTÁCULOS/BARREIRAS

## AS CULTURAS PROTETORAS

- ✓ Culturas de microrganismos antagonicos que são adicionados para prolongar a vida de prateleira, alterando minimamente as propriedades sensoriais do produto alimentício, são chamadas de "Culturas Protetoras" (Castellano e Vignolo 2006).

©2023 Property of IFF Inc.

Public



Public



## AS CULTURAS PROTETORAS

**Essa abordagem deverá ser sempre complementar às tecnologias de obstáculos/barreiras (Hurdle Technology)**

As bactérias lácticas (LAB) – especialmente as pertencentes à *família Lactobacillaceae* - principal alternativa aos antimicrobianos (conservantes) em alimentos e seu uso é amplamente estudado devido à longa história de sua aplicação em alimentos fermentados e sua capacidade de produzir metabolitos antimicrobianos;

O “Status” GRAS (Generally Regarded as Safe - Geralmente Reconhecido Como Seguro) e QPS (Qualified Presumption of Safety - Presunção de Segurança Qualificada) nos EUA e na UE, respectivamente, aumenta o interesse do uso das LAB.

Public

## CULTURAS PROTETORAS – REQUISITOS BÁSICOS

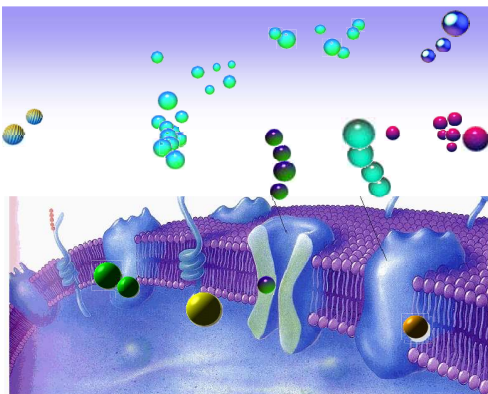


©2023 Property of IFF Inc.

Public

## CULTURAS PROTETORAS – COMO TRABALHAM?

### HOLDBAC® MUITO MAIS QUE METABÓLITOS ANTIMICROBIANOS!



©2023 Property of IFF Inc.

Metabólitos antimicrobianos ✓

+ Efeitos de exclusão competitivos ✓

+ outros efeitos ✓

Inibição de microrganismos indesejáveis através da competição por nutrientes, oxigênio, etc

Public

## CULTURAS PROTETORAS - FÁCIL DE APLICAR

- As culturas protetoras são aplicadas diretamente ao leite no tanque junto com o cultivo “Starter”, mantendo o processo como de rotina;
- Alguns novos trabalhos já indicam adição direta ao leite cru antes da fabricação dos productos fermentados \*



©2023 Property of IFF Inc.

Public

Public

# CULTURAS PROTETORAS - HOLDBAC® INIBIÇÃO DE CONTAMINANTES: FATORES DE INFLUÊNCIA



©2023 Property of IFF Inc.

Public

Public

## TECNOLOGIA DE OBSTÁCULOS/BARREIRAS (HURDLE TECHNOLOGY)

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!



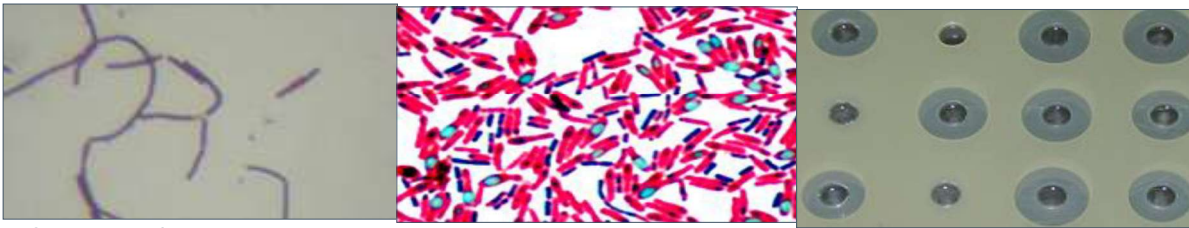
©2023 Property of IFF Inc.

Public

Public

## ALGUNS OBSTÁCULOS EM ALIMENTOS

- Controle de temperatura (aquecimento, refrigeração)
- Atmosfera Controlada (atmosfera modificada)
- Tipo de embalagem – oxigênio/água
- O controle de aW (ou controle da umidade)
- Controle do pH
- Agentes químicos / limpeza (sais, ácidos orgânicos)
- Outros ingredientes (extrato) - Antimicrobianos naturais (CULTURAS BIOPROTETORAS)



©2023 Property of IFF Inc.

Public

Public

# TECNOLOGIA DE OBSTÁCULOS/BARREIRAS (HURDLE TECHNOLOGY)

**°C** Temperatura de processo

$a_w$  Atividade de água

**T** Temperatura de armazenamento

**pH** Acidez

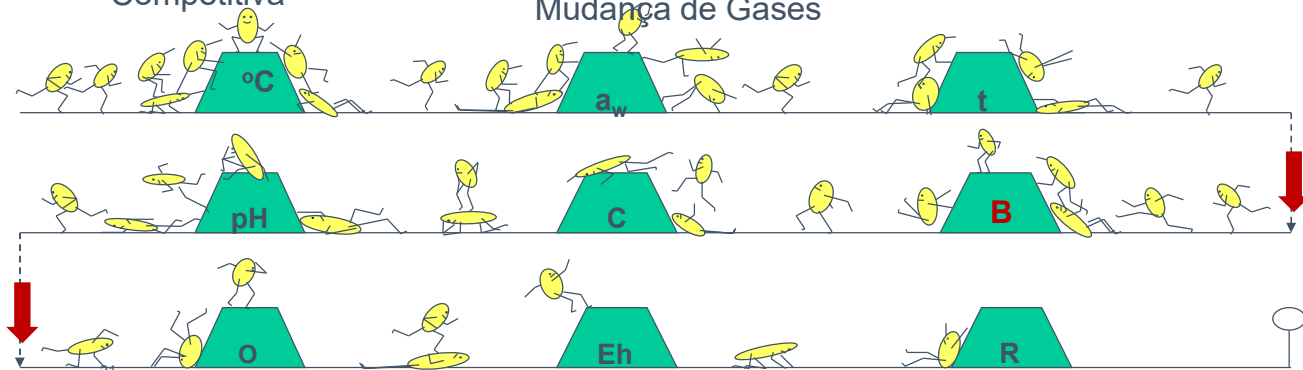
**C** Conservantes químicos

**B** Antimicrobianos/  
Culturas bioprotetoras

**O** Microbiota Competitiva

**Eh** Tensão de oxigênio  
Mudança de Gases

**R** Radiação UV  $\gamma$



©2023 Property of IFF Inc.

