

# Conservação de Alimentos Por Acidificação

Prof<sup>ª</sup>. Ângela Maria Fiorentini  
angefiore@gmail.com



**Homem**



**Alimento – consumo diário**



**Produção sazonal**

**Meios para preservar alimentos**




**Salga, secagem, fermentação...**

# Conservação de alimentos

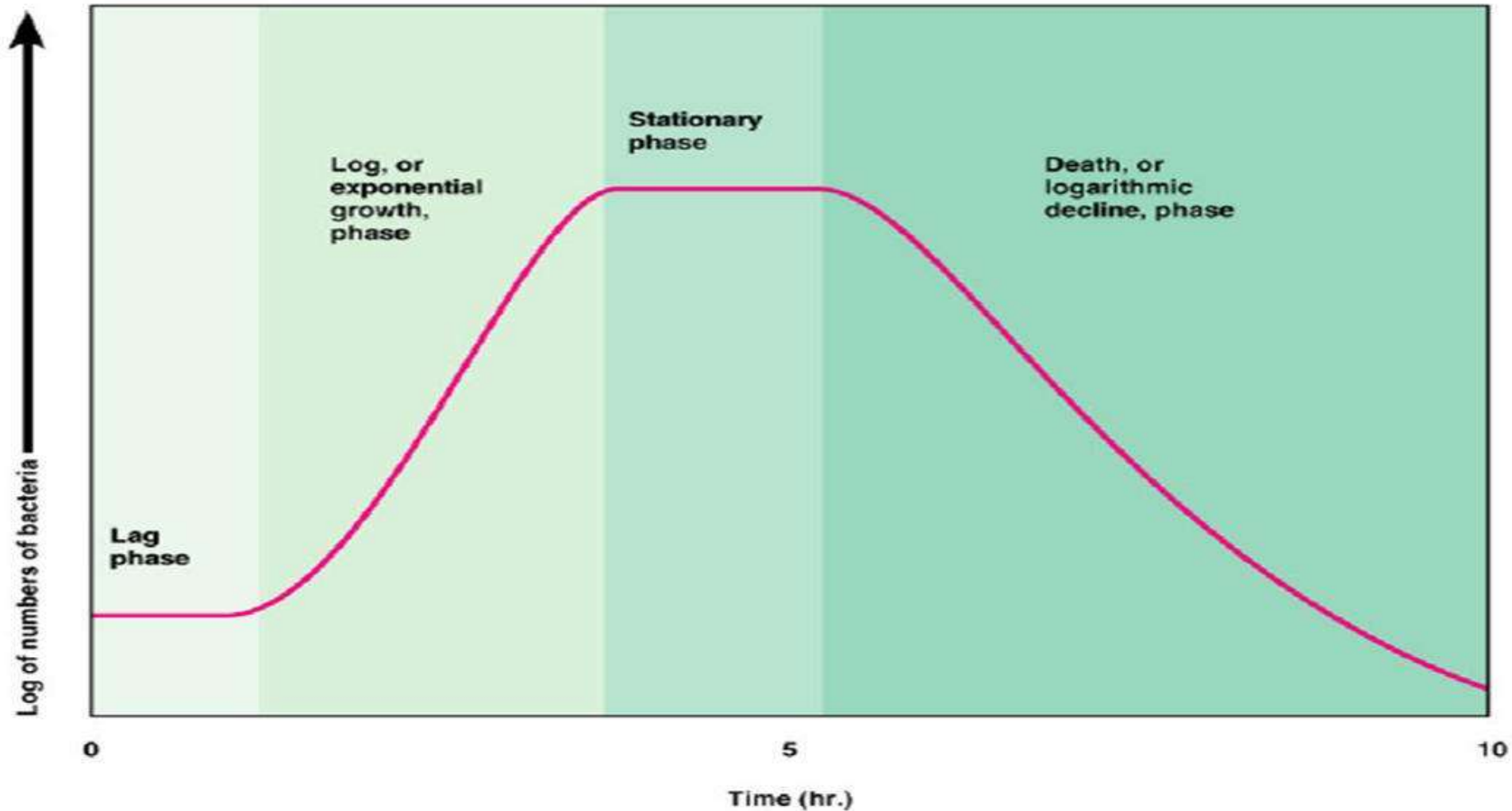
## » Problemas:

- Períodos de conservação limitados.
- Limitação da área geográfica de comercialização.
- Garantia da segurança do produto.

## » Desafios:

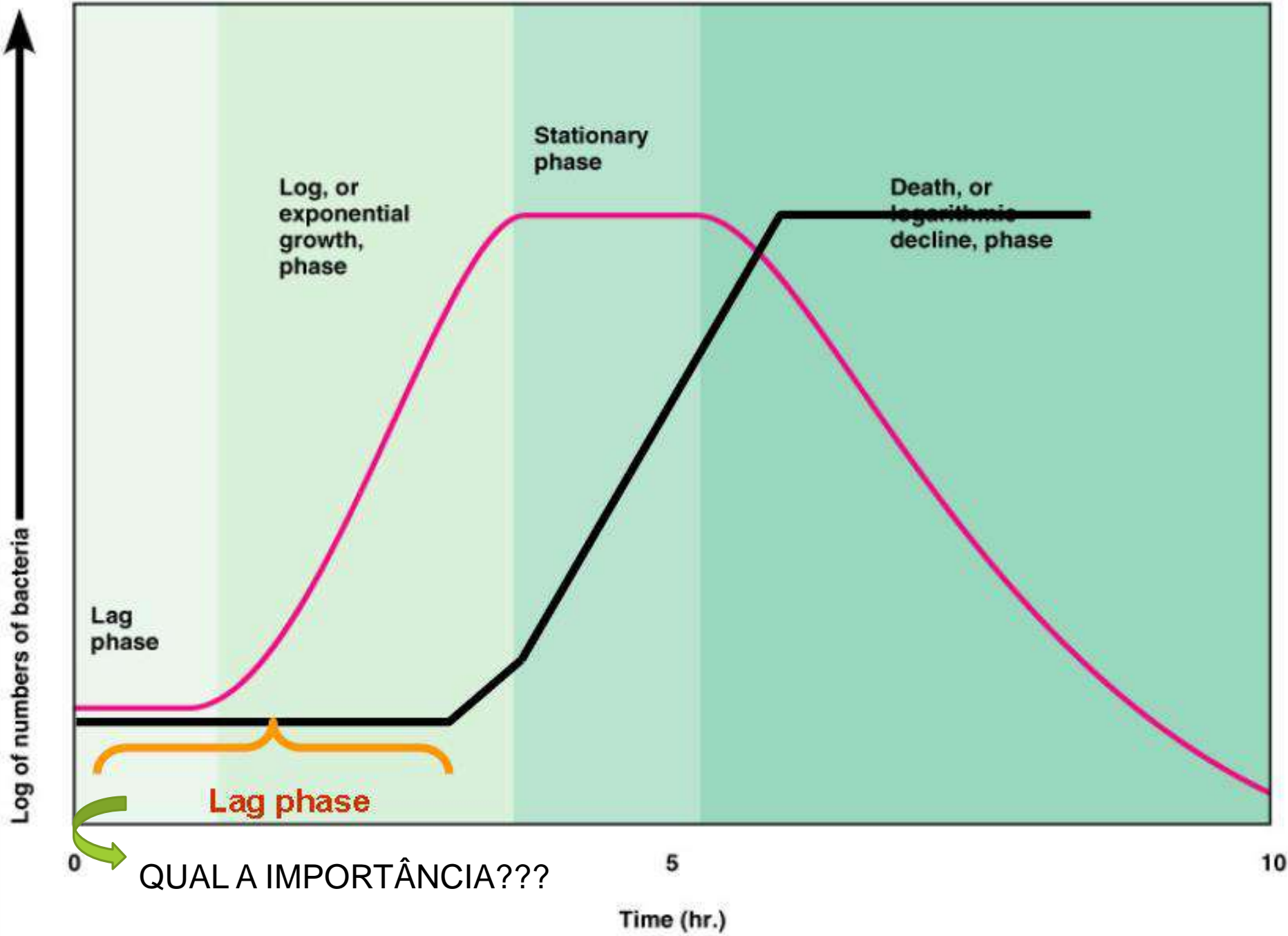
- Tecnologias de processamento
- Aumentar a vida útil  sem alterações nos atributos de qualidade dos produtos.

# Controle de micro-organismos



# Micro-organismos

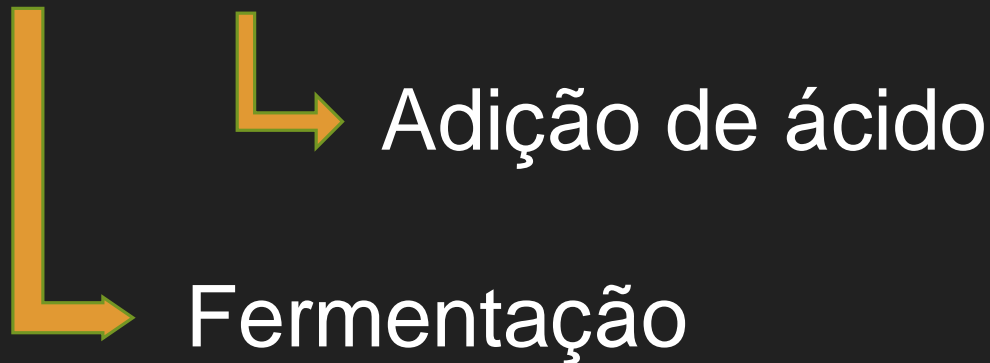
- Principais fatores limitantes para o crescimento microbiano?
- Fatores extrínsecos
- Fatores intrínsecos

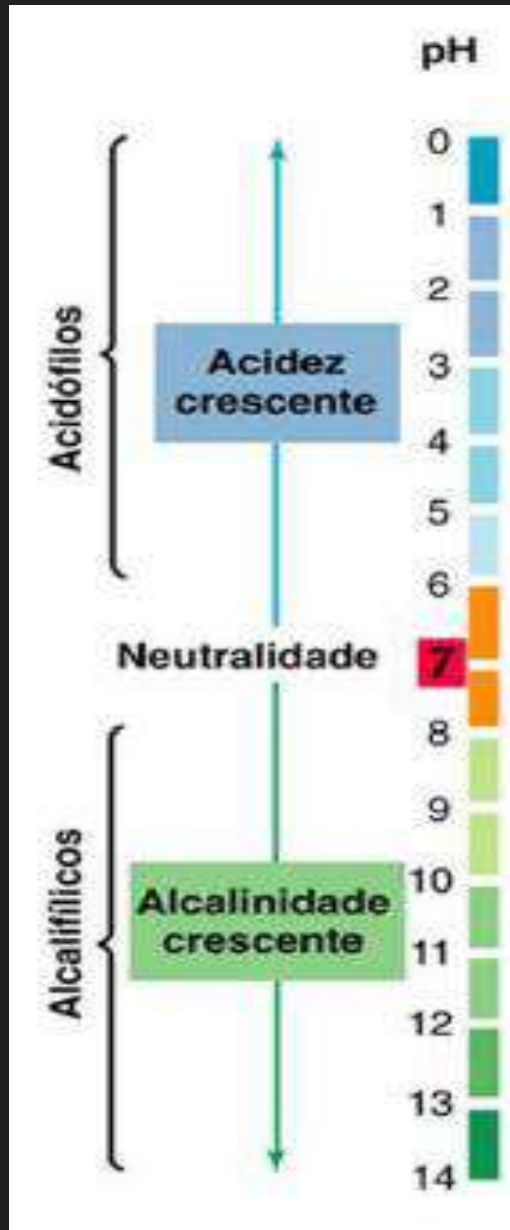


# Controle de micro-organismos

- Métodos de conservação

- Acidificação → modificação do pH





» Medida da acidez ou alcalinidade de um alimento.

