



## VIABILIDADE DA CEPA *L.MUCOSAE* POTENCIALMENTE PROBIÓTICA EM QUEIJO DE CABRA TIPO COALHO

Moraes GMD<sup>1</sup>, Santos KMOD<sup>3</sup>, Barcelos SC<sup>4</sup>, Lopes SA<sup>4</sup>, Egito AS<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia do Ceará - IFCE - Campus Sobral e RENORBIO/UECE, <sup>2</sup>Embrapa Caprinos e Ovinos, Fazenda Tres Lagoas, Sobral-Ce, <sup>3</sup>Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro - RJ., <sup>4</sup>Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia do Ceará - IFCE - Campus Sobral

### Introdução

Os alimentos com alegação de propriedade probiótica representam hoje uma das principais tendências do mercado de alimentos. Os probióticos são definidos como microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, afetam positivamente a saúde do hospedeiro.<sup>1</sup> São geralmente bactérias dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*.<sup>2</sup>

Diversos benefícios têm sido atribuídos à ingestão regular de alimentos contendo microrganismos probióticos vivos, entre os quais destacam-se a prevenção de infecções gastrointestinais e a ação imunomoduladora.<sup>1</sup> Por outro lado, sob o aspecto econômico, a incorporação de atributos de saúde adicionais aos alimentos constitui uma oportunidade de negócio promissora, devido à expansão do mercado global de alimentos funcionais e ao alto valor agregado desses produtos.

O gênero *Lactobacillus* possui várias espécies potencialmente probióticas, dentre as quais *Lactobacillus mucosae*, nome proposto pela primeira vez em 2000,<sup>3</sup> sendo caracterizados como bastonetes, Gram-positivo, catalase-negativo, não formador de esporos, sem motilidade e heterofermentativo. O fato desta bactéria ácido láctica possuir aderência ao muco gastrointestinal torna-a com grande potencial para produção de alimentos probióticos, uma vez que esta característica aumenta a sua capacidade de colonizar o intestino eficientemente, modulando o sistema imune do intestino e inibindo bactérias patogênicas.<sup>4</sup> Tais características tem despertado interesse dos pesquisadores.

Os queijos possuem diversas características que podem auxiliar na manutenção da viabilidade dos micro-organismos probióticos. Dentre essas características, destacam-se o pH, sua matriz sólida, sua alta atividade de água e uma concentração relativamente elevada de gordura. Esses fatores auxiliam na manutenção da viabilidade dos microrganismos durante o



armazenamento, oferecendo proteção aos probióticos durante a passagem pelo trato gastrointestinal dos seres humanos.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o desempenho de uma cepa potencialmente probiótica de *Lactobacillus mucosae* CNPC007, isolada de leite de cabra, no processamento de queijo coalho caprino. A cepa é considerada potencialmente probiótica por possuir genes relacionados a adesão intestinal, apresentar boa resistência a condições gastrointestinais simuladas in vitro e capacidade de desconjugar sais biliares. Para a realização do experimento foi utilizado *Streptococcus thermophilus* como cultura iniciadora, em co-cultura com *L. mucosae* CNPC007.

## Material e Métodos

### Produção do queijo

Inicialmente foi realizado a pesagem e filtragem do leite, seguida de pasteurização 65°C/30 min e resfriamento até 37±2°C. Foi adicionada a cultura iniciadora de *S. thermophilus* TA-40 Yo-Mix™ Yogurt Cultures (DuPont®, Dangé, França) (0,003% p/v) em co-cultura com o fermento potencialmente probiótico de *Lactobacillus mucosae* (0,2% p/v), permanecendo em repouso por 30min e posterior adição de cloreto de cálcio (0,04%) e coalho (0,08% p/v). Após 40 minutos de coagulação foi realizado o corte e mexeduras da massa em cubos de cerca de 2 cm<sup>2</sup>, seguido de períodos de repouso e mexeduras alternadas. Em seguida foi realizada a retirada de cerca de 50% de soro, o qual foi aquecido a 70°C retornado ao tanque com finalidade de elevar a temperatura da massa a 50°C, mantida por 8 minutos. Prosseguiu-se com a retirada de 90% do soro para a realização da salga (0,8% de sal p/v). Após a retirada de todo o soro foi realizada a enformagem, prensagem e acondicionamento dos queijos a 4°C±2°C por 48horas, para posterior embalagem à vácuo e armazenamento refrigerado a 4°C ±2°C durante 28dias. Foram produzidos três lotes de queijo.

### Viabilidade de *L. mucosae* CNPC007 e *S.thermophilus* nos queijos

A enumeração da cepa potencialmente probiótica e do starter *S.thermophilus* foi realizada após o processamento dos queijos (dia 1) e aos 28 dias de maturação. Foram preparadas diluições decimais de amostras do queijo 25g em solução salina 0,85% utilizando-se um homogeneizador Bag Mixer (Interscience, St. Nom, França) por 180 segundos. Diluições decimais subsequentes foram preparadas utilizando APT (0,1%) (AOO92, Synth) (10<sup>-6</sup> a 10<sup>-8</sup>). A contagem de *L.mucosae* CNPC007 foi realizada por semeadura em profundidade (*pour plate*) de 1 mL das diluições apropriadas em ágar MRS (Oxoid, Basigstoke, Reino Unido) acidificado a pH 5,4.<sup>5</sup> Para a enumeração de *S. thermophilus* a semeadura foi feita em ágar M17 (Oxoid) suplementado com solução de lactose a 10% (Synth) (50 ml/L), seguida de incubação em



aerobiose a 37°C/48h.<sup>5</sup> As análises foram realizadas em duplicata, para cada um dos três lotes.

## Análise Estatística

Os resultados obtidos foram submetidos a Análise de Variância (ANOVA), seguida do teste de Tukey com 5% de significância.<sup>6</sup>

## Resultados e Discussão

A seleção de uma cultura *starter* apropriada para cada cultura probiótica é fundamental para a obtenção de produtos frescos fermentados com boa sobrevivência dos probióticos durante a vida de prateleira. A cultura *starter* deve produzir compostos que favoreçam a multiplicação da cultura probiótica ou promover redução da tensão de oxigênio.<sup>7</sup> Como observado na Tabela 1, a utilização de *S. thermophilus* foi compatível com o *Lactobacillus mucosae* CNPC007, pois as populações de ambas no queijo se elevaram ao longo do período de armazenamento, diferindo estatisticamente das contagens realizadas no primeiro dia após o processamento.

**Tabela 1- Viabilidade de *Lactobacillus mucosae* CNPC007 e *S. thermophilus* em queijo caprino tipo Coalho durante armazenamento a 4°C**

Tempo (dias)	<i>L. mucosae</i> (UFC/g)	<i>S. thermophilus</i> (UFC/g)
1	1,9 x10 <sup>8</sup> b	7,1 x10 <sup>8</sup> b
28	5,4 x10 <sup>8</sup> a	1,7x10 <sup>9</sup> a

Médias com letras iguais na mesma coluna não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

A concentração da cepa potencialmente probiótica no queijo produzido manteve-se acima dos padrões exigidos pela legislação brasileira, pois a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) <sup>8</sup> preconiza que uma porção diária de bebida ou alimento pronto para o consumo apresente entre 10<sup>8</sup> e 10<sup>9</sup> unidades formadoras de colônias (UFC) do probiótico utilizado, quantidade de micro-organismos viáveis que deve ser ingerida diariamente para obtenção do efeito benéfico.<sup>8</sup> Considerando a porção preconizada para queijos (30g), o queijo desenvolvido apresentou 10<sup>9</sup> UFC por porção.

## Conclusão



Os resultados obtidos indicam que o queijo coalho desenvolvido possui características que favorecem o crescimento e manutenção da viabilidade da cepa *Lactobacillus mucosae* CNPC007 durante o período estudado. A utilização de *S. thermophilus* em co-cultura com a cepa *L. mucosae* CNPC007 foi considerada promissora.

## Referências

- 1- FAO/WHO. [Internet]. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. [updated 2001 Oct; cited 2015 Feb,10]. Available from: [http://www.who.int/foodsafety/publications/fs\\_management/en/probiotics.pdf](http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics.pdf)
- 2- Mathara JM, Schillinger U, Guigas C, Franz C, Kutima PM, Mbugua SK, Shin HK, Holzapfel WH. Functional characteristics of *Lactobacillus* spp. from traditional fermented milk products in Kenya. *Int. J. Food Microbiol.* 2008; 126(1-2): 57-64.
- 3- Roos S, Karner F, Axelsson L, Jonsson H. *Lactobacillus mucosae* sp. nov., a new species with in vitro mucus-binding activity isolated from pig intestine. *Int. J. Syst. Evol. Microbiology.* 2000; 50: 251–258.
- 4- Bilková A, Sepova HK, Bukovsky M, Bezakova L. Antibacterial potential of lactobacilli isolated from a lamb. *Veterin. Med.* 2011; 56(7): 319–324.
- 5- International Dairy Federation. Fermented and non-fermented milk products. detection and enumeration of *Lactobacillus acidophilus*. Culture media. Brussels: International Dairy Federation, [Bulletin of the IDF, 306]. 1995.
- 6- Statistical Analysis Systems - SAS Institute Inc. 2009. SAS Online Doc. 9.2. Cary, NC: SAS Institute Inc. 2009.
- 7- Saarela M, Mogensen G, Fondén R, Mättö J, Mattilasandholm T. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *J. Biotechnol.* 2000; 84: 197-215.



8- BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos. VIII- Lista das alegações aprovadas. Brasília: Ministério da Saúde; 2008.