Public



# BIOPROTEÇÃO EM QUEIJOS

## EXEMPLOS PRÁTICOS: HOLDBAC® LC EM QUEIJOS



Public

## HOLDBAC® LC / YM-C – CONTROLE DE LEVEDURAS BENEFÍCIOS DE PROTEÇÃO - QUEIJO “MINAS FRESCAL”

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

Avaliação visual para formação de limo – a 10°C

	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias
Controle	-	+ /-	+	+ +
HOLDBAC® YM-C 5 DCU / 100 lts	-	-	-	+ /-
HOLDBAC® LC 2 a 5 DCU/ 100lts	-	-	+ /-	+

Public

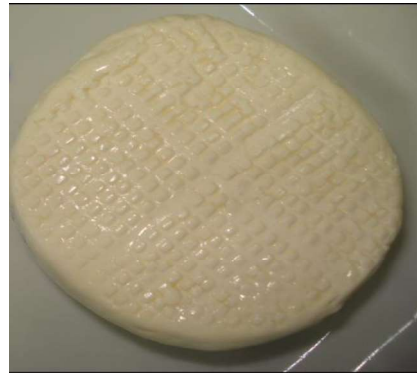
## HOLDBAC® LC / YM-C – CONTROLE DE LEVEDURAS BENEFÍCIOS DE PROTEÇÃO - QUEIJO “MINAS FRESCAL”



### CONTROLE

Depois de 14 dias –  
início formação de limo e bolores

©2023 Property of IFF Inc. Source: Study conducted internally



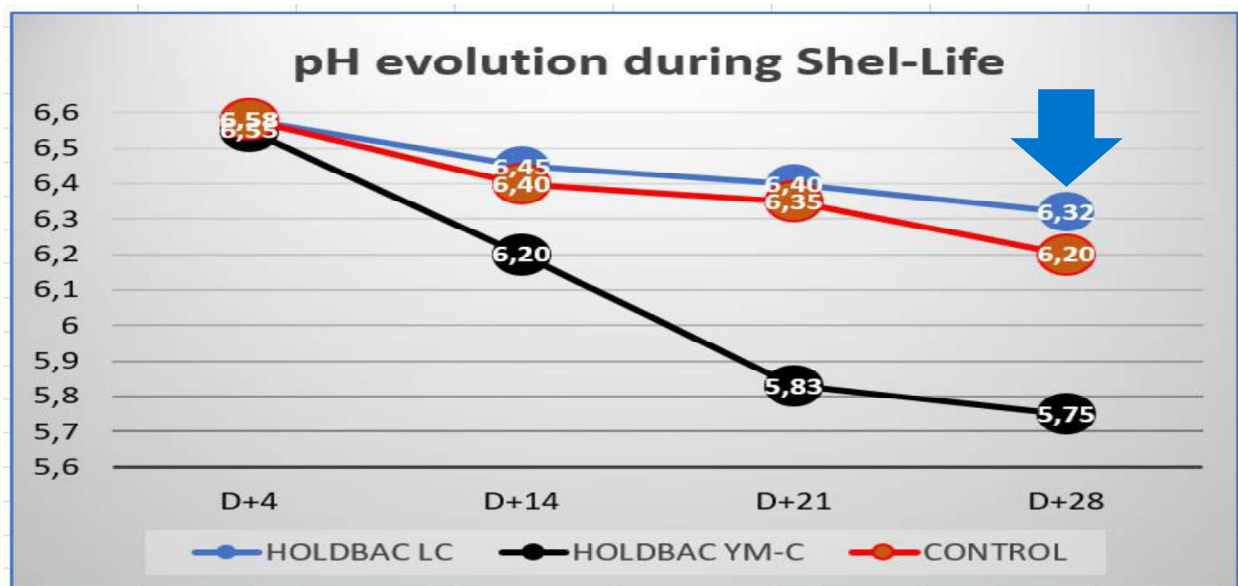
**HOLDBAC® LC** - *Lactobacillus rhamnosus*  
21 dias – Início formação de limo  
**HOLDBAC® YM-C**  
28 dias - início formação de limo

Public



Public

# HOLDBAC® LC / YM-C – CONTROLE DE LEVEDURAS QUEIJO FRESCO “MINAS FRESCAL”



©2023 Property of IFF Inc.

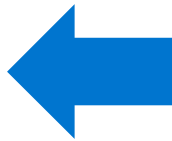
Public



Public

## HOLDBAC® LC – MAIS QUE BENEFÍCIOS DE PROTEÇÃO BENEFÍCIOS TECNOLÓGICOS QUEIJO “MINAS FRESCAL E QUEIJO COALHO”

Estabilidade do pH em valores altos durante a vida útil proporciona maior retenção de cálcio – baixa filagem do queijo



Controle de NSLAB\* e outros grupos com capacidade alta de proteólise – Queijo mais estável e matriz mais firme



\* NSLAB – Bactérias lácticas não iniciadoras/starter

Public

## **HOLDBAC® LC – MAIS QUE BENEFÍCIOS DE PROTEÇÃO BENEFÍCIOS TECNOLÓGICOS**

**CONTROLE DE NSLAB, CONTROLE DO pH E EFEITO POSITIVO NA  
ESTABILIDADE DO QUEIJO COALHO – BENEFÍCIOS TECNOLÓGICOS**



©2023 Property of IFF Inc.