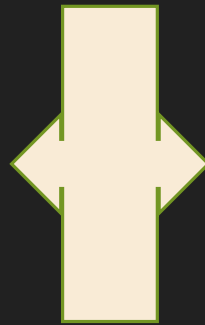
» Permite descrever o caráter ácido ou básico que predomina em meio aquoso.

» Valor determinado numa escala de 0 a 14.




# pH x micro-organismos

multiplicação

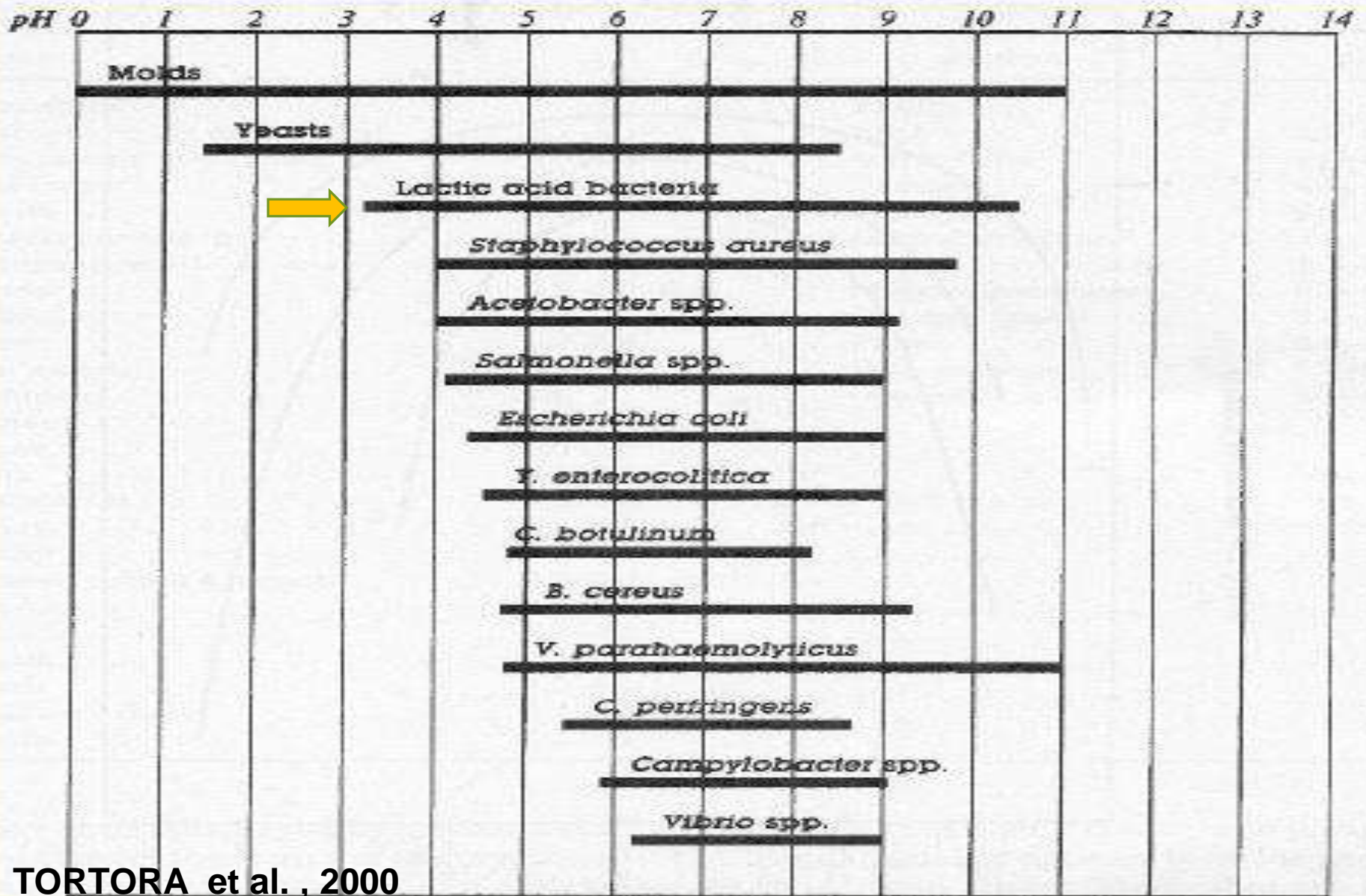


controle

# Limite de crescimento

- ⊙ Elevação da acidez do alimento 
- ⊙ A maioria dos micro-organismos deteriorantes não cresce abaixo de pH 5.
  - **Bactérias** – preferem valores próximos a neutralidade, mas toleram pH entre 4 a 9.
    - **BAL** – pH 4,0 a 4,5.
  - **Bolores e leveduras** - pH entre 5 a 6.

# pH e multiplicação microbiana



# Os micro-organismos podem ser classificados como:

» Neutrófilos: pH ótimo entre 6,0 e 8,0.

» Acidófilos: podem crescer em pH < 6,0.

» Alcalófilos: crescem melhor em pH > 8,0.

# Alimentos

1

4

7

10

14

- baixa acidez: pH superior a 4,5
- ácidos: pH entre 4,0 e 4,5
- muito ácidos: pH inferior a 4,0



# Alimentos

# pH

## Laticínios

leite	6,3 a 6,5
manteiga	6,1 a 6,4
creme de leite	6,5
queijos	4,9 a 5,9

## Carne bovina e aves

carne crua	5,1 a 6,2
frango	6,2 a 6,4
presunto	5,9 a 6,1

## Pescado

peixe fresco	6,6 a 6,8
camarão	6,8 a 7,0
salmão	6,1 a 6,3
ostras	4,8 a 6,3

## Vegetais

## Frutas

4,2 a 7,3
1,8 a 6,7

# Acidificação

- ▶ Ácido adicionado - aditivo
  - ▶ Ácido produzido no processo
- } Preservar o produto
- ▶ Fermentação natural
  - ▶ Fermentação controlada – culturas iniciadoras

**Vida útil**  
**Textura**  
**Sabor/aroma**

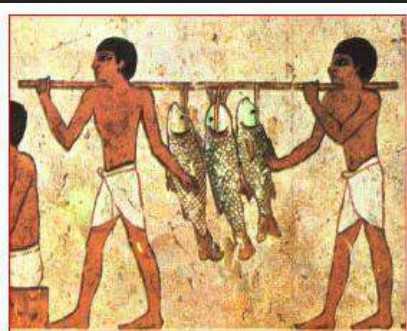


# Micro-organismos e alimentos

Até metade do século XIX o homem consumia alimentos e bebidas sem conhecer o papel dos micro-organismos.



Desconheciam-se as causas da fermentação.





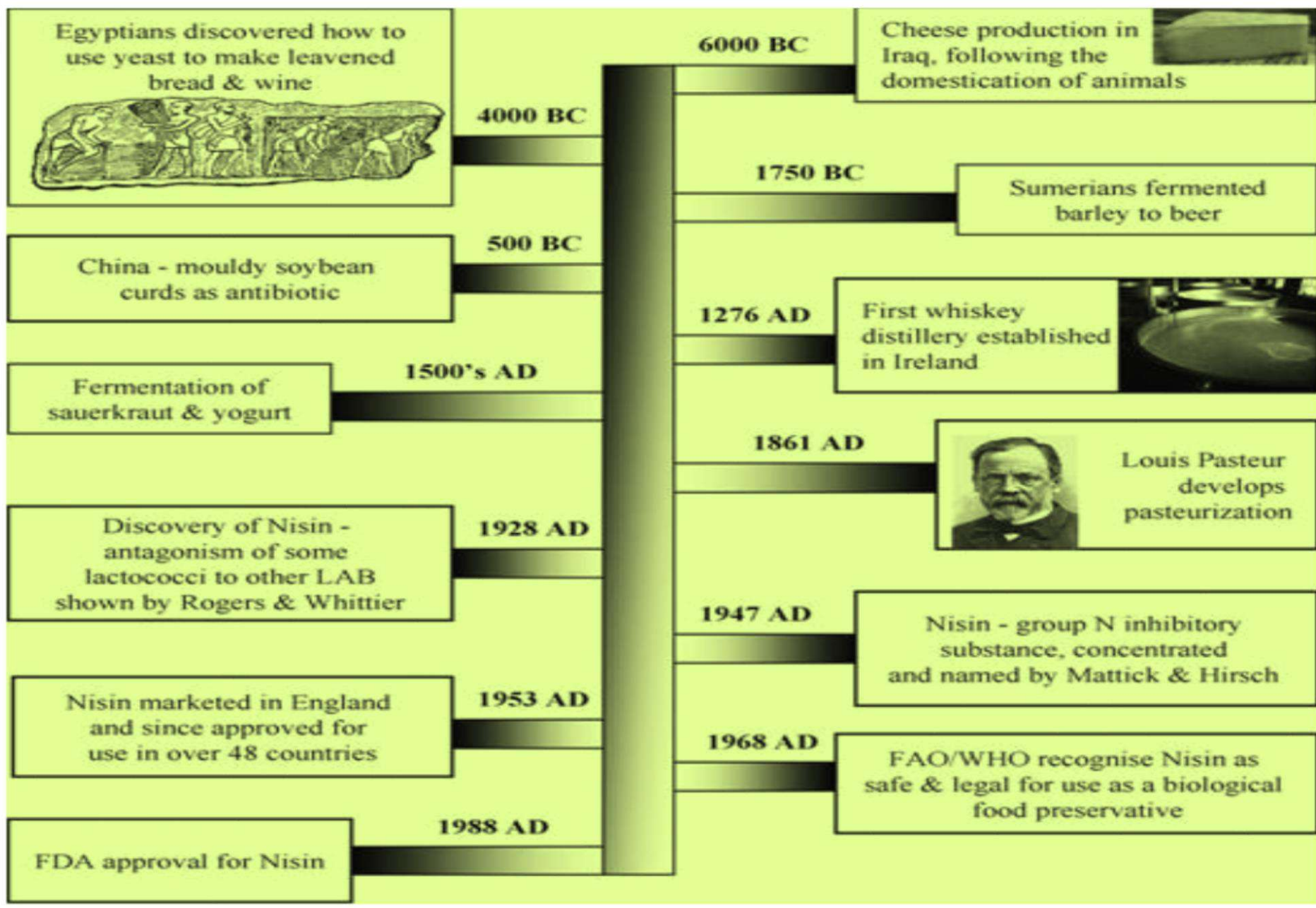


Fig. 1. Major events in food fermentation and preservation through the years.

