

Coordenação de Armindo Rodrigues

**Autores:**  
Célia Costa Silva  
Susana Ribeiro  
Márcia Coelho  
Maria de Lurdes Enes Dapkevicius

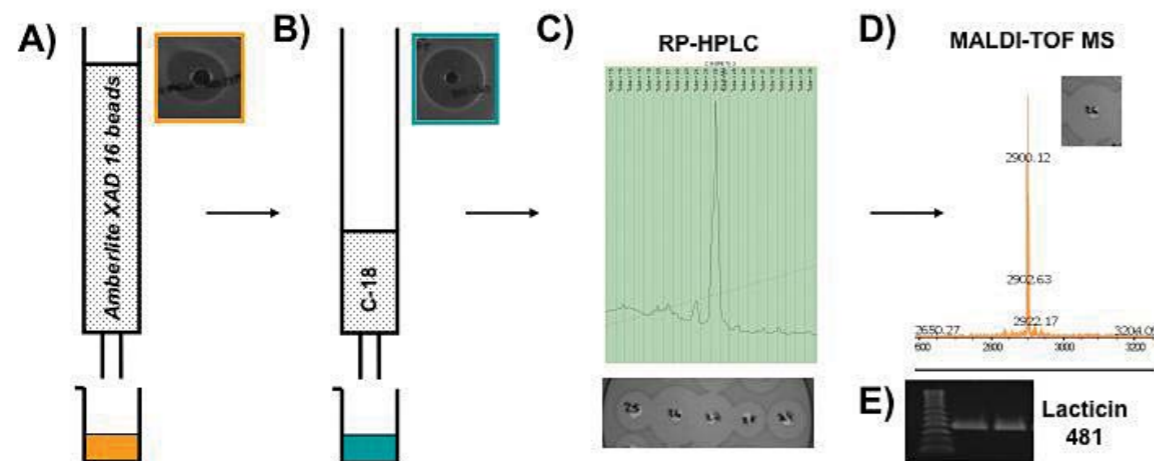
## Propriedades tecnológicas e probióticas das bactérias isoladas do queijo do Pico

A pesquisa científica orientada para a caracterização de produtos lácteos regionais constitui um instrumento indispensável não só para a melhoria da qualidade destes produtos, mas também para a inovação, com a aplicação destes conhecimentos na produção de novos produtos e métodos de fabrico. Nesse sentido, o grupo de Ciência dos Alimentos e Saúde do CITAA procedeu ao isolamento e estudo das bactérias autóctones presentes no queijo do Pico. Este é um produto artesanal que atravessa presentemente algumas dificuldades com a diminuição da produção e do número de queijarias tradicionais. Deste modo, corre-se o risco de se perder irremediavelmente o património biológico que constitui a flora de um queijo tradicional e que proporciona características tão específicas e originais a este produto. Atualmente existe no CITAA uma coleção de culturas bacterianas oriundas do queijo artesanal do Pico, de que se destacam 215 isolados de bactérias do ácido láctico. Estes microrganismos são capazes de produzir ácido láctico e estão presentes em ambientes muito diversos tais como os queijos, iogurtes, alimentos fermentados ou o trato gastrointestinal. Estes isolados foram identificados e estudados com o objetivo de selecionar algumas bactérias que pudessem ter uma aplicação benéfica na indústria dos laticínios.

Desta forma, foram selecionadas oito bactérias que apresentaram a capacidade de produzirem compostos antimicrobianos contra bactérias patogénicas como a listéria (*Listeria monocytogenes*).

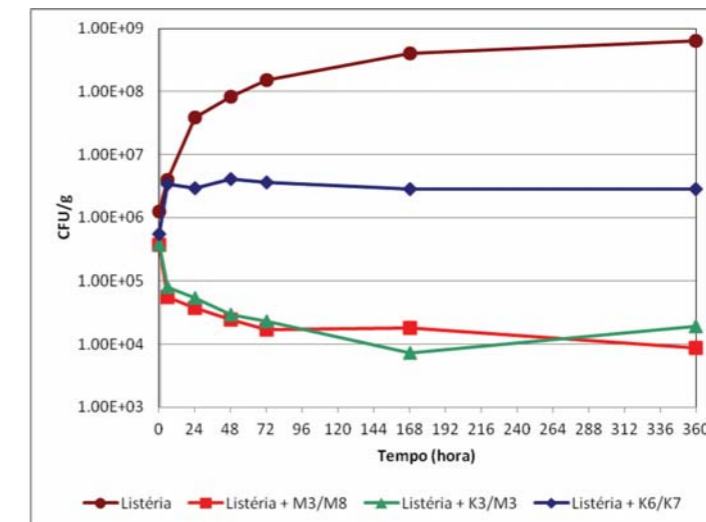
A listéria é o agente patogénico responsável pela listeriose, uma infeção rara mas grave nos seres humanos. Leite e produtos lácteos têm sido implicados na maioria dos surtos relatados de listeriose, embora o tratamento térmico elimine esta bactéria durante o processo de pasteurização. Isto indica que estes produtos podem ser contaminados em fases posteriores de produção. Desta forma, a contaminação do queijo com listéria é um problema recorrente e uma preocupação constante para a indústria dos laticínios. A utilização de bactérias que possam combater este agente patogénico pode ser uma mais-valia na aplicação a este tipo de produtos. Assim, um dos grandes objetivos consiste em identificar novas estirpes com atividade antimicrobiana para utilização na produção de queijos mais seguros e de melhor qualidade.