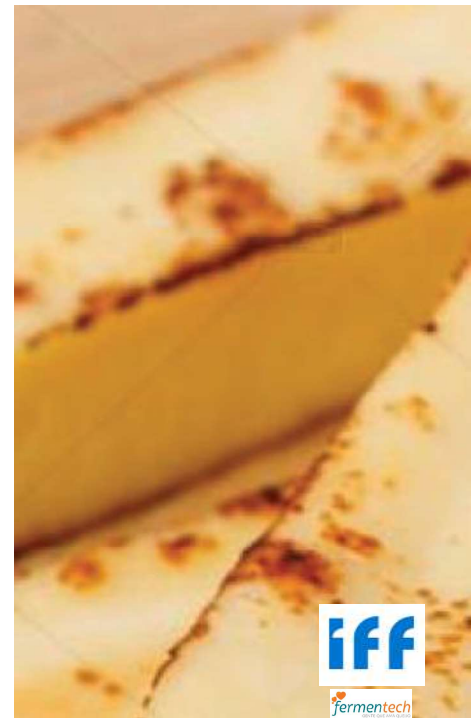
Public



## AVALIAÇÃO IN VITRO DE HOLDBAC® LC- PARA O CONTROLE DE ALGUNAS ESPÉCIES DE NSLAB

Segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade, constante da Instrução Normativa nº 30, de 26/06/2011, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, é o “queijo que se obtém por coagulação do leite por meio do coalho ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada ou não pela ação de bactérias lácteas selecionadas, e comercializado normalmente com até 10 (dez) dias de fabricação”. O queijo de coalho é um queijo de média a alta umidade, de massa semicozida ou cozida. Esse produto pode ainda ser adicionado de condimentos, desde que seja mencionado no rótulo.

Composição Média		
Umidade	41%	45%
Gordura	24%	28%
pH Sudeste	6,3%	6,4%
pH Nordeste	5,7%	5,8%
Sal	1,8%	2,4%



## **HOLDBAC® LC NO CONTROLE DE NSLAB E EFEITO POSITIVO NA ESTABILIDADE DO QUEIJO DE COALHO**

**O queijo de coalho - ausência do uso de cultivos lácticos starter**

- a) Necessita caseína intacta – alta proteólise impacta na textura dos queijos - amolecimento e liberação de gordura ao longo do tempo;**
- b) Baixa acidez no queijo/alto pH - abaixamento de pH - filagem do queijo durante o seu aquecimento.**

**As duas situações acima são desejáveis pois mantém a estrutura da matriz do queijo ao longo da sua vida útil.**

Public

## CONTROLE DE ALGUNAS ESPÉCIES DE NSLAB\* - CONTROLE PARCIAL DA PROTÉOLISE AVALIAÇÃO IN VITRO DE HOLDBAC®

*Lactobacillus brevis*



*Lactobacillus buchneri*



*Lactobacillus fermentum*



**HOLDBAC® LC**  
produz uma boa  
inibição frente a  
bactérias lácticas  
não iniciadoras -  
NSLAB

O Efeito de inibição se mede pelas zonas formadas, sem crescimento bacteriano, ao redor dos “pocinhos” inoculados com o HOLDBAC® LC.

\* NSLAB – Bactérias lácticas não iniciadoras/starter

Public

# HOLDBAC® LC NO CONTROLE DE NSLAB E EFEITO POSITIVO NA ESTABILIDADE DO QUEIJO DE COALHO PARA ASSAR

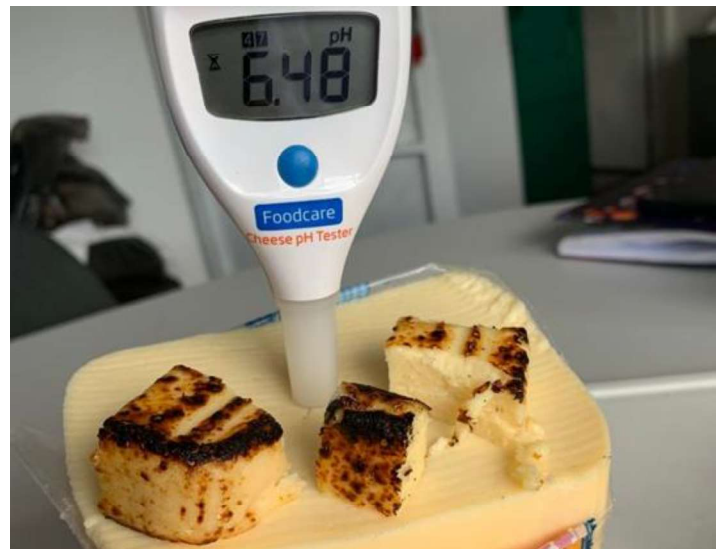


Public

## HOLDBAC® LC NO CONTROLE DE NSLAB, CONTROLE DO pH E EFEITO POSITIVO NA ESTABILIDADE DO QUEIJO DE COALHO

### Queijo com mais de 40 dias de produção!

Sudeste



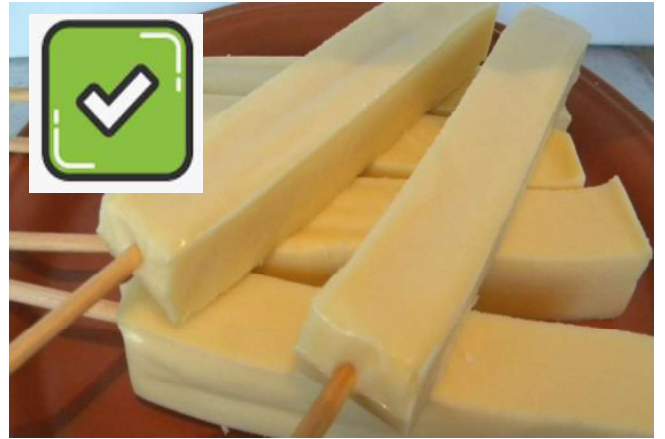
©2023 Property of IFF Inc

32

Public

Public

## HOLDBAC® LC AUXILIA NO CONTROLE E CRESCIMENTO DE FLORA CONTAMINANTE INDESEJÁVEL QUE PODE DESCARACTERIZAR O QUEIJO - ACELERANDO PROTEÓLISE E ACIDIFICAÇÃO



©2023 Property of IFF Inc.

Public

Public

# HOLDBAC® LC NO CONTROLE DE CONTAMINANTES E EFEITO POSITIVO NA ESTABILIDADE DO QUEIJOS PARA ASSAR – EFEITOS DA ALTA ACIDEZ



©2023 Property of IFF Inc.