Ross et al., 2002.

# Micro-organismos e alimentos

## Consequências:

- Deterioração de alimentos

 Utilização de nutrientes para o crescimento.

- Fermentação de alimentos e bebidas.

 Produção de alimentos com características específicas.

# Fermentação

- Primeiro processo usado para obtenção de energia pelos seres vivos.
- Processo utilizado por seres anaeróbios obrigatórios e/ou facultativos.
- Uso de glicose como substrato inicial.

# Fermentação

- ⦿ Processo implica em síntese de ATP.
- ⦿ Baixo rendimento energético (2 ATP) quando comparado com a respiração celular.
- ⦿ **Processo dependente da atividade biológica de micro-organismos.**



# Fermentação

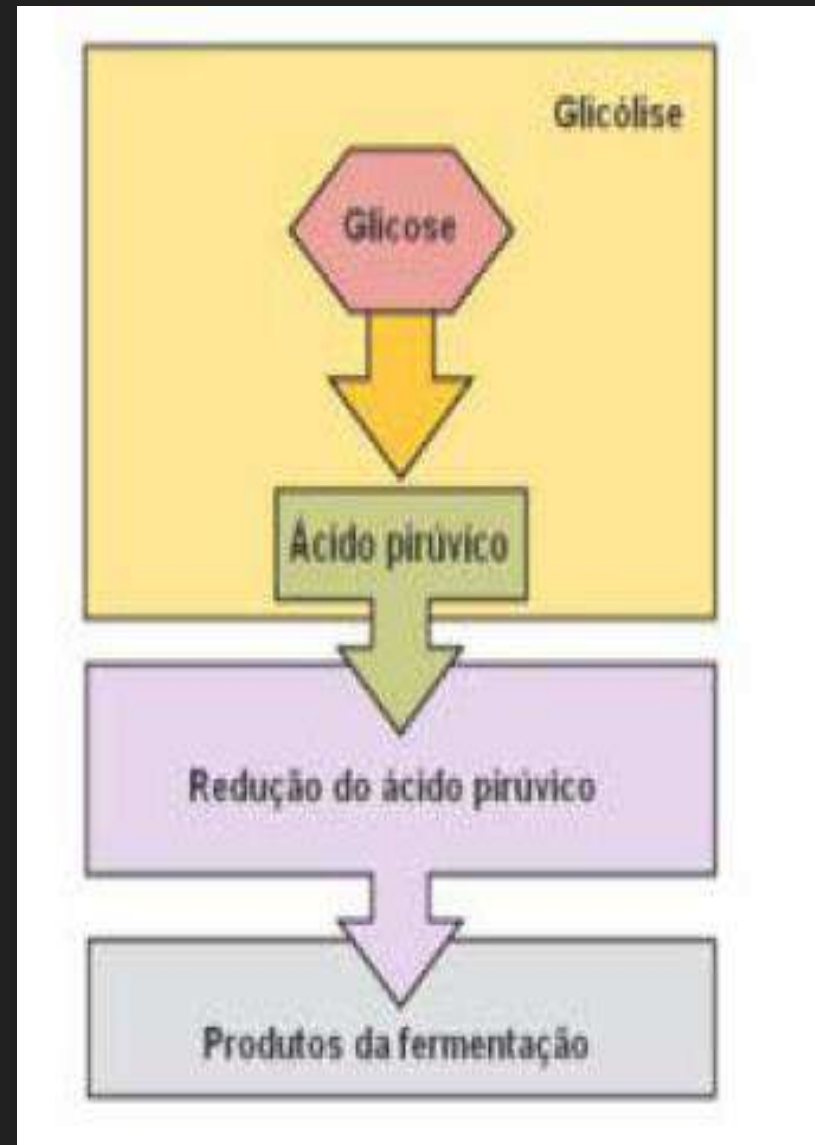
Conjunto de reações químicas controladas enzimaticamente, em que uma molécula orgânica é degradada em compostos mais simples, liberando energia.

# Etapas da fermentação

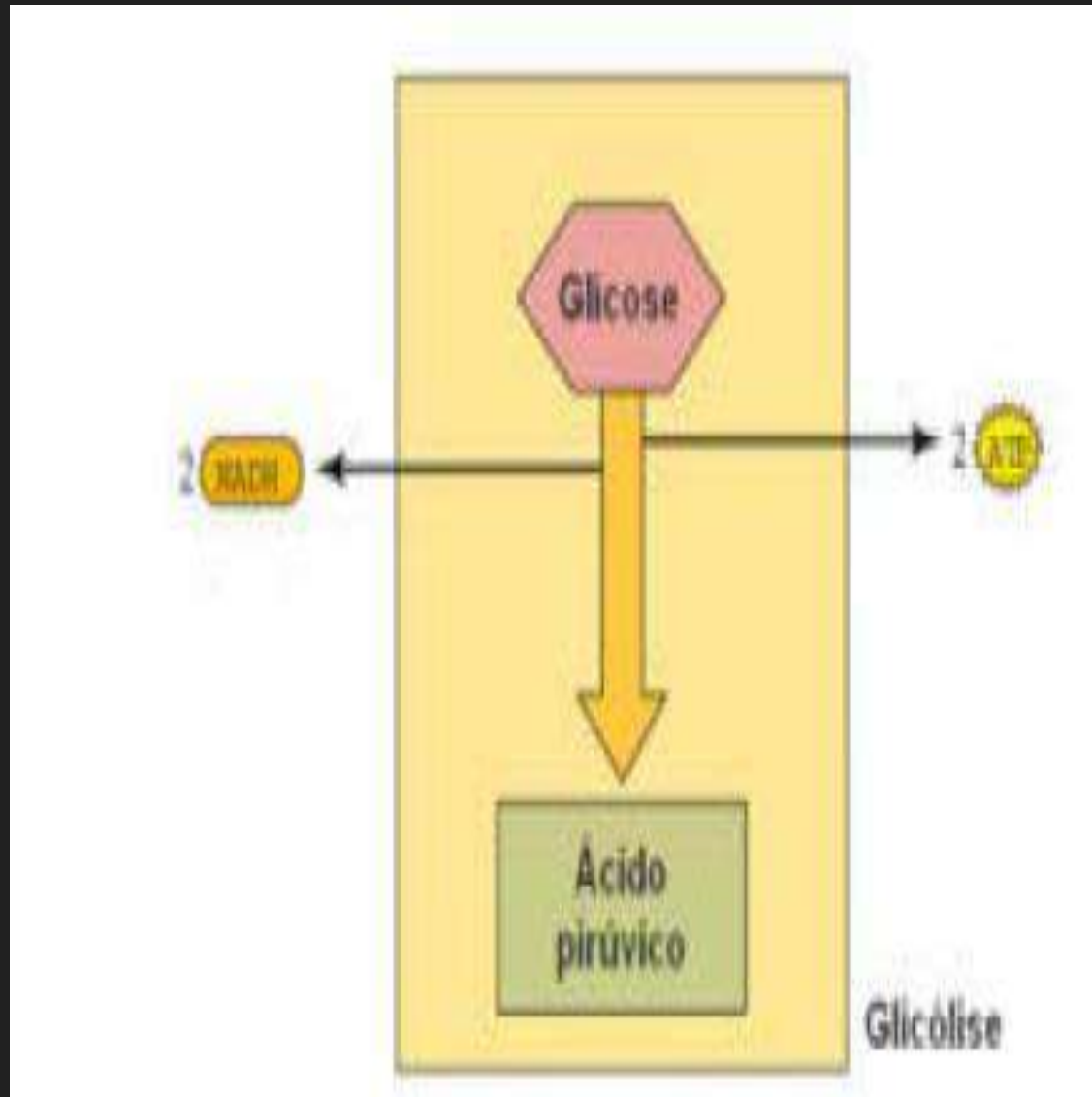
Conjunto de reações enzimáticas que ocorrem no hialoplasma.

1- Glicólise:  
Degradação da glicose em ácido pirúvico.

2- Redução do ácido pirúvico:  
Formação de produtos da fermentação.

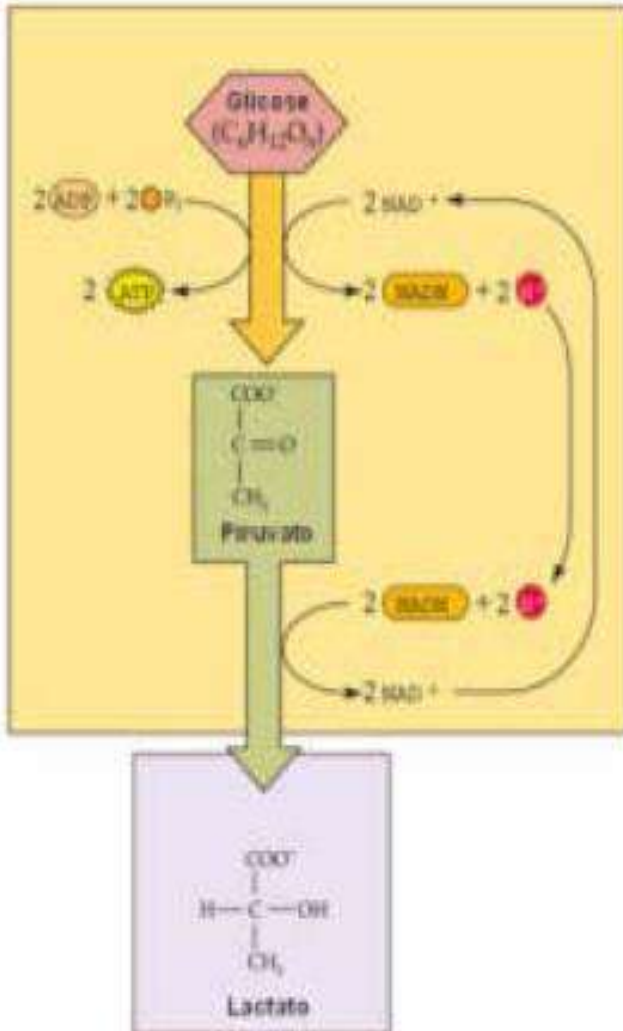


# Glicólise





# Redução do ácido pirúvico



Produtos finais da fermentação dependem da molécula orgânica que é produzida a partir do ácido pirúvico.