A atividade antimicrobiana das 8 bactérias selecionadas resulta da ação de pequenos péptidos designados de bacteriocinas. Estas bacteriocinas têm a particularidade de serem resistentes a temperaturas elevadas (resistentes a 121°C) e



**Figura 1-** Esquema representativo da purificação da bacteriocina produzida pelo isolado *Lactococcus lactis* L3A21M1 A) Coluna com resina Amberlit XAD 16. A laranja está indicada a fração recolhida com bioatividade. B) Extração em fase sólida (SPE) C18. Fração recolhida com bioatividade indicada a verde. C) Cromatograma RP-HPLC, revela um pico com tempo de retenção de 26min. D) Espectro de MALDI-TOF MS mostra pico de massa molecular de 2900Da. E) Amplificação positiva do gene que codifica lacticina 481, por PCR.

Coordenação de Armindo Rodrigues



**Figura 2-** Bactérias isoladas do queijo do Pico (K3/M3 e M3/M8) provocam uma redução da contaminação de listéria no queijo fresco em cerca de 100 mil vezes

diferentes valores de pH (2-12). Foram purificadas três bacteriocinas produzidas pelas estirpes de *Enterococcus faecalis* e *Lactococcus lactis*. Esta última foi identificada como lacticina 481, tendo sido confirmada com a presença deste gene na bactéria (fig. 1). Estas estirpes foram ainda testadas como culturas de arranque no fabrico de queijo. Foram avaliados vários parâmetros durante o processo de fabrico e armazenamento e realizadas provas organolépticas com um painel de 50 provadores. Os resultados obtidos não apontaram para qualquer perda da qualidade dos queijos fabricados com as bactérias em análise. Para avaliar o sucesso das estirpes produtoras de bacteriocinas na redução de organismos patogénicos, foram realizadas experiências onde se inoculou a listéria no queijo. Algumas das estirpes testadas contribuíram para uma redução bastante marcada da listéria no queijo (fig. 2).

As bactérias do ácido láctico encontram-se entre as mais frequentemente utilizadas como probióticas, pelo que se pro-

cedeu à avaliação da potencialidade probiótica destas estirpes. Os probióticos definem-se como microrganismos viáveis que exibem um efeito benéfico sobre a saúde do hospedeiro. Porém, para que uma estirpe possa exercer um efeito no hospedeiro, é necessário que a mesma seja resistente à passagem pelo trato gastrointestinal. O queijo fresco revelou-se uma ótima matriz para a incorporação de bactérias que, de outro modo, não seriam resistentes ao ambiente digestivo. Foi assim possível proceder ao registo de uma patente onde se incorporou uma bactéria protetora (*Lactococcus lactis*) no fabrico de um queijo fresco probiótico. A presença desta bactéria no queijo fresco proporciona uma proteção à contaminação por listéria e não influencia negativamente o sabor e textura do queijo. Devido à sua origem, à capacidade de sobreviver às condições do trato digestivo e de aderir às células do colon, esta bactéria confere ao queijo fresco o requisito para este ser considerado um alimento probiótico com assinatura Açoriana.



## CITA-A apresenta soluções para a qualidade dos produtos lácteos

O CITA-A realizou no passado dia 11 de maio o Dia do Leite, onde foram apresentadas ao público uma série de soluções para a inovação, diversificação e melhoria da qualidade dos produtos lácteos regionais. Foram apresentados 30 produtos diferentes destacando-se

os queijos frescos e biofilmes comestíveis protetores contra a listéria, iogurtes probióticos com ação imunomoduladora, queijos curados inspirados em tecnologias tradicionais, bem como soluções para a valorização do soro do queijo.