Public



Public

## **HOLDBAC® LC NO CONTROLE DE NSLAB E EFEITO POSITIVO NA ESTABILIDADE DO QUEIJO COALHO**

O que se espera de positivo com o uso do HOLDBAC® LC em queijo coalho:

- a) Um controle maior do crescimento de uma flora indesejável durante a fabricação e durante a vida útil do queijo (NSLAB E OUTROS CONTAMINANTES em geral)

O benefício do uso de HOLDBAC® LC em queijo coalho:

- a) Controle do crescimento dessa flora indesejável mantendo o queijo com sabor mais fresco, derretimento controlado e mais estável ao longo da vida útil –

**O queijo permanece mais firme e mais aderido ao palito ao longo da vida útil.**

Public

## **HOLDBAC® LC (*Lactobacillus rhamnosus*) NO CONTROLE DE *Pseudomonas***



**Doses de 3 a 5 DCU  
por 100 litros de leite  
antes da coagulação  
do leite - AUXILIA NO  
CONTROLE por  
competição de flora**

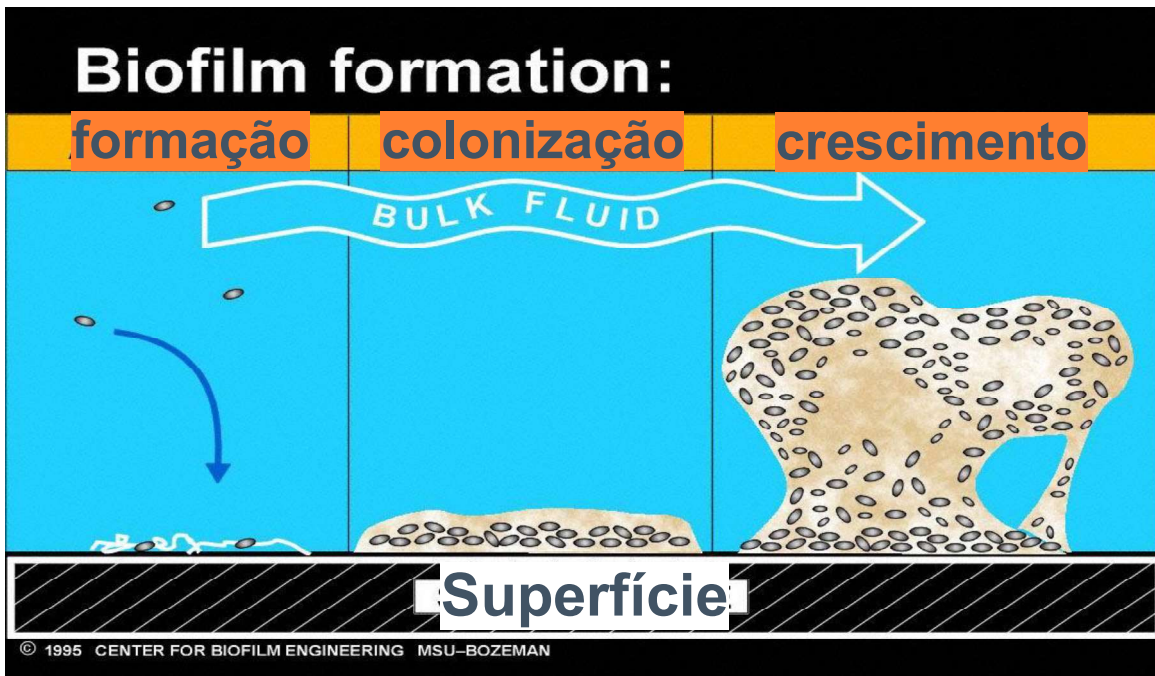
cor azul ou azul esverdeada em queijos de alta ou muita alta umidade  
**Biofilmes em linha podem estar associados a diversos problemas  
relacionados a contaminação microbiológica**

©2023 Property of IFF Inc.

Public



Public



©2023 Property of IFF Inc.

Public



Public

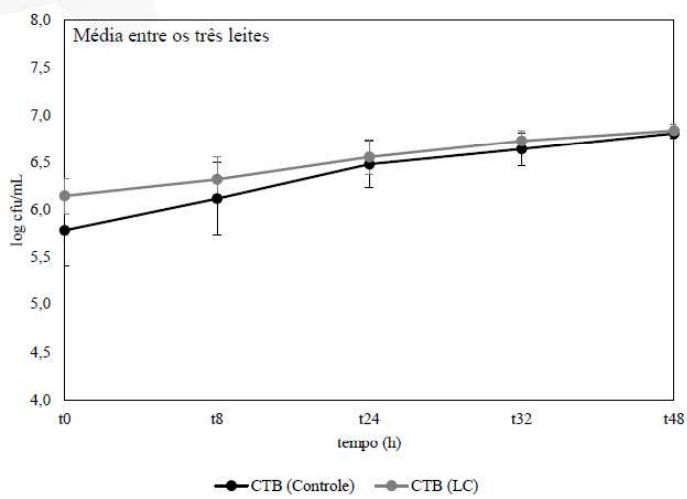


©2023 Property of IFF Inc.