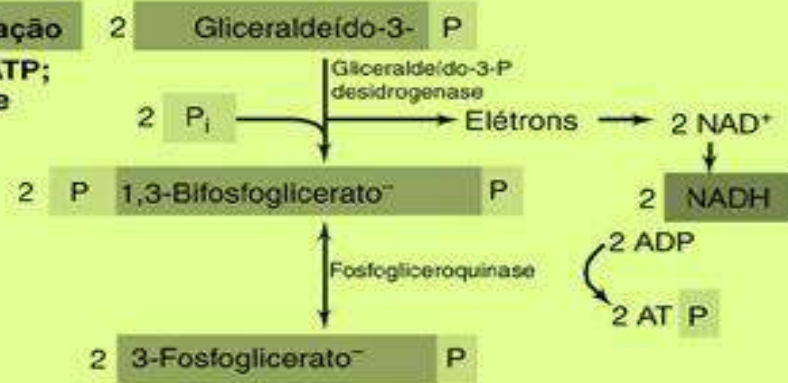
# Estágio I: Reações preparatórias

## Produção de gliceraldeído 3-fosfato



### Estágio II: Oxidação

Síntese de ATP;  
Formação de piruvato



## Glicólise



### Estágio III: Redução

Síntese de produtos de fermentação



Lactobacilos

Leveduras

Enterobactérias

# Importância

- a) Conservação – prolongar a vida útil;
- b) Produção de metabólitos com atividade antimicrobiana;
- c) Conteúdos energéticos disponíveis, superiores aos dos alimentos oxidados;
- d) Ganho de valor nutritivo para o alimento;
- e) Síntese de substâncias essenciais à nutrição.

# Objetivos da fermentação

- ⦿ Inibição de bactérias deteriorantes e patogênicas.
- ⦿ Formação de sabor e aroma característicos.
- ⦿ Desenvolvimento de textura e viscosidade.
- ⦿ Torna os alimentos mais digeríveis.

# Alimentos Fermentados

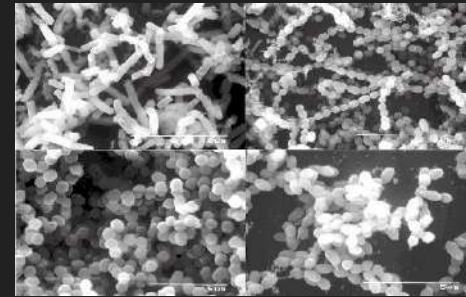
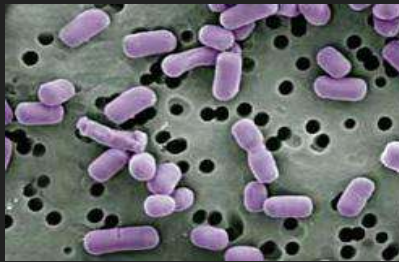
- Origem vegetal: grãos, frutas, hortaliças
- Origem animal: leite, carnes, pescados
- Natureza do produto dominante no final da fermentação:
  - -**produção de ácido**
  - -produção de **álcool**



Inibição seletiva de  
micro-organismos

# Micro-organismos – Indústria de alimentos

- 1- Bactérias

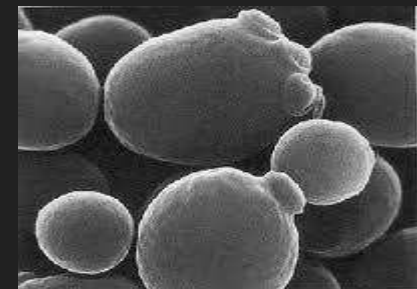
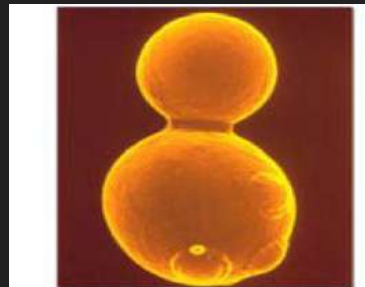


- 2- Fungos

- Bolores



- Leveduras



# Culturas iniciadoras (*starter*)



- Culturas individuais ou mistas de linhagens de micro-organismos selecionadas com uma determinada atividade enzimática.

Soma das ações de micro-organismos, com a característica de cada um, visa um efeito desejado no produto final.

# O que são culturas iniciadoras?

Micro-organismos  
puros  
ou mistos



Propriedades  
específicas



Aspecto,  
aroma,  
Sabor  
e  
conservação





# Segurança microbiológica e preservação de produtos fermentados

## Produção de ácidos orgânicos

- Inibição do desenvolvimento de outros micro-organismos, garantindo um efeito conservador.
- Melhoram a cor, aroma e textura.
- Acelera a desidratação.
- Facilidade no uso tecnológico.



# Mecanismo de ação dos ácidos

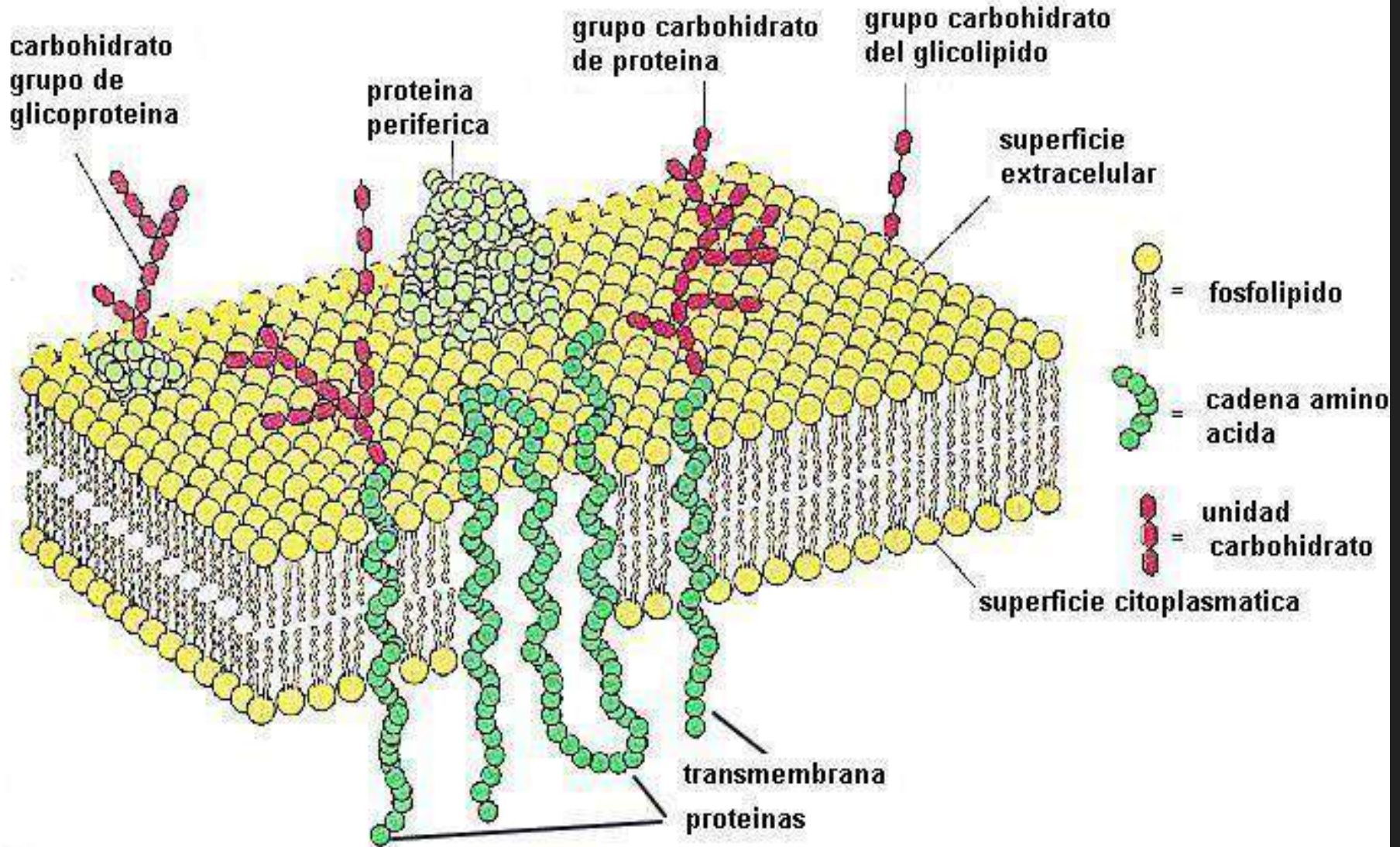
- Ação antimicrobiana → resulta de sua ação lipofílica.
  - $H^+$  penetram a membrana celular do micro-organismo → acidificando o seu interior.
    - Reduz pH intracelular
- ↓
- Reduz atividades metabólicas celulares.

○ A molécula do ácido não dissociado é responsável pela ação antimicrobiana



○ Facilidade de difusão pela membrana da célula microbiana.

○ Silva et al. (2001)



pH intracelular dos micro-organismos → neutralidade.

# Fatores responsáveis pela ação antimicrobiana dos ácidos orgânicos

- Redução do pH.
- Mínima dissociação do ácido.
- Especificidade da molécula de ácido.





# Fermentação com produção de Ácido

**Láctica:** Bactérias ácido lácticas (BAL) fermentam carboidratos produzindo ácido láctico (homofermentativas).

**Acética:** BAL heterofermentativas fermentam carboidratos produzindo ácido acético.

**Propriônica:** bactérias do gênero *Propionibacterium*, produzem ácido propiônico, ácido acético, ácido succínico e CO<sub>2</sub>.

