

APTIDÃO TECNOLÓGICA DE 13 CEPAS DE *Lactobacillus plantarum* PARA FABRICAÇÃO DE PRODUTOS LÁCTEOS

Moraes GMD¹, Salles HO², dos Santos KMO³, Egito AS²

¹ Instituto Federal do Ceará – IFCE Campus Sobral/ Universidade Estadual do Ceará – RENORBIO, ² Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral – CE, ³ Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro - RJ

Introdução

Para a utilização de culturas bacterianas na tecnologia de fabricação de produtos lácteos, seu desempenho tecnológico deve ser avaliado. Culturas lácticas com boas propriedades tecnológicas devem apresentar boa multiplicação no leite, promover propriedades sensoriais adequadas no produto e ser estáveis, viáveis e funcionais durante o armazenamento (Vinderola *et al.*, 2008).

Sendo a proteólise um evento bioquímico que ocorre nas etapas de elaboração e maturação de alguns produtos lácteos fermentados, a seleção de cepas bacterianas com elevada atividade proteolítica torna-se desejável, por resultar na liberação de peptídeos, cetonas e aminoácidos livres de cadeia curta responsáveis pela textura, sabor e aroma desses alimentos (Beganovic *et al.*, 2013).

Durante o metabolismo bacteriano há produção de outros compostos, tais como, acetaldeído, diacetil, CO₂, etanol que conferem modificações na estrutura e sabor do produto. Entre eles, acetaldeído e diacetil são notavelmente importantes para o desenvolvimento do sabor, aroma e odor característico destes produtos (Bonczar *et al.*, 2002).

O presente estudo teve como objetivo avaliar a aptidão tecnológica de 13 cepas de *Lactobacillus plantarum* isoladas de leite ou queijo caprino.

Material e Métodos

Atividade proteolítica

As cepas foram cultivadas conforme Moraes *et al.* (2016) e submetidas ao protocolo de Tsakalidou *et al.* (1999) para determinação da atividade proteolítica. A concentração de proteína dos extratos foi calculado utilizando o método de Bradford (1976). Albumina de soro bovino foi utilizada como padrão.

A atividade proteolítica foi realizada usando o o-phthaldialdehyde (OPA), como descrito por Church *et al.* (1983). A atividade específica foi calculada dividindo-se a atividade proteolítica pela concentração de proteína previamente determinado.

Capacidade de Acidificação e Coagulação do Leite

Foi inoculado 1% de cultura *overnight* de cada cepa em leite desnatado previamente esterilizado e incubado a 37 °C. Para determinar a acidez titulável, uma alíquota de 10mL de leite inoculado foi retirada após 6 h e

16 h de incubação e titulado com hidróxido de sódio (NaOH) a 0,1 N, sendo o resultado expresso em graus Dornic (°D). A coagulação do leite foi verificada visualmente, e as cepas foram divididas em dois grupos: de coagulação rápida, que coagulam o leite em menos de 16 h, e de coagulação lenta, quando requerem tempo superior a 16h.

Produção de Diacetil

Foi inoculado 1% de cultura overnight de cada cepa em leite desnatado previamente autoclavado a 110 °C durante 15 minutos, e incubado a 37 °C por 24 hs. Após a incubação, foram retirados 5 mL de leite e adicionados 2,5 ml de α -naftol a 0,5 % m/v em etanol e 5 mL de KOH-creatina (KOH 40 % m/v em água + 0,3 g de creatina), de acordo com método de Barrit (Harrigan, 1998).

Resultados e Discussão

Atividade proteolítica

As cepas de *L. plantarum* apresentaram atividade específica variável (Tabela 1). A cepa CNPC 020 destacou-se pela atividade específica muito superior às demais cepas avaliadas, cerca de quatro vezes superior à da *L. plantarum* CNPC 003, que também apresentou um bom desempenho em termos de atividade específica. Diferentes valores de atividade proteolítica têm sido relatados na avaliação de cepas de *L. plantarum* (Georgieva *et al.*, 2009).

Capacidade de Acidificação e Coagulação do Leite

Com base nos valores de pH e acidez titulável (Tabela 1), pode-se inferir que as cepas de *L. plantarum* avaliadas caracterizam-se como culturas adjuntas, em função da lenta e baixa capacidade de acidificação do leite. A redução do pH para valores próximos de 5,5 ocorreu, geralmente, 16 h após o início da fermentação e a maioria das cepas apresentou formação de coágulo tardio.

Uma maior capacidade de coagulação do leite foi observada para as cepas *L. plantarum* CNPC 003 e CNPC 020. Este fato ocorreu provavelmente em função da maior capacidade de acidificação e maior atividade proteolítica apresentada por estas cepas simultaneamente. A proteólise pode contribuir para precipitação e coagulação da caseína, alterando a consistência original do leite (Verdi *et al.*, 1987).