Public

# HOLDBAC® LC EM LEITE CRU PARA CONTROLE DA FLORA TOTAL



Estocagem  
7,0°C

1x10<sup>6</sup> UFC/ml de  
HOLDBAC® LC



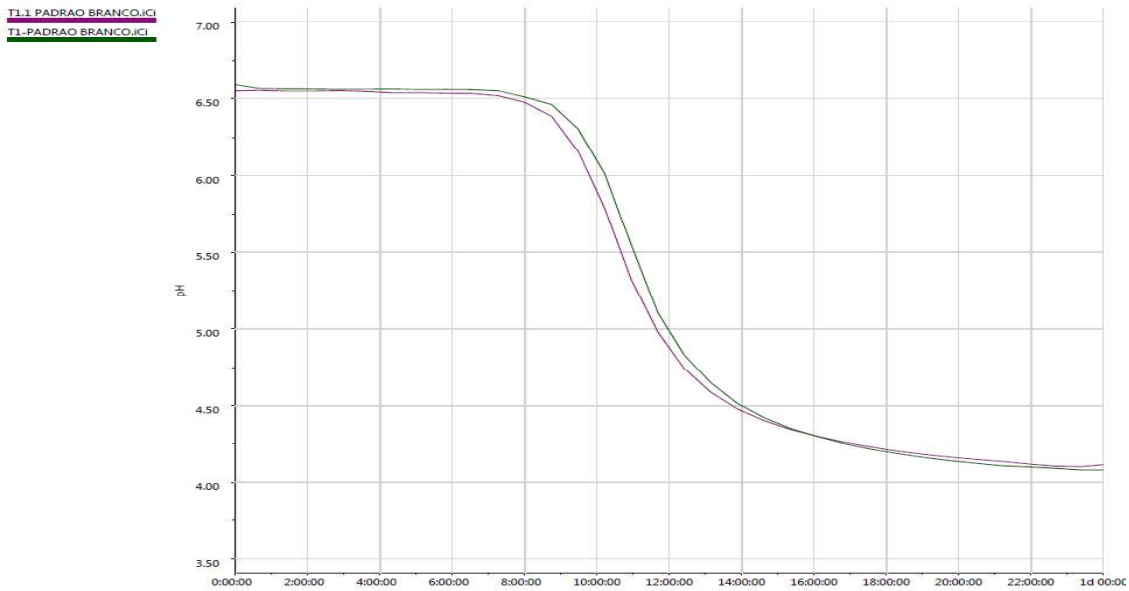


# HOLDBAC® LC IN „PASTA FILATA“ UMA ABORDAGEM PRELIMINAR

“avaliação preliminar do impacto na  
fermentação em queijos com uso de  
*Streptococcus thermophilus* puros”

Public

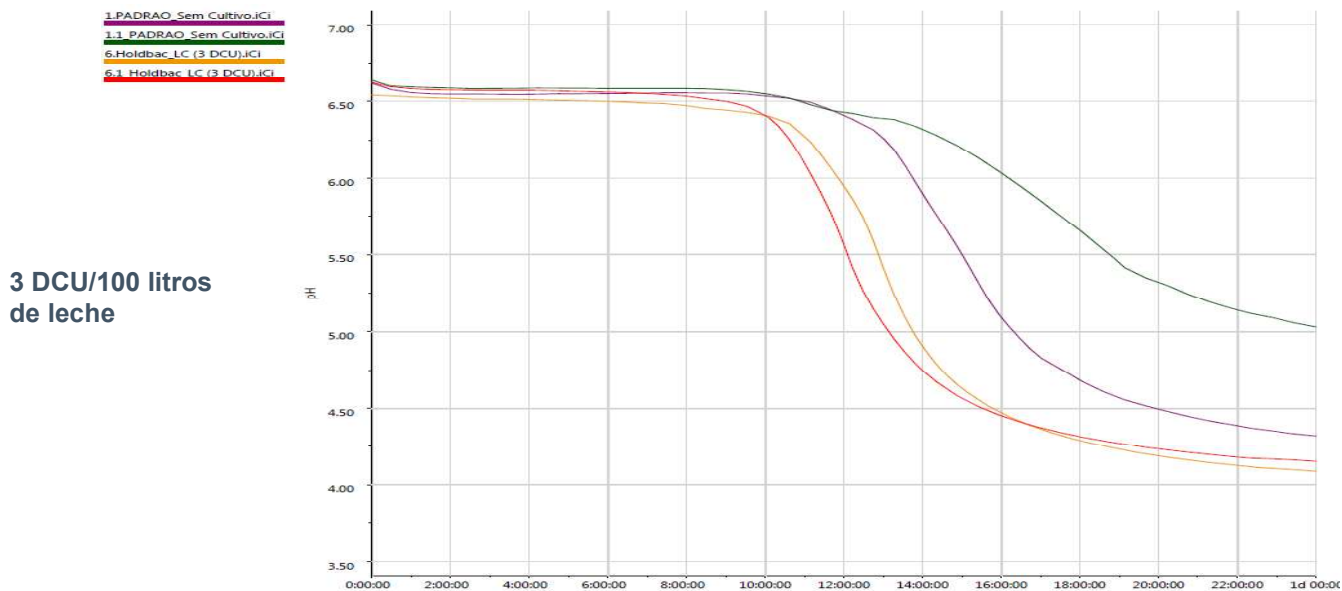
# CURVAS EM LEITE PASTEURIZADO – SEM CULTURAS LÁTICAS



Public

Public

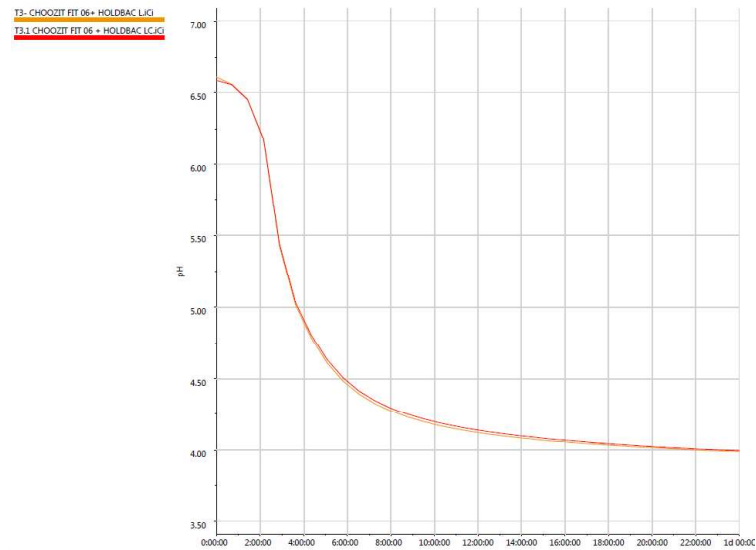
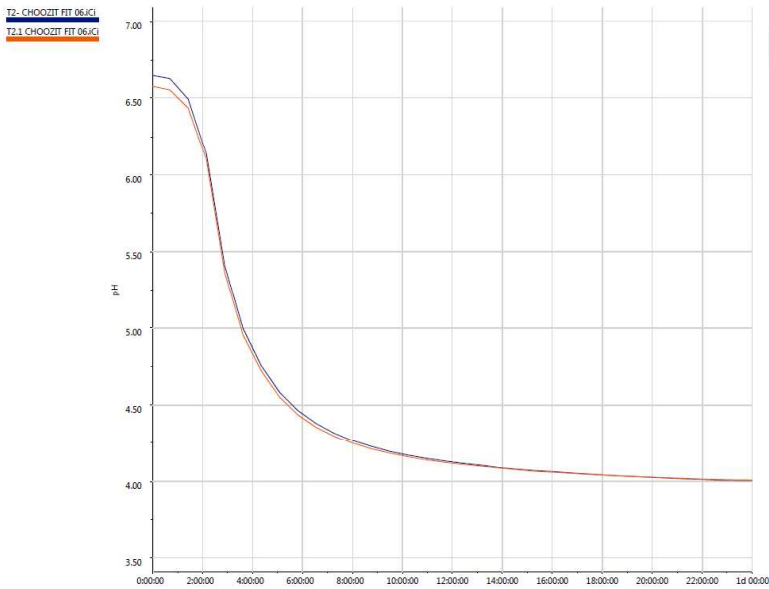
## CURVAS EM LEITE PASTEURIZADO – COM HOLDBAC® LC APENAS