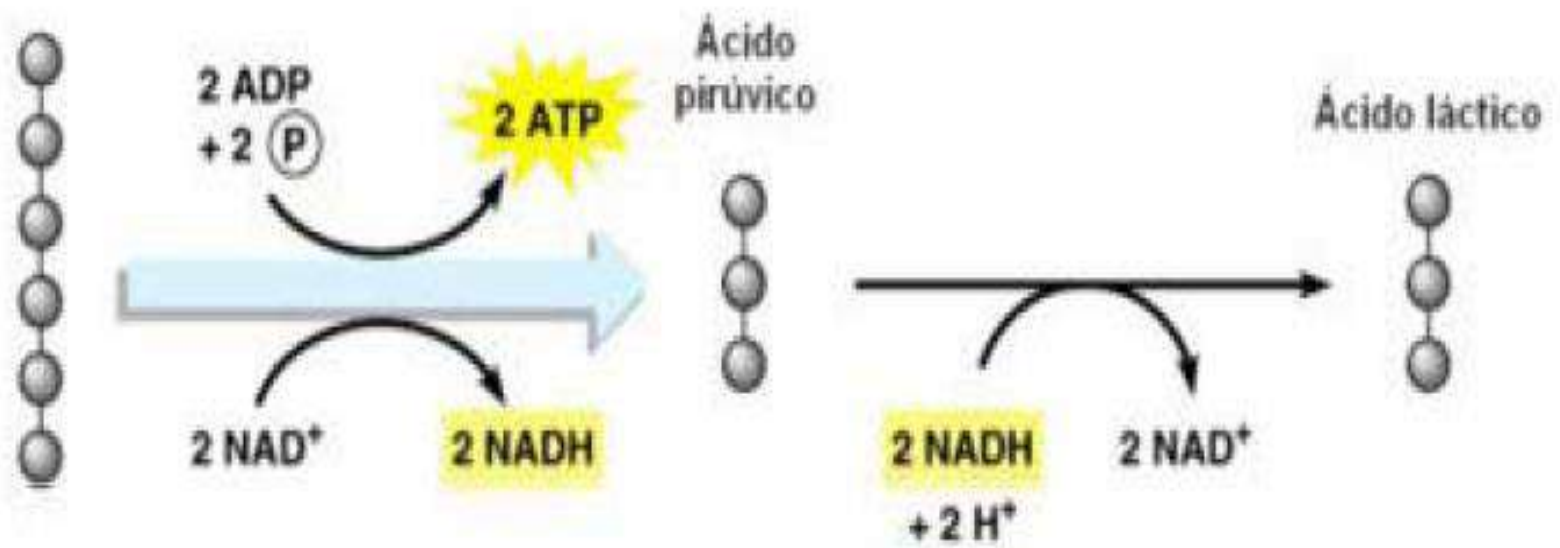




# Fermentação láctica

- Importante método de preservação de alimentos - centenas de anos.
- Consiste na oxidação anaeróbica, parcial de hidratos de carbono, com a produção final de ácido láctico além de várias outras substâncias orgânicas.

glicose



FERMENTAÇÃO LÁCTICA



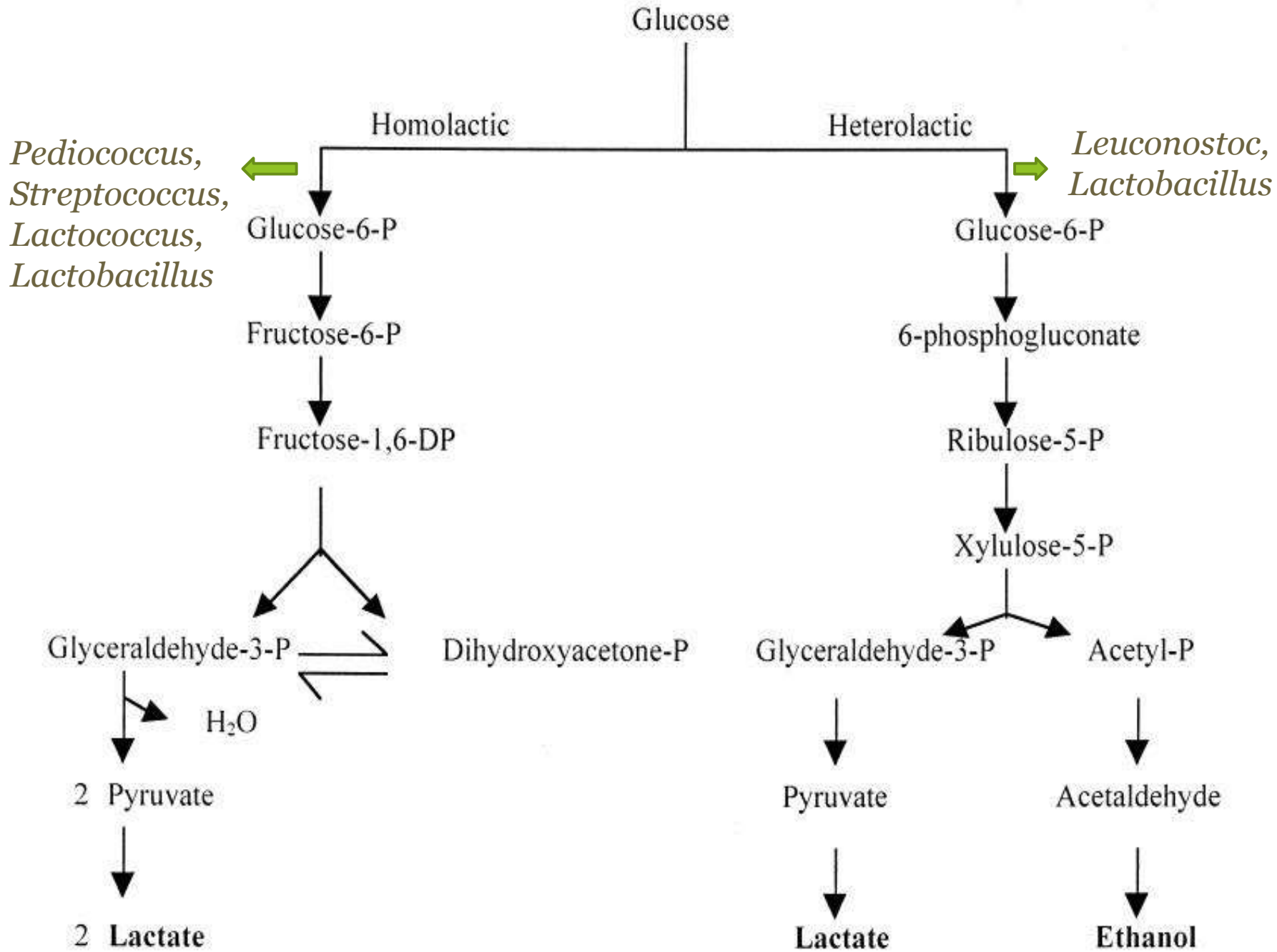


Fig. 1. Generalized scheme for the fermentation of glucose in lactic acid bacteria.

Table 1

## Biopreservation by lactic acid bacteria

Product	Microorganisms	Substrate
Wine, beer	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , LAB	grapes, grain, hops
Bread	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , LAB	wheat, rye, grains
Cheddar cheese	<i>Lactococcus (cremoris, lactis)</i> and <i>leuconostoc</i>	milk
Swiss-type cheese	<i>Lactobacillus (delbruckii, bulgaricus, helveticus)</i>	milk
Mould- and smear-ripened cheeses	<i>Carnobacterium piscicola</i> , <i>Brevibacterium linens</i>	milk
Yogurts	<i>St. thermophilus</i> and <i>Lb. bulgaricus</i>	milk
Kefir	Lactococci, yeast, <i>Lb. kefir</i> (and others)	milk
Fermented meats ( < chicken)	Pediococci, Staphylococci, various LAB	pork, beef
Sauerkraut	<i>L. lactis</i> , <i>Leuc. mesent.</i> , <i>Lactobacillus (brevis, plantarum, curvatus, sake)</i>	cabbage
Soy sauce	<i>Aspergillus oryzae/soyae</i> , lactobacilli and <i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	soy beans and wheat
Vegetables	<i>Enterococcus (mundtii, faecium)</i> , <i>Lactococcus (cremoris, lactis)</i> , <i>Lactobacillus (plantarum, casei)</i>	vegetables
Fish	<i>Carnobacterium (piscicola, divergens)</i>	fish

Sources: Caplice and Fitzgerald (1999) and Cleveland et al. (2001).

# Fermentação de produtos lácteos

- ❖ **Iogurte** – *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*
- ❖ **Kefir** – *Lactococcus lactis*, *L. bulgaricus* e leveduras
- ❖ **Leite fermentado** – *Lactobacillus acidophilus*
- ❖ **Manteiga** – *Streptococcus cremoris*, *Leuconostoc cremoris* e *Lactobacillus lactis*



# Fermentação de produtos lácteos

## ❖ Queijos

- ❖ *Lactococcus e Lactobacillus*
- ❖ *Propionibacterium* – queijo Suíço
- ❖ *Penicillium* – queijo camembert, roquefort, brie





## ❖ Fermentação de carnes

- ❖ **Embutidos** – produzidos por bactérias ácido lácticas, em particular *Pediococcus pentosaceus*, *Lactobacillus plantarum*.



## ❖ Vegetais fermentados

- ❖ **Chucrute** – *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum*, *L. brevis*.
- ❖ **Picles** – *L. plantarum*, *L. mesenteroides*, *Enterococcus faecalis*, *Pediococcus cerevisiae*, *Pseudomonas spp.*, *Flavobacterium spp.*, *Bacillus spp.* e leveduras.



