

Conservação de Alimentos Por Acidificação

Prof^ª. Ângela Maria Fiorentini
angefiore@gmail.com



Homem



Alimento – consumo diário



Produção sazonal

Meios para preservar alimentos




Salga, secagem, fermentação...

Conservação de alimentos

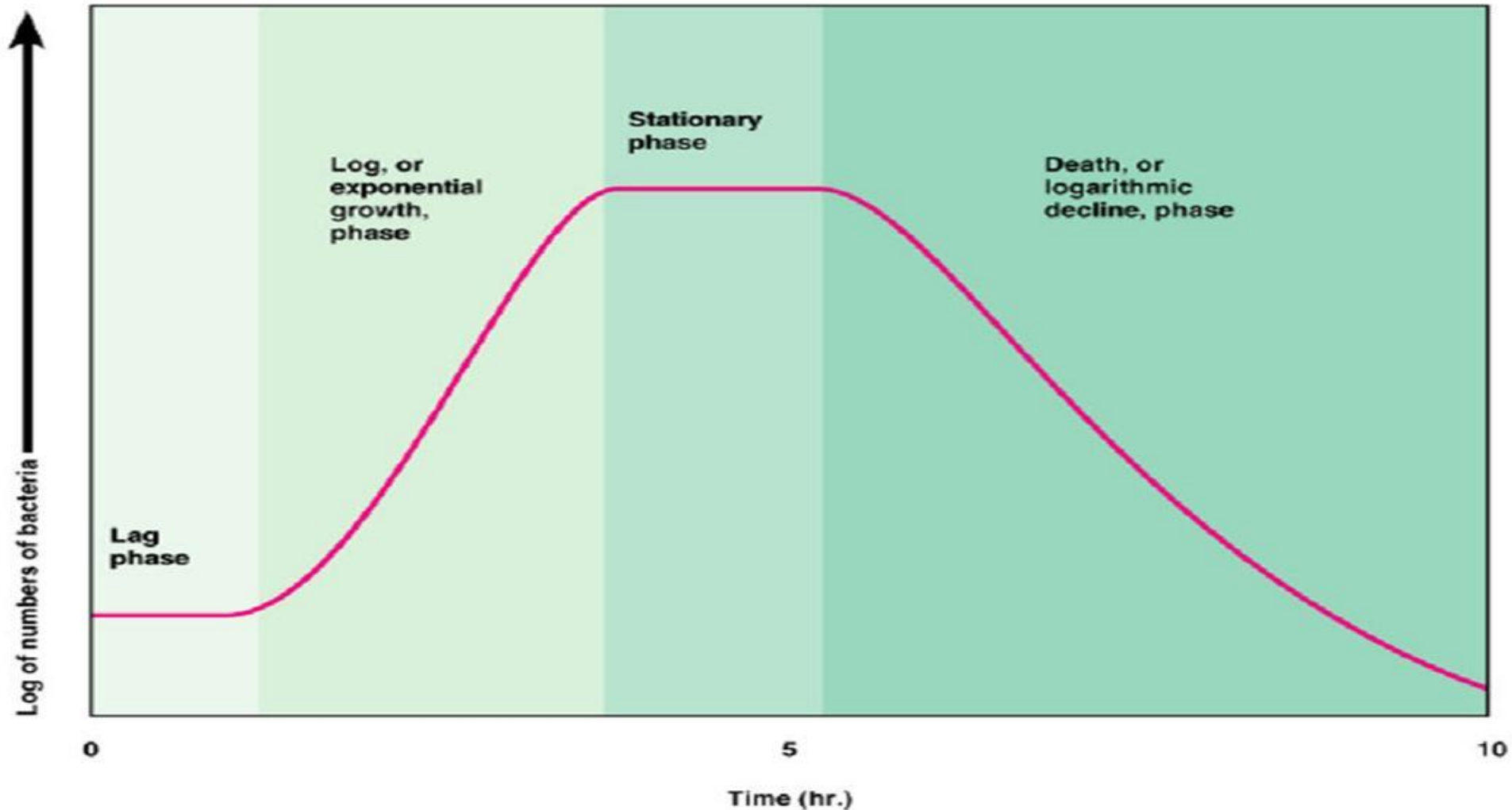
» Problemas:

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

» Desafios:

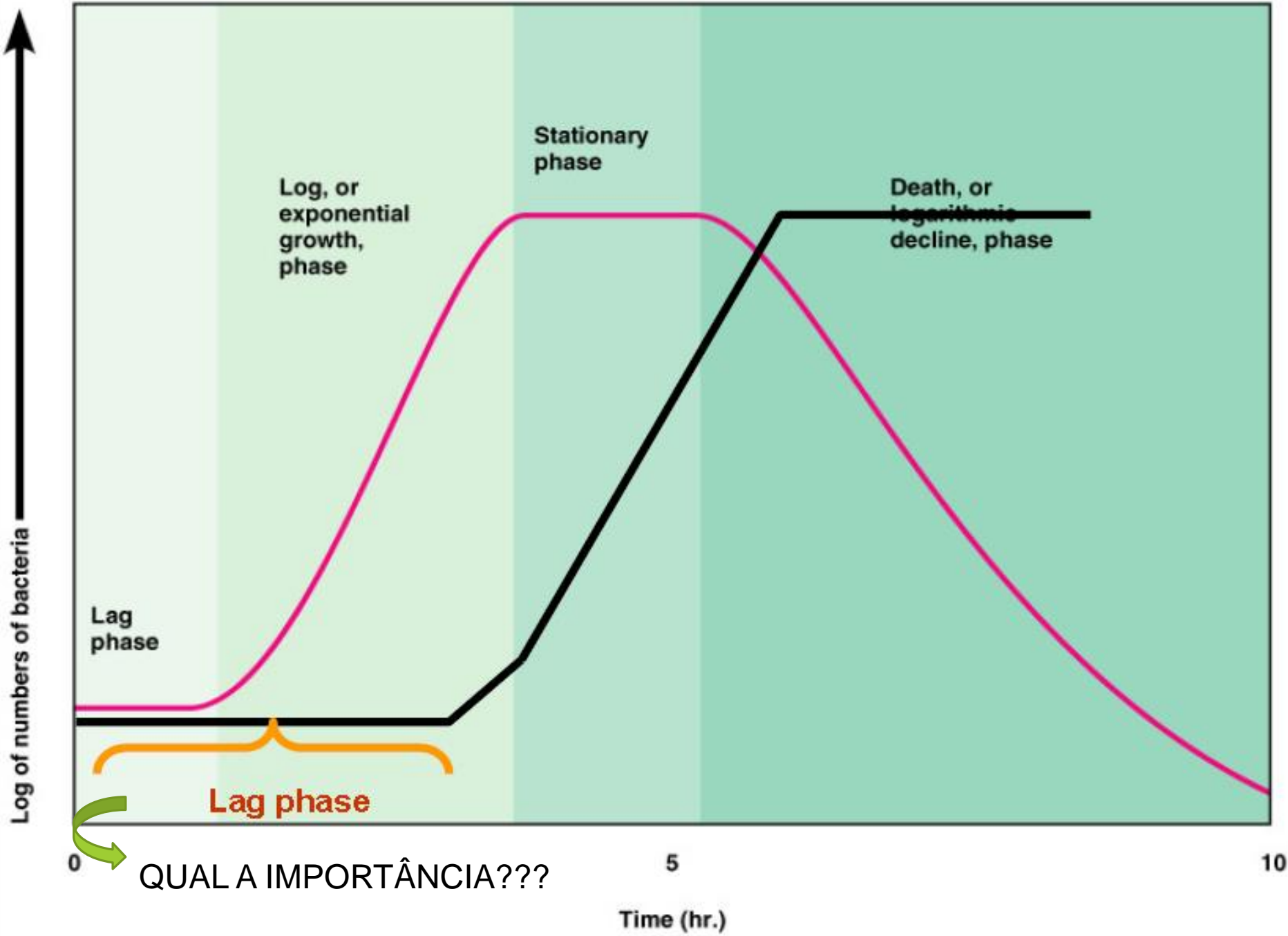
- Tecnologias de processamento
- Aumentar a vida útil  sem alterações nos atributos de qualidade dos produtos.