Public

Public

# CURVAS EM LEITE PASTEURIZADO – COM CHOOZIT® FIT ISOLADO E COM CHOOZIT® FIT + HOLDBAC® LC



5 DCU/100 litros CHOOZIT FIT +  
3 DCU/100 litros HOLDBAC LC

Public



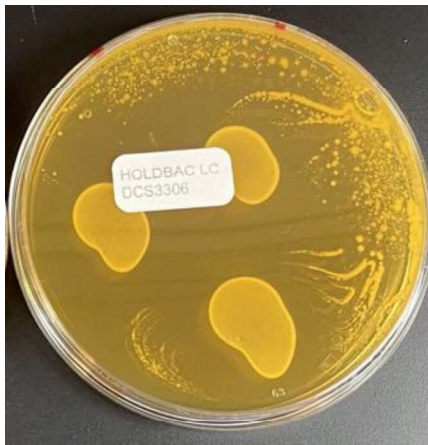
# CONTROLE DA FERMENTAÇÃO BUTÍRICA

## APLICAÇÃO DAS CULTURAS PROTETORAS EM QUEIJOS

Public

## HOLDBAC® LC- *Lactobacillus rhamnosus* CONTROLE DE CLOSTRIDIA – IN VITRO

*Clostridium tyrobutyricum* DCS3306



- Good inhibitor of *Clostridium tyrobutyricum* DCS3306 with HOLDBAC® LC – *Lactobacillus rhamnosus*

*Clostridium tyrobutyricum* DCS3308



- Good inhibitor of *Clostridium tyrobutyricum* DCS3308 with HOLDBAC® LC – *Lactobacillus rhamnosus*

Public

Public

## HOLDBAC® LC- *Lactobacillus rhamnosus* CONTROLE DE CLOSTRIDIA – IN VITRO

*Clostridium tyrobutyricum* DCS3309



- Good inhibition of *Clostridium tyrobutyricum* DCS3309 with HOLDBAC® LC – *Lactobacillus rhamnosus*

*Clostridium tyrobutyricum* DCS3310



- Good inhibition of *Clostridium tyrobutyricum* DCS3310 with HOLDBAC® LC – *Lactobacillus rhamnosus*