## ❖ Vegetais fermentados

- ❖ **Azeitonas** – *Lactobacillus plantarum* ou *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc*.
- ❖ **Molho de soja** – *Aspergillus oryzae*, *Pediococcus soyae*, *Saccharomyces spp.*, *Torulopsis spp.*, e *Lactobacillus spp.*





# Produtos Lácteos

Bactérias do  
ácido láctico



**Tabela 2.1** Principais bactérias lácticas de interesse em laticínios

1. HOMOFERMENTATIVAS      Produzem ácido láctico

*Lactococcus*

*Lc. lactis* subsp. *cremoris*: Queijos, alguns leites fermentados

*Lc. lactis* subsp. *lactis*: Queijos, alguns leites fermentados

*Lc. lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*: Queijos moles, manteiga, creme ácido, nata fermentada

*Streptococcus*

*St. thermophilus*: logurte, skyr, queijos duros de massa cozida

*Lactobacillus*

*Lb. delbruckii* subsp. *bulgaricus*: logurte, nata fermentada, leite búlgaro, koumis

*Lb. lactis*: Queijos duros de massa cozida

*Lb. helveticus*: Queijos duros de massa cozida

*Lb. acidophilus*: Leite acidófilo, koumis, probiótico

*Lb. kefir*: Kefir

2. HETEROFERMENTATIVAS      Produzem ácido láctico, ác. acético, etanol, CO<sub>2</sub>

*Leuconostoc*

*Le. mesenteroides* subsp. *cremoris*: Queijos, creme ácido, manteiga, nata fermentada

*Le. mesenteroides* subsp. *dextranicum*: Kefir

*Lactobacillus*

*Lb. brevis*: Kefir

3. HETEROFERMENTATIVAS FACULTATIVAS

*Lactobacillus*

*Lb. casei*: Queijos semiduros e duros

*Lb. plantarum*: Queijos semiduros e duros

*Lb. kefir*: Kefir

*Bifidobacterium*

*Bf. bifidum*: Probiótico

*Bf. longum*: Probiótico

Fonte: Ordóñez et al., 2005





Queijos



Culturas lácticas



Leites fermentados



sorvete com probióticos



# Iogurte



*Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*  
*Streptococcus thermophilus*

## Iogurte e Leite fermentado com probióticos

*Lactobacillus casei*, *L. acidophilus*,  
*L. rhamnosus*, *L. Johnsonii*,  
*Bifidobacterium lactis*, *B. bifidum*



Rápida  
produção  
de ácido

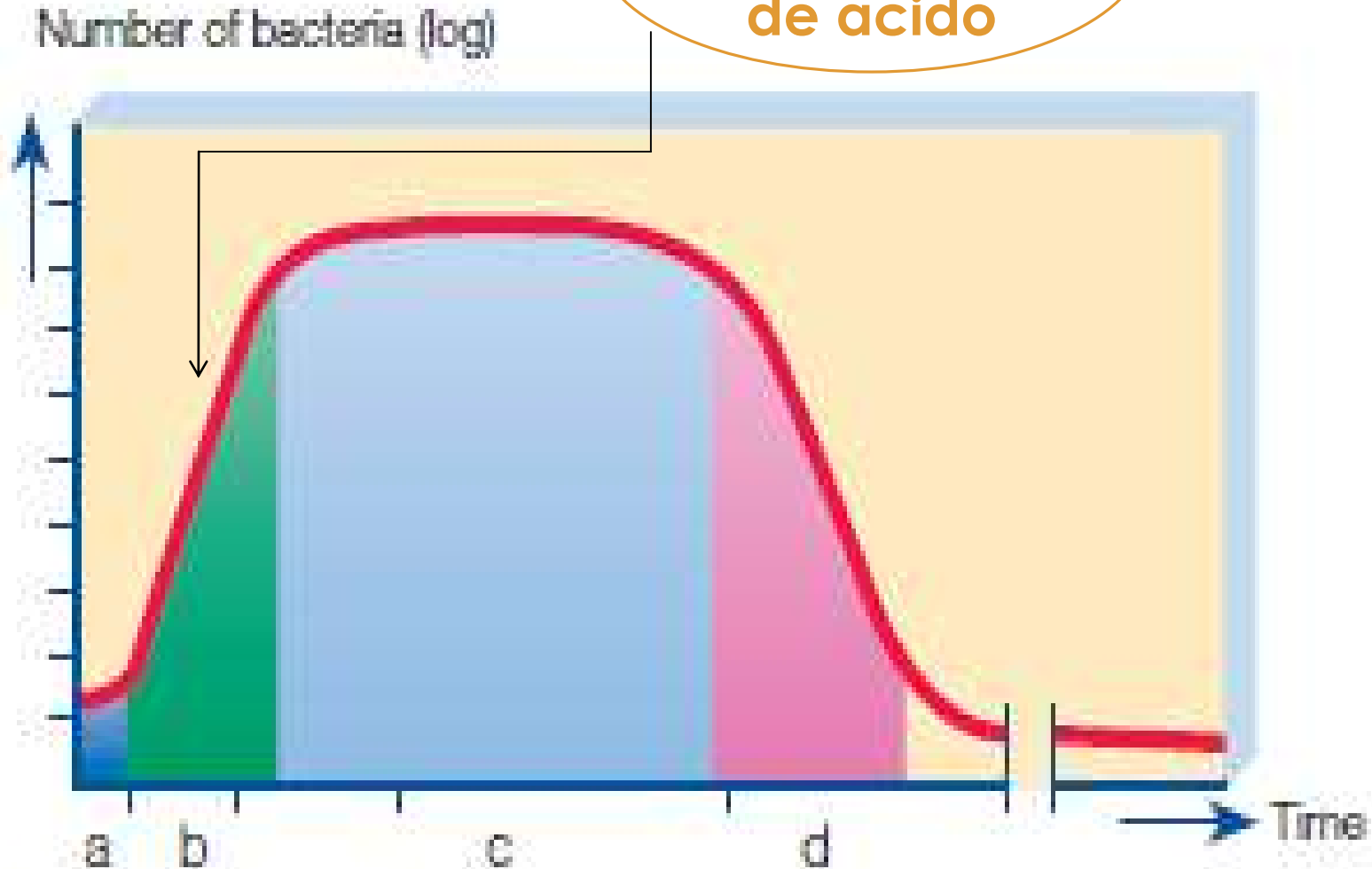


Fig. 4.10 Growth curve of bacteria

# Iogurte

- O iogurte é uma coalhada ácida obtida de leite de vaca pela ação conjunta dos micro-organismos *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*.
- *Inóculo: 2 a 3%*

# Fluxograma de Produção - iogurte

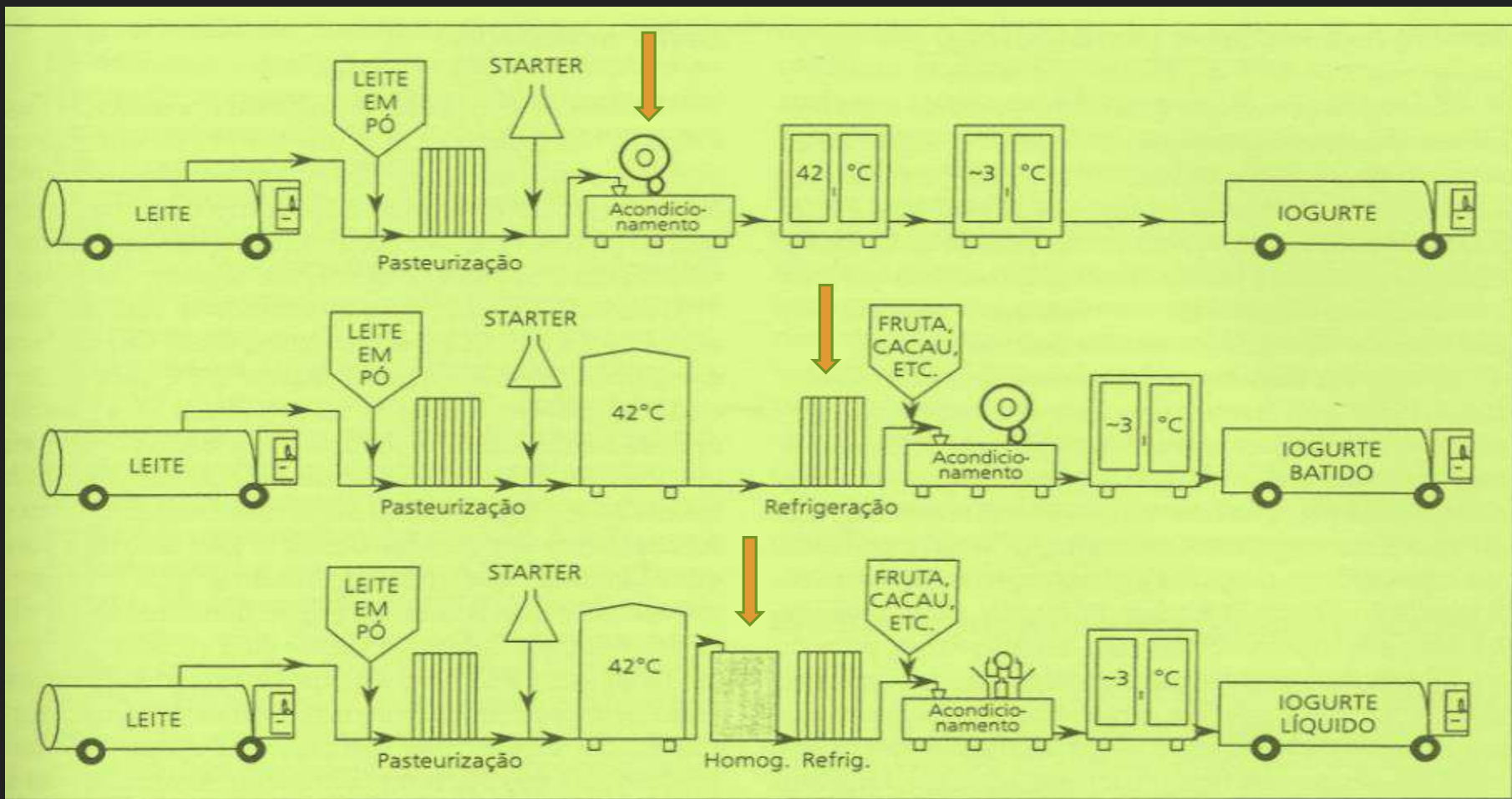
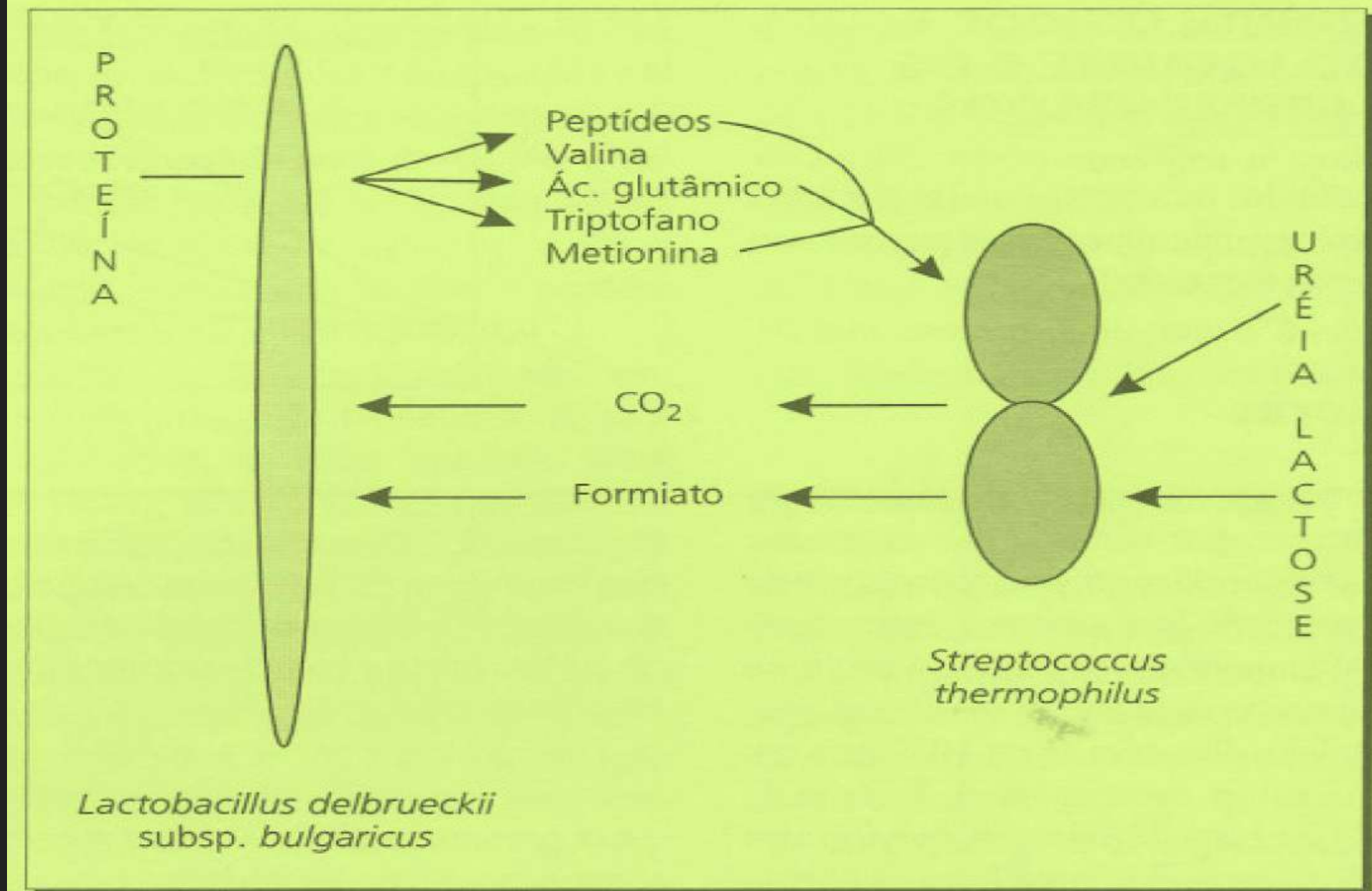