Controle de micro-organismos



Micro-organismos

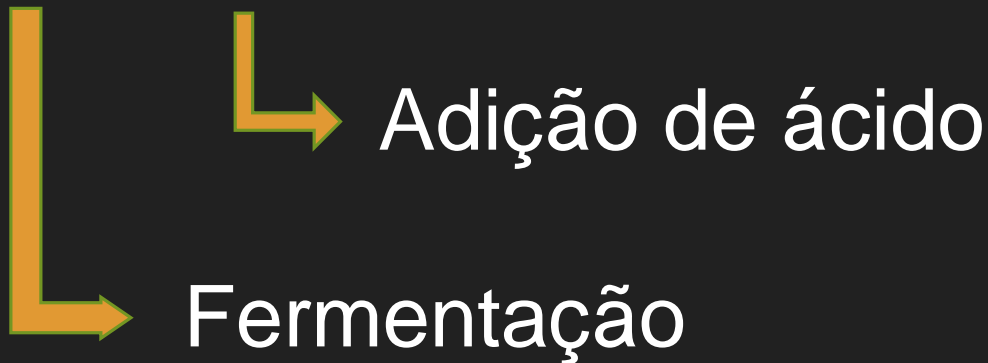
- Principais fatores limitantes para o crescimento microbiano?
- Fatores extrínsecos
- Fatores intrínsecos

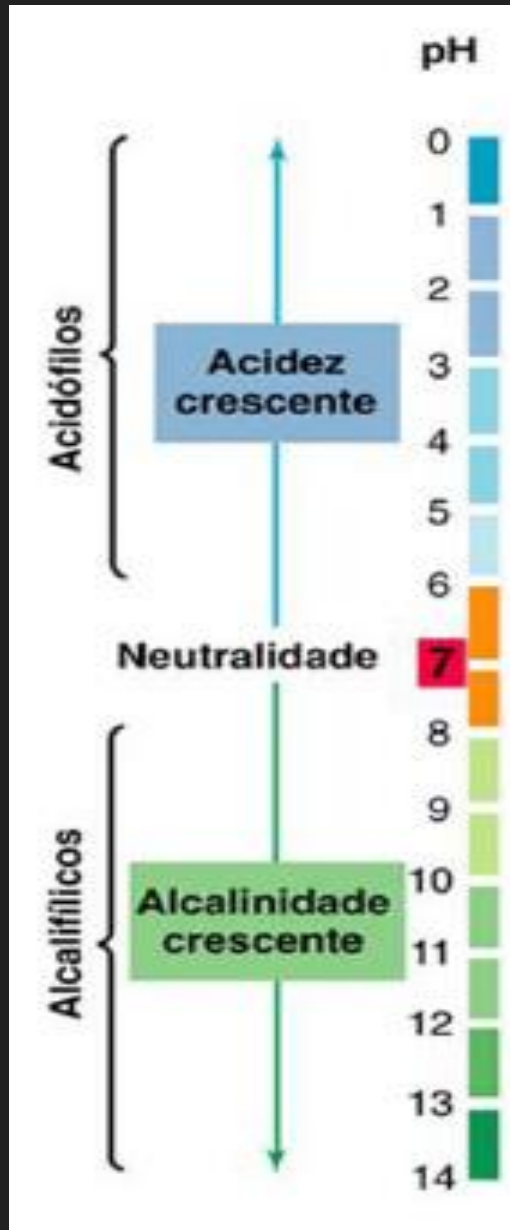


Controle de micro-organismos

- Métodos de conservação

- Acidificação → modificação do pH





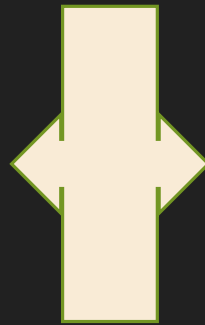
» Medida da acidez ou alcalinidade de um alimento.

» 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

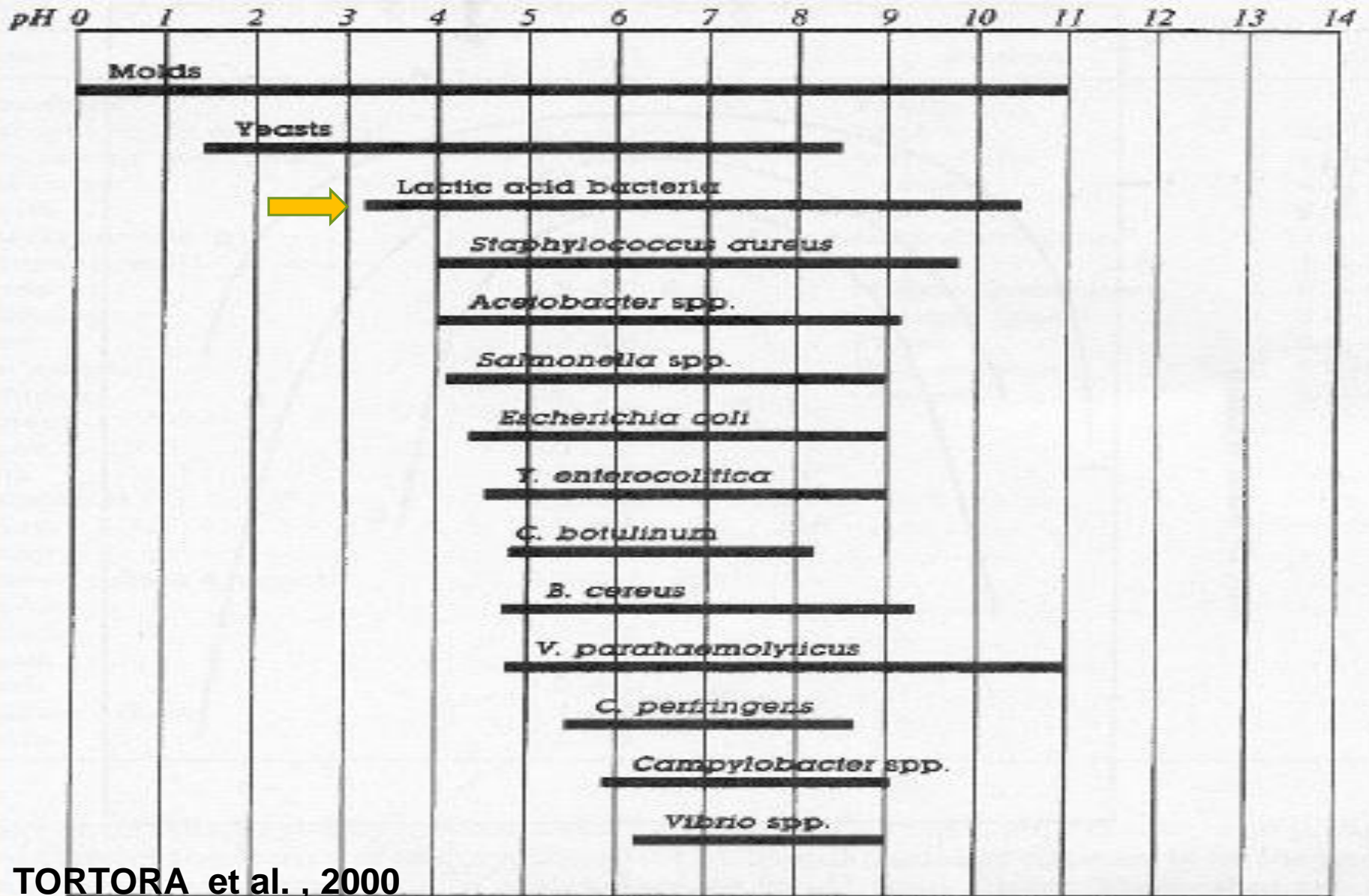


controle

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

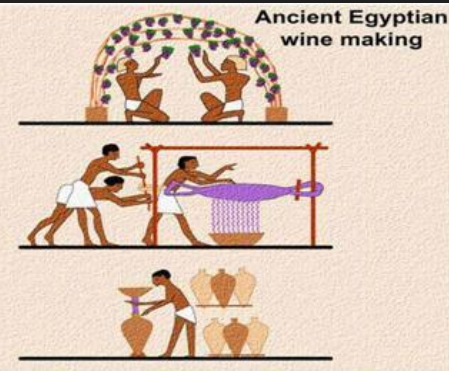
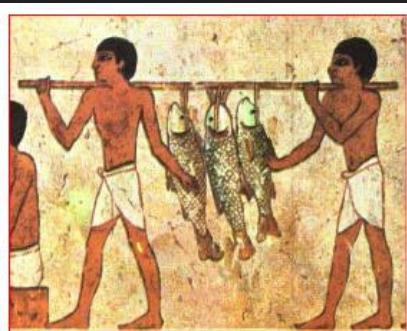
Vida útil
Textura
Sabor/aroma

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.



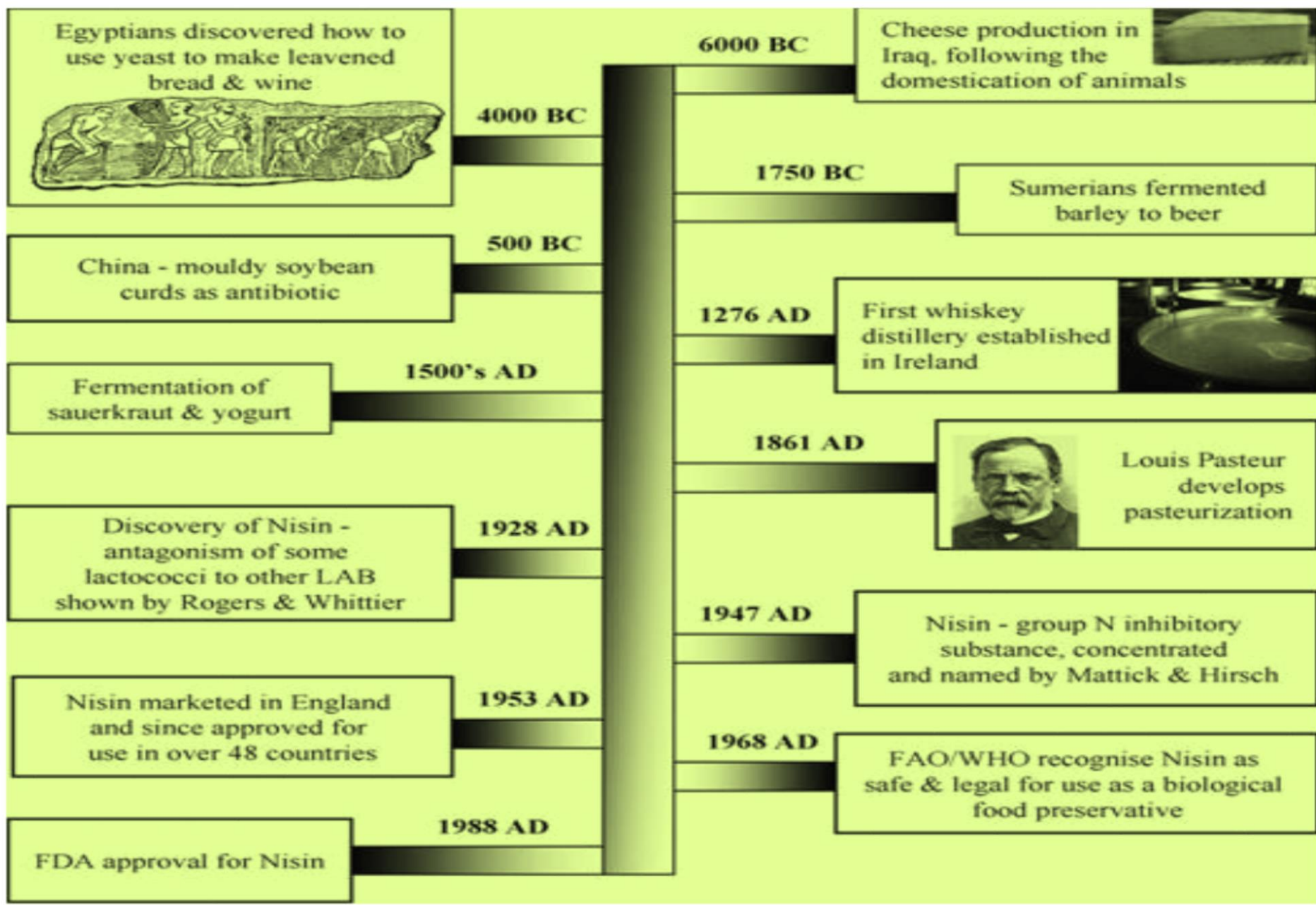


Fig. 1. Major events in food fermentation and preservation through the years.

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

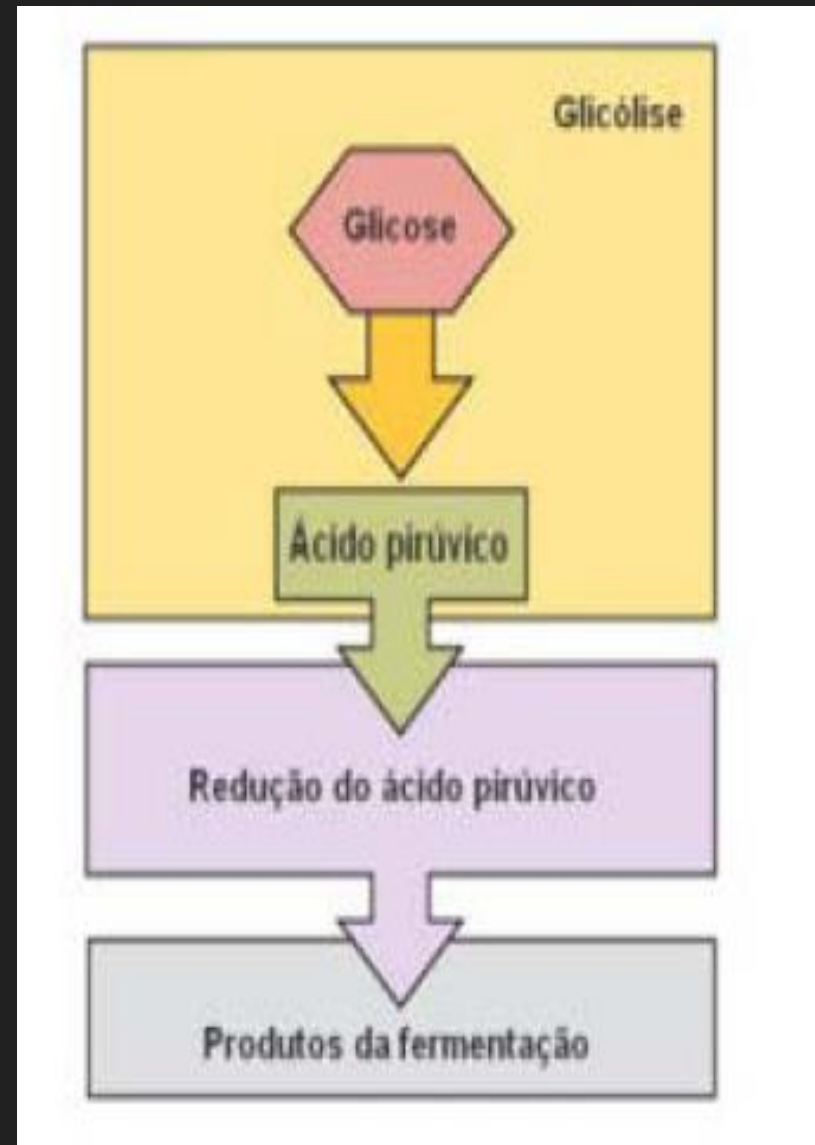
Conjunto de reações químicas controladas enzimaticamente, em que uma molécula orgânica é degradada em compostos mais simples, liberando energia.

Etapas da fermentação

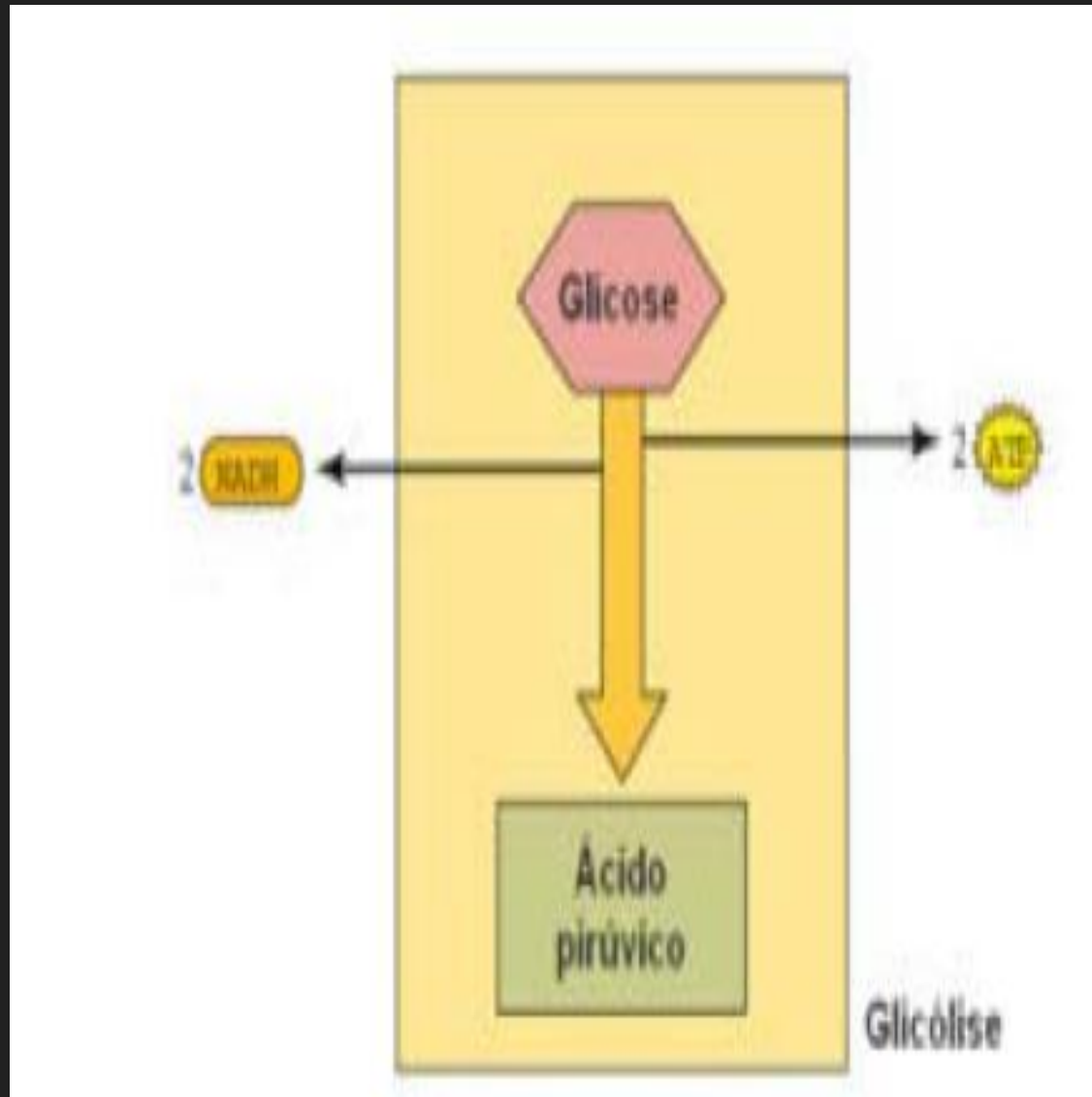
Conjunto de reações enzimáticas que ocorrem no hialoplasma.

1- Glicólise:
Degradação da glicose em ácido pirúvico.

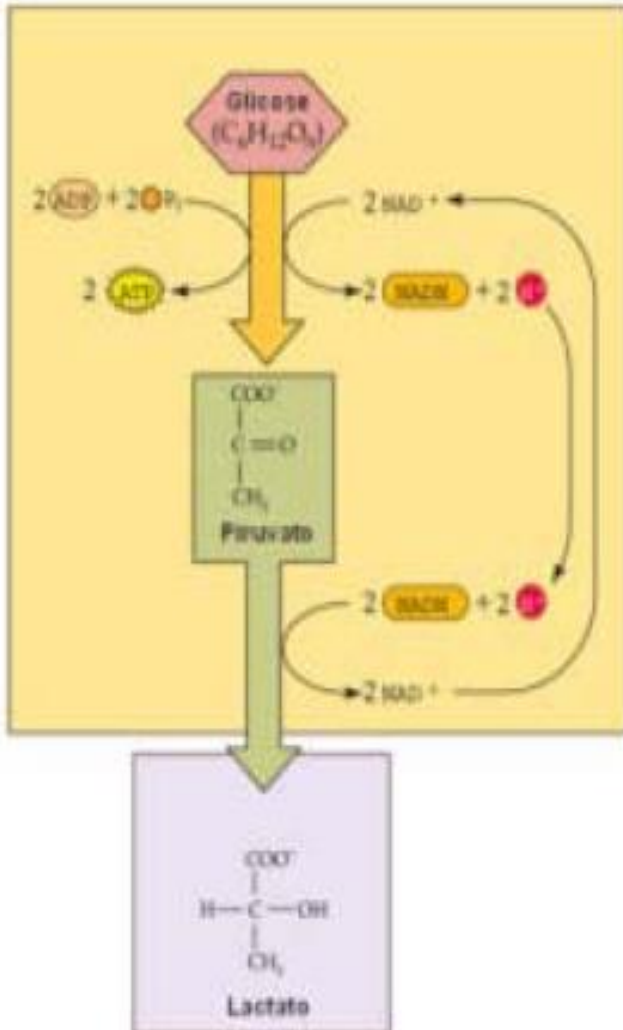
2- Redução do ácido pirúvico:
Formação de produtos da fermentação.



Glicólise