Public

# CULTURAS PROTETORAS EM FERMENTADOS

IOGURTES E BEBIDAS  
LÁCTEAS FERMENTADAS

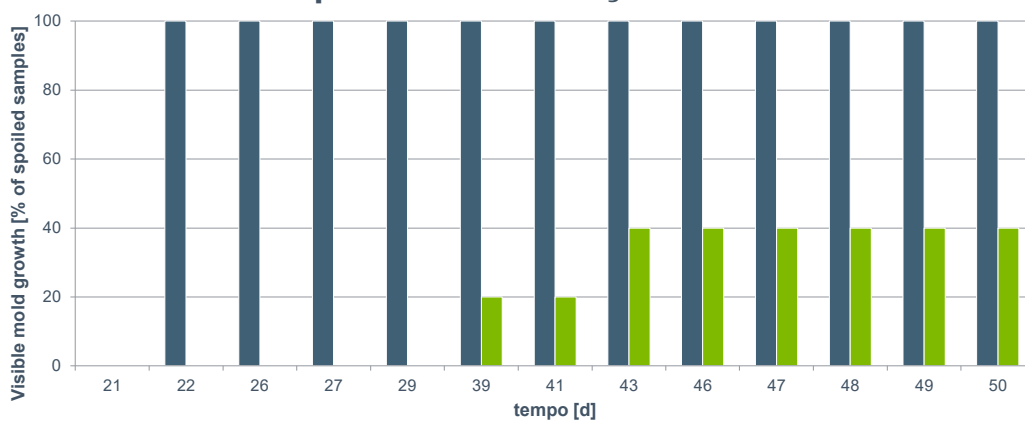
LINHA HOLDBAC® YM



Public

# HOLDBAC® YM-XPM - IOGURTE CONTROLANDO BOLORES PARA MINIMIZAR PERDAS

## Challenge com bolores – tempo sem visualização de bolores



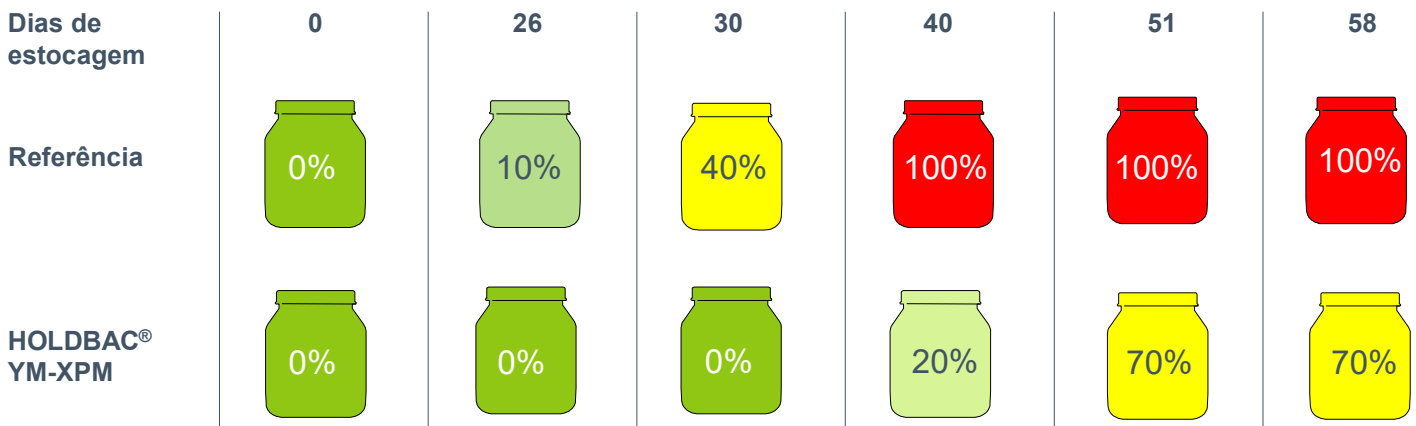
■ YO-MIX® 495 ■ YO-MIX® 495 + HOLDBAC® YM-XPM

Fonte: estudo interno

Dosagem	HOLDBAC™ YM-XPM at 10 DCU / 100l leite
bolor challenge	Pool of 3 cepas a 15 esporos/g
Cultura de iogurte	YO-MIX® 495
condicoes do teste	estocado a 5°C por 50 dias

Public

## HOLDBAC® LINHA YM EM IOGURTE – ESTUDO COM INOCULAÇÃO - BOLORES

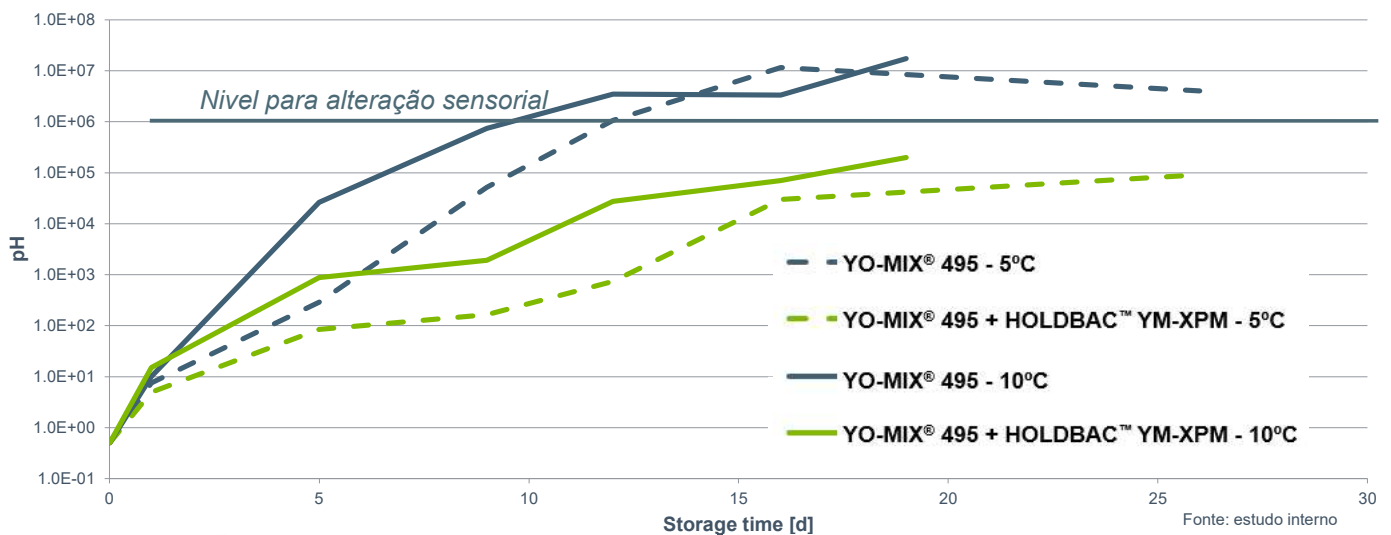


Amostras avaliadas – para deterioração visível por fungos (%)

**Conclusões:** HOLDBAC® YM - 2 semanas mais comparado coma referência – amostras a 5°C

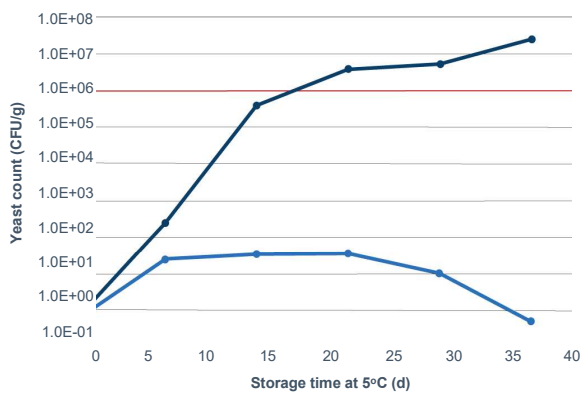
Public

# HOLDBAC® YM-XPM EM IOGURTE CONTROLANDO LEVEDURAS PARA MINIMIZAR PERDAS



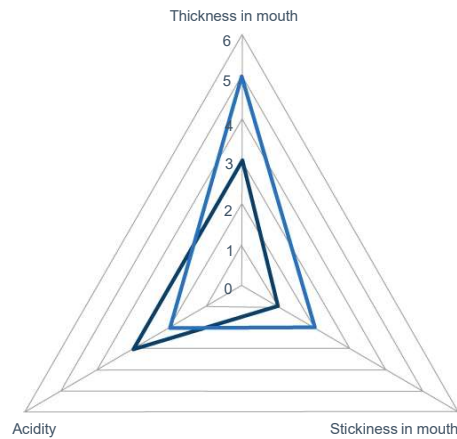
<b>Dosagem</b>	HOLDBAC® YM-XPM a 10 DCU / 100l leite
<b>Nível de inoculação</b>	Pool de 2 leveduras a 18 CFU/10g
<b>Cultura de iogurte</b>	YO-MIX® 495
<b>Condições teste</b>	Estocado a 5°C e 10°C por 33 dias

# HOLDBAC® YM-XPM EM IOGURTE



— Reference — HOLDBAC® YM-XPM

**Pool de leveduras - *Debaryomyces hansenii* 529-J + *Rhodotorula mucilaginosa* 530-J = 5 yeasts per 10 g of yogurt**



## Caso

Teste de inibição com HOLDBAC® YM-XPM contra bolores e leveduras em iogurte

## Resultdos

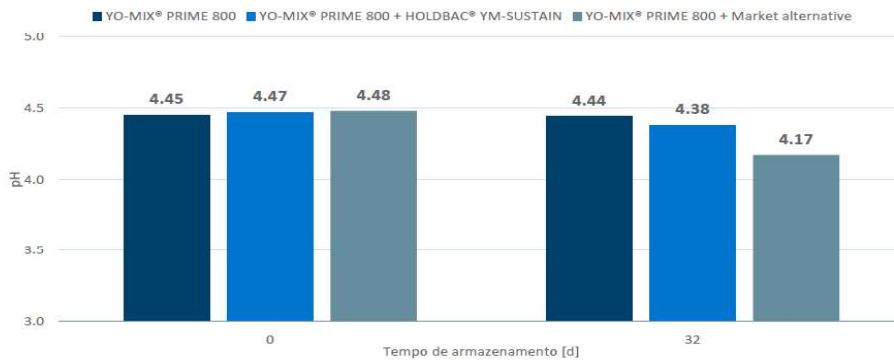
- Contagem abaixo de 100 CFU/g nas amostras com HOLDBAC® YM-XPM durante 35 dias de armazenameto

## Conclusão

- HOLDBAC® YM-XPM não interferiu no sabor suave do iogurte – pos acidificação

## HOLDBAC® LINHA YM EM IOGURTE

### PÓS-ACIDIFICAÇÃO NO IOGURTE A 10 °C HOLDBAC® YM-SUSTAIN com culturas lácticas da nova geração

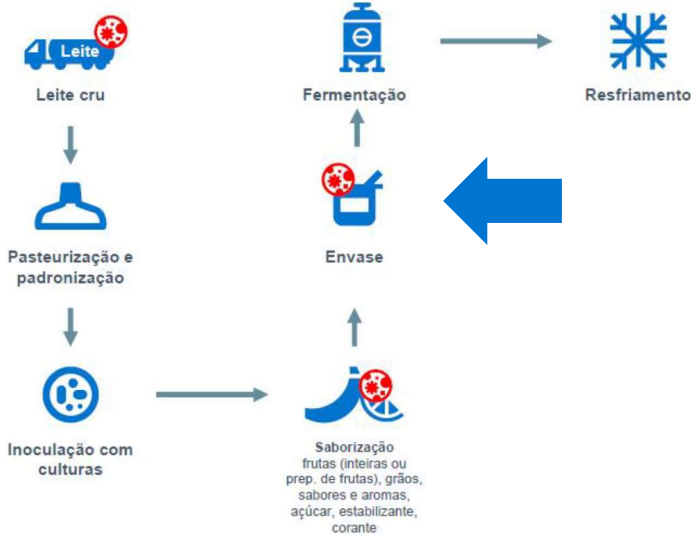


HOLDBAC® YM-SUSTAIN mostrou menos pós-acidificação no iogurte comparado à alternativa do mercado após 32 dias em 10 °C (leve abuso de temperatura)



<b>Dose</b>	HOLDBAC® YM-SUSTAIN, 10 DCU/100 L
<b>Cultura</b>	YO-MIX® PRIME 800 (iogurte, 3,5% de gordura)
<b>Condições de armazenamento</b>	10°C por 32 dias

# RISCOS DE CONTAMINAÇÃO NA FABRICAÇÃO DE IOGURTES



Risco de contaminação



Public

## HOLDBAC® YM EM IOGURTE



Máquinas de envase são pontos críticos - leveduras



©2023 Property of IFF Inc.

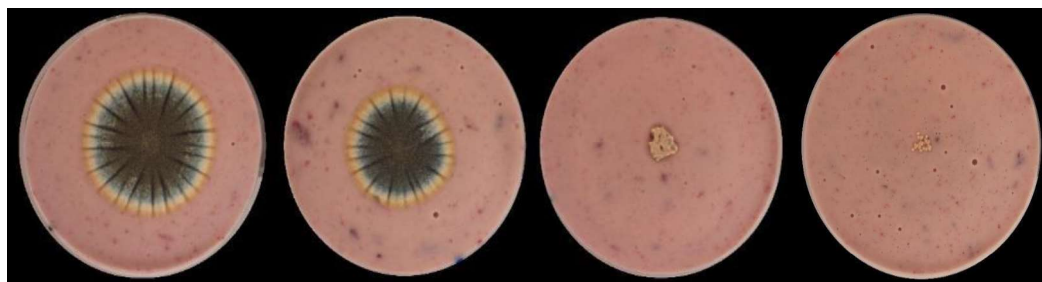
Public



Public

# “SORBATO DE POTÁSSIO É SEMPRE MAIS EFICIENTE QUE A LINHA HOLDBAC®?”

Crescimento de bolor (*Penicillium camemberti*) em iogurte com frutas



Reference

Reference +  
250 ppm sorbate

5 DCU  
HOLDBAC® YM-B  
PLUS

10 DCU  
HOLDBAC® YM-B  
PLUS

## Fato

Sorbato NÃO é a melhor solução em muitos casos

—  
HOLDBAC® YM pode apresentar melhores resultados especialmente contra bolores !



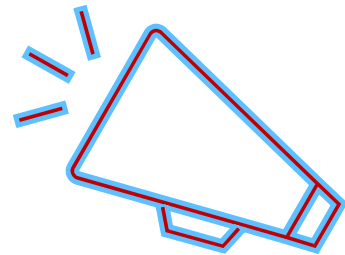
# A ROTULAGEM E A LEGISLAÇÃO

Public

## PARA UM RÓTULO LIMPO

HOLDBAC® - Culturas Protetoras são declaradas como culturas lácticas

mas sempre importante



**Consultar sempre a legislação local antes de aplicar qualquer produto**

Public

Public

## PERGUNTAS....



Public