Figura 4.1 Representação esquemática da fabricação de iogurte de consistência firme, iogurte batido e iogurte líquido.





**Figura 4.4** Fatores que determinam o crescimento simbiótico de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*.

# Formação do gel

- **Alteração física:**

Diminuindo o pH aumenta Ca no soro → solubilização do fosfato cálcico coloidal.

- **Alteração espacial:**

Diminuindo o pH reduzem as forças de repulsão entre as micelas – pH 4,6 – PI da proteína



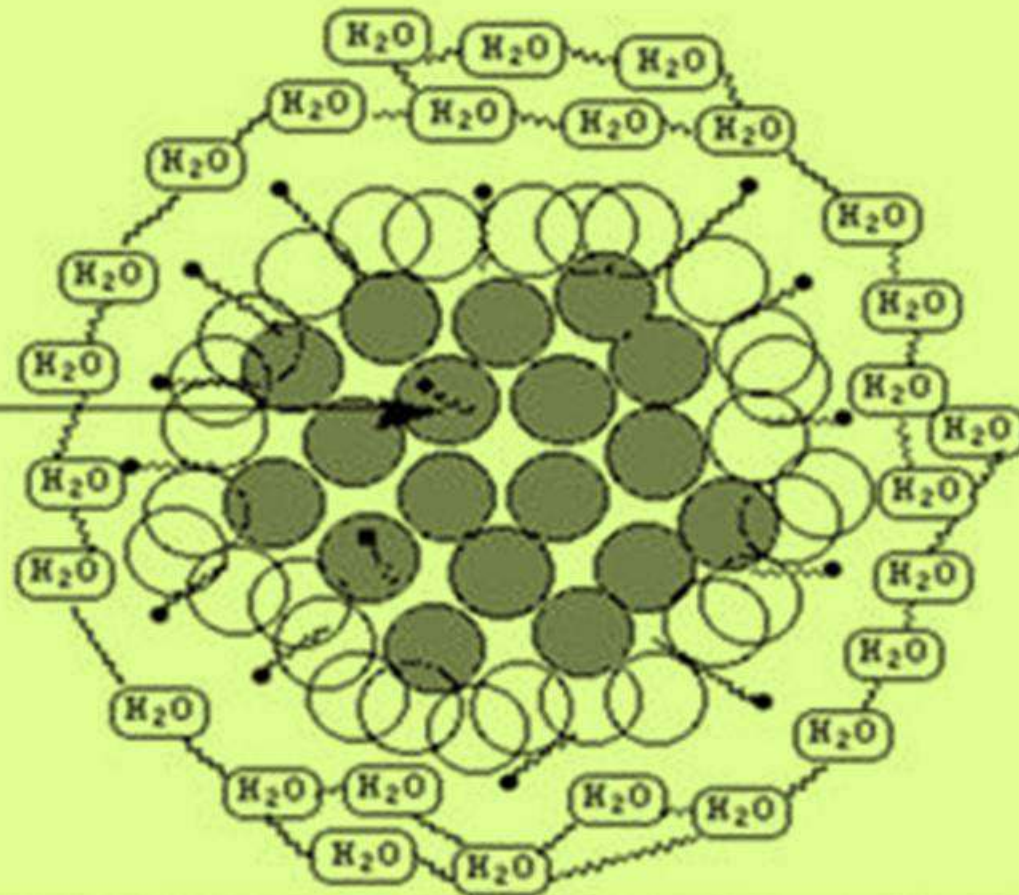
Interações hidrofóbicas → coagulação (gel).

○ K-casein

~~~~~● Phosphate group

●  $\beta$ ,  $\alpha_{s1}$  and  $\alpha_{s2}$ -caseins

Hydrophobic  
core



# Queijos

As bactérias produzem ácido láctico e outras substâncias que contribuem para o aroma. O aumento da acidez provoca a coagulação das proteínas do leite.



# Processo de coagulação do leite

## Coagulação fundamentalmente ácida:

bactérias lácticas – fermentação - ácido láctico, ácido propiônico.

## Coagulação fundamentalmente enzimática:

ação do coalho (ENZIMA quimosina)

## Coagulação mista: coalho e fermento

láctico.

# Características fundamentais das culturas

- Habilidade de produzir ácido láctico;



- Coagulação láctica

- Habilidade de hidrolisar a proteína;

- Habilidade de produzir gás carbônico, em alguns casos.

## Predominantemente láctica



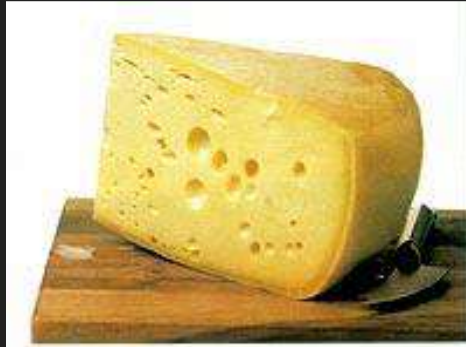
GOUDA- origem Holandesa



CHEDDAR- origem da Inglaterra



# Predominantemente propiônica



GRUYÈRE- origem Suíça



EMMENTHAL- origem Suíça



ESTEPE – origem Rússia

# Ácido láctico neutralizado na forma de sais LACTATOS

- Consumidos pelas bactérias propiônicas.
- Fermentação propiônica: ácido propiônico e acético e dióxido de carbono - formação dos grandes olhos na massa do queijo.

# Fluxograma de produção









# Fermentação com produção de Ácido e Álcool

## ***Kefir***

- Conjunto de lactobacilos e de algumas leveduras, fermentam a lactose do leite.
- *Dois tipos de fermentação:*
- láctica- *bactéria láctica heterofermentativa*
- alcoólica - *leveduras*






# Leite Pasteurizado



# Produtos cárneos

- Métodos de preservação: secagem, salga e fermentação
- Produtos fermentados – salames 
- Transformações físicas, bioquímicas e microbiológicas.
- Conservação em temperatura ambiente

# Processo produtivo de embutidos



# Fermentação

- ◎ *House flora* – qualidade não uniforme
- ◎ Culturas puras de micro-organismos
  - Produtos com alta qualidade
  - Culturas iniciadoras mistas
  - **Produtos cárneos fermentados:** vida útil longa → estáveis à temperatura ambiente → baixo teor de umidade e pH.

● Carbohidratos

BAL

Ácido láctico



↓ pH

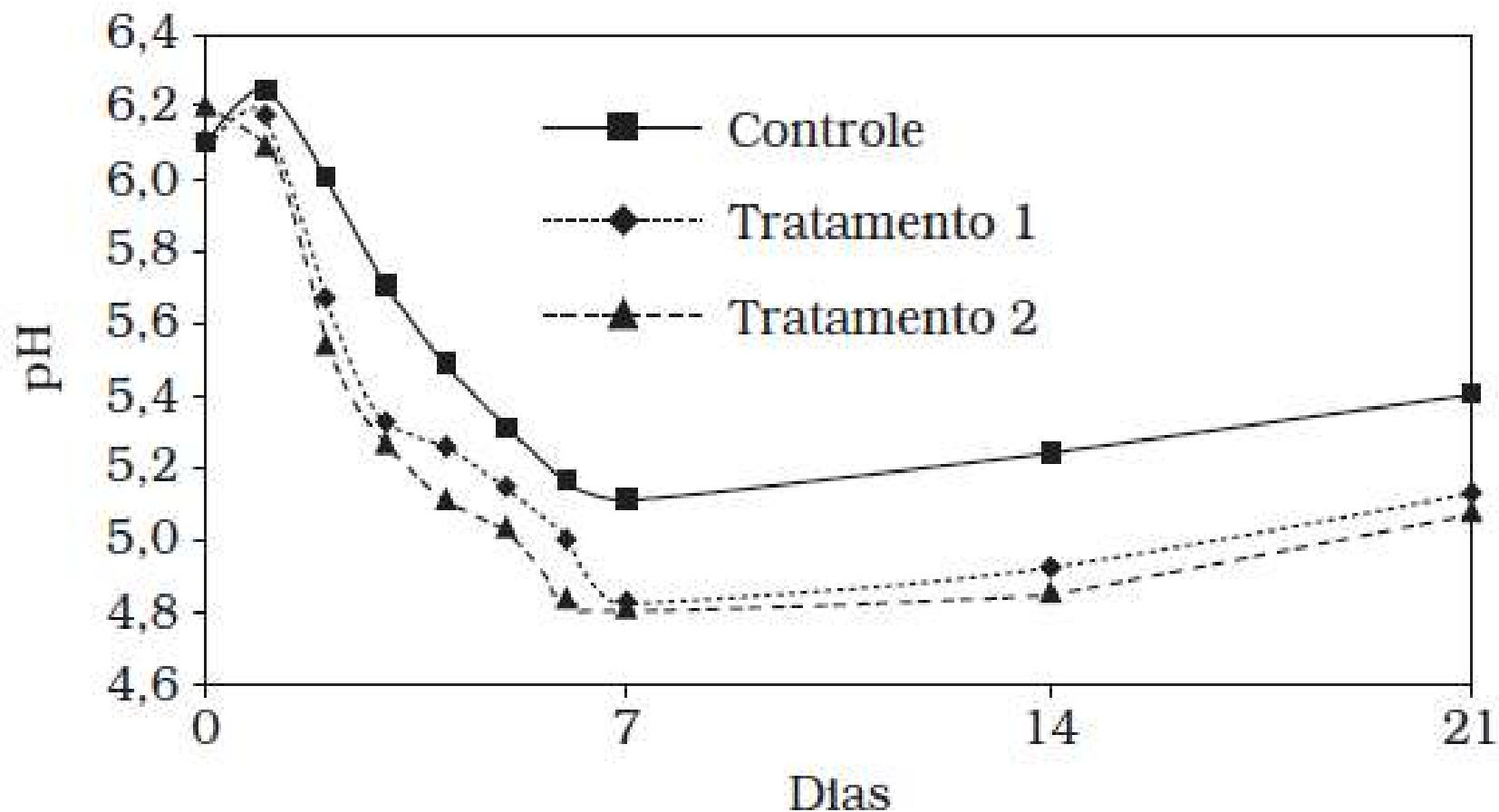


Melhora textura, desidratação e a cor do embutido.



Efeito protetor

*Staphylococcus aureus, Clostridium botulinum,  
Listeria monocytogenes*



**Figura 2.** Evolução do pH dos salames formulados com diferentes culturas *starter*. Controle: sem inoculação de cultura *starter*; Tratamento 1: inoculado com *Pedococcus pentosaceus* e *Staphylococcus xylosus*; e Tratamento 2: inoculado com *Lactobacillus plantarum* fermentado em meio de cultura de plasma suíno e *Staphylococcus xylosus*.



# Pescados - anchovagem

- *Bacillus, Lactococcus,*
- *Micrococcus, Staphylococcus*
- *Moraxella.*
- Misturam-se anchovas inteiras
- com 35% de sal e coloca-se a mistura em barris.
- A fermentação, provocada pela atividade de enzimas, tem lugar durante um período de 3 a 4 meses.



ALICHE

# Vegetais fermentados

## **Chucrute** - *repolho ácido*

Repolho > água > glicídios > proteínas > lípidos > minerais

Degradação dos glicídios a:

- . ácido láctico
- . ácido acético
- . etanol
- . CO<sub>2</sub>

Fase inicial:

*Leuconostoc mesenteroides*  $T < 21$  °C

*Lactobacillus brevis*

*Lactobacillus plantarum*  $T 35$  °C



# Vegetais fermentados

**Picles** - Pepinos pequenos e verdes, gengibre, cebola, alho bravo, pimentão, raízes de bambu e folhas de mostarda, papaia, manga, ananás, lima e noz-moscada.

*Leuconostoc mesenteroides*

*Lactobacillus brevis*

*Lactobacillus fermentum*

*Lactobacillus plantarum*





## Elaboração de chucrute

*Lactobacillus brevis*

*Lactobacillus plantarum*

*Leuconostoc*



Picles

# Vegetais fermentados

## **Cereais - Magou**

Bebida ácida, obtida a partir do milho.

*Africa do Sul*

Inóculo adicionado intencionalmente a farinha:

*Lactococcus lactis*

*Lactobacillus delbrueckii*





# Vegetais fermentados

## Centeio - **Pão Ácido**

A massa de farinha é fermentada por bactérias lácticas

*Lactobacillus plantarum*

*L. brevis*

*L. fermentum*

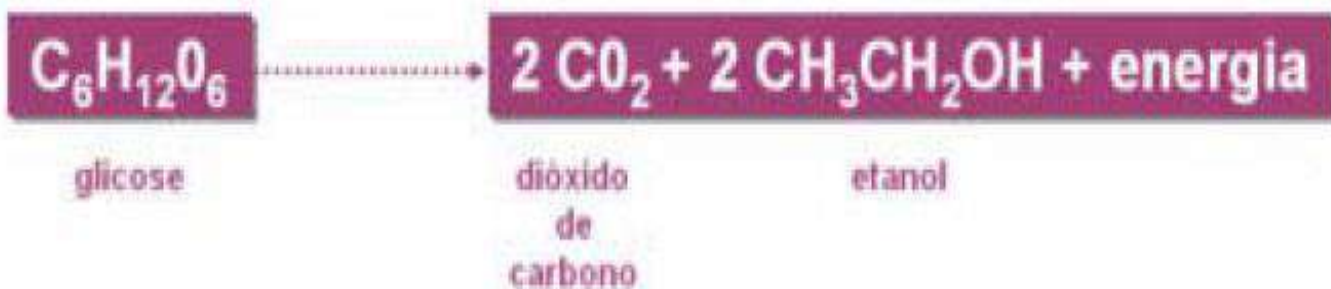
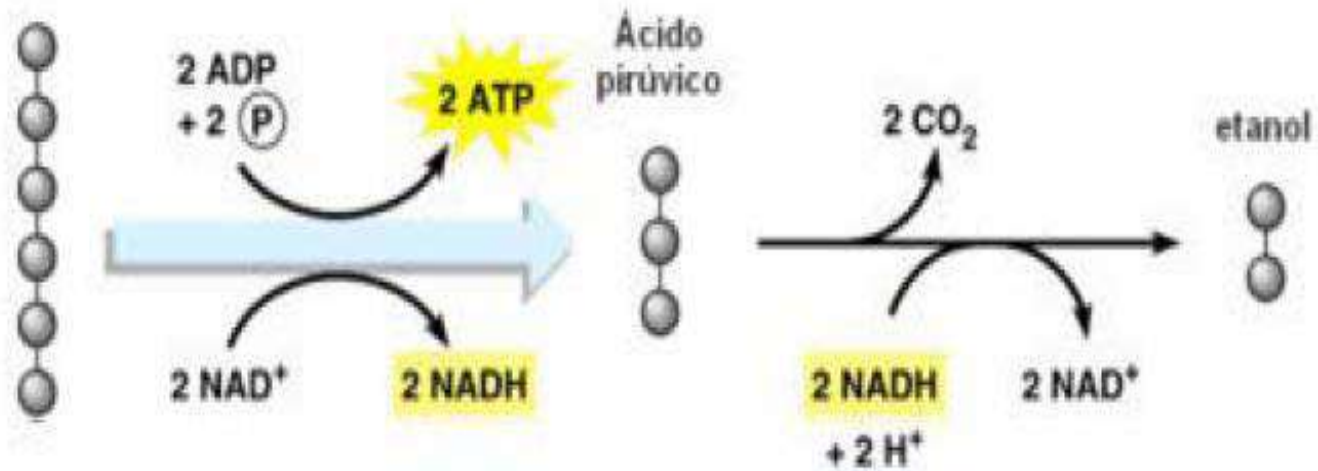


# Fermentação alcoólica

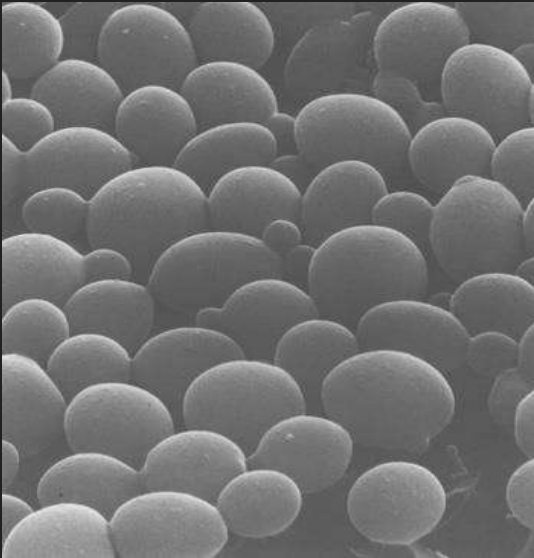
- 1- Ácido pirúvico é descarboxilado formando acetaldeído.
- 2- Acetaldeído reduzido em etanol.

Regula a fermentação através da inibição seletiva de micro-organismos.

glicose



FERMENTAÇÃO ALCÓOLICA



*Saccharomyces cerevisiae*



# Produção de pão

- Fermentação por *Saccharomyces cerevisiae*
- Hidrólise do amido – açúcares simples – CO<sub>2</sub> e etanol
- CO<sub>2</sub> – textura porosa ao pão
- Calor – expansão do gás e evaporação do álcool – Estrutura do pão





# Produção de cerveja

- *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces uvarum*.
- Fabricada a partir de malte, amido, lúpulo e água.
- Açúcares – etanol atinge concentração de 3,8% do volume e CO<sub>2</sub> é liberado.





Produção de cerveja



# Produção de vinho

- Fermentação do açúcar das uvas por leveduras principalmente *Saccharomyces cerevisiae*.
- O  $\text{CO}_2$  é liberado para a atmosfera e a concentração de etanol vai aumentando.
- Término da fermentação – em torno de 12% de álcool.
- Fermentação maloláctica – ác. Malolático a ác. Láctico.





Produção de vinho



# Fermentação acética



etanol

oxigênio



Ácido acético

Água

"FERMENTAÇÃO" ACÉTICA

Oxidação do etanol a ácido acético

# Produção de vinagre

- Leveduras para conversão de açúcares em etanol - *S. cerevisiae*.
- Bactérias Acetobacter – transformação do álcool em **ácido acético** - *Acetobacter aceti*, *A. pasteurianus*, *A. acidophilum*.
- Possui de 4 a 14% de ácido acético



# Bioconservação



Elo entre fermentação e preservação



Micro-organismos  
inócuos

Produção de ácido

Peróxido de hidrogênio

Dióxido de carbono

Bacteriocinas

# Atualmente....

O mercado passou a utilizar a fermentação em maior escala por conferir características sensoriais agradáveis aos alimentos, em detrimento da finalidade conservativa.

## Recomendação para leitura:

International Journal of Food Microbiology 79 (2002) 3 – 16

Preservation and fermentation: past, present and future  
R. Paul Ross, S. Morgan, C. Hill