Produção de diacetil

Com base nos resultados apresentados na Tabela 1, todas as 13 cepas de *L. plantarum* estudadas são produtoras de diacetil (2,3-butanodiona), com diferentes intensidades. Uma coloração rosa intensa e um halo espesso foi registrado para cepa de *L. plantarum* CNPC 003, indicando que esta cepa é forte produtora deste composto aromático.

A presença de diacetil em queijo coalho tem sido associada ao aroma de manteiga que é característico deste tipo de produto. Tais atributos são os

mais apreciados pelos consumidores, sendo considerados os de maior impacto na qualidade sensorial dos produtos lácteos (Rincon-Delgadillo *et al.*, 2012).

Tabela 1 - Propriedades tecnológicas de cepas nativas de *L. plantarum*.

Cepas de <i>Lactobacillus plantarum</i>	Atividade Específica (U/mg PTN)	Capacidade de Acidificação				Teste de Coagulação	Produção de Diacetil
		6 horas		16 horas			
		pH	Acidez (°D)	pH	Acidez (°D)		
CNPC 001	83,22	6,5	19,25	5,7	28	S	+
CNPC 002	73,74	6,6	18,5	5,7	27,55	S	+
CNPC 003	963,71	6,5	20,25	4,6	61,5	F	+++
CNPC 004	228,31	6,1	20	5,6	31	F	+
CNPC 011	126,35	6,5	19,5	5,6	31	F	++
CNPC 020	3640,96	6,8	17,25	5,4	27,5	F	+
CNPC 024	3,04	6,5	19	5,6	30	S	+
CNPC 027	19,33	6,2	24,25	5,5	37	S	+
CNPC 032	106,16	6,4	20	5,3	17,5	F	++
CNPC 036	36,97	6,5	19,25	5,8	26,25	S	+
CNPC 037	202,41	5,9	23	5,6	30,5	S	+
CNPC 038	8,82	6,2	18	5,8	27,75	S	+
CNPC 040	19,55	6,5	18,75	5,5	37,75	S	++

+:pequeno halo cor de rosa claro ++:pequeno halo cor de rosa bem escuro ,+++:grande halo cor de rosa bem escuro.

S: coagulação depois de 16 horas, F: coagulação antes de 16 horas.

Conclusão

Dentre as cepas estudadas, *L. plantarum* CNPC 003 e CNPC 020 foram as que apresentaram maior atividade proteolítica. No entanto, a cepa de *L. plantarum* CNPC 003 reúne as melhores características de aptidão tecnológica, mostrando-se promissora para a produção de produtos lácteos.

Referências

- 1- Vinderola, G. Capellini, B., Villarreal, F., Suarez, V., Quiberoni, A., Reinheimer, J. Usefulness of a set of simple in vitro tests for the screening and identification of probiotic candidate strains for dairy use. *LWT - Food Science and Technology*. 2008; 41(9):1678-1688.
- 2- Beganović, J., Kos, B., Pavunc, AL., Uroić, K., Džidara, P., Šušković, J. Proteolytic activity of probiotic strain *Lactobacillus helveticus* M92. *Anaerobe*. 2013; 20: 58-64.
- 3- Bonczar, G., Wszolek, M., Siuta A. The effects of certain factors on the properties of yoghurt made from ewe's milk. *Food Chemistry*. 2002; 79(1): 85-91.

- 4- Moraes, GMD., Abreu, IR., Egito, AS., Salles, HO., Silva, LMF., Nero, LA. Functional Properties of *Lactobacillus mucosae* Strains Isolated from Brazilian Goat Milk. Probiotics & Antimicrobial Proteins. 2016. DOI 10.1007/s12602-016-9244-8.
- 5- Tsakalidou, E., Anastasiou, R., Vandenberghe, I., Van Beeumen, J., Kalantzopoulos, G. Cell-wall-bound proteinase of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* ACA-DC 178: characterization and specificity for β -casein. Applied and environmental microbiology.1999; 65(5): 2035-2040.
- 6- Bradford, Marion M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical biochemistry. 1976; 72: 248-254.
- 7- Church, FC., Swaisgood, HE., Porter, DH., Catignani, GL. Spectrophotometric assay using o-phthaldialdehyde for determination of proteolysis in milk and isolated milk proteins¹. Journal of Dairy Science.1983; 66(6): 1219-1227.
- 8- Harrigan, WF. Laboratory Methods in Food Microbiology, 3 ed. Academic Press, San Diego, 1998.
- 9- Georgieva, R., Iliev, I., Haertlé, T., Chobert, JM., Ivanova, I., Danova, S. Technological properties of candidate probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. International Dairy Journal.2009; 19(11): 696-702.
- 10- Verdi, RJ., Barbano, DM., Dellavalle, ME., Senyk, GF. Variability in true protein, casein, nonprotein nitrogen, and proteolysis in high and low somatic cell milks. Journal of Dairy Science.1987; 70(2): 230-242.
- 11- Rincon-Delgadillo, I., Lopez-Hernandez, A., Wijaya, I., Rankin, SA. Diacetyl levels and volatile profiles of commercial starter distillates and selected dairy foods. Journal of dairy science. 2012; 95(3): 1128-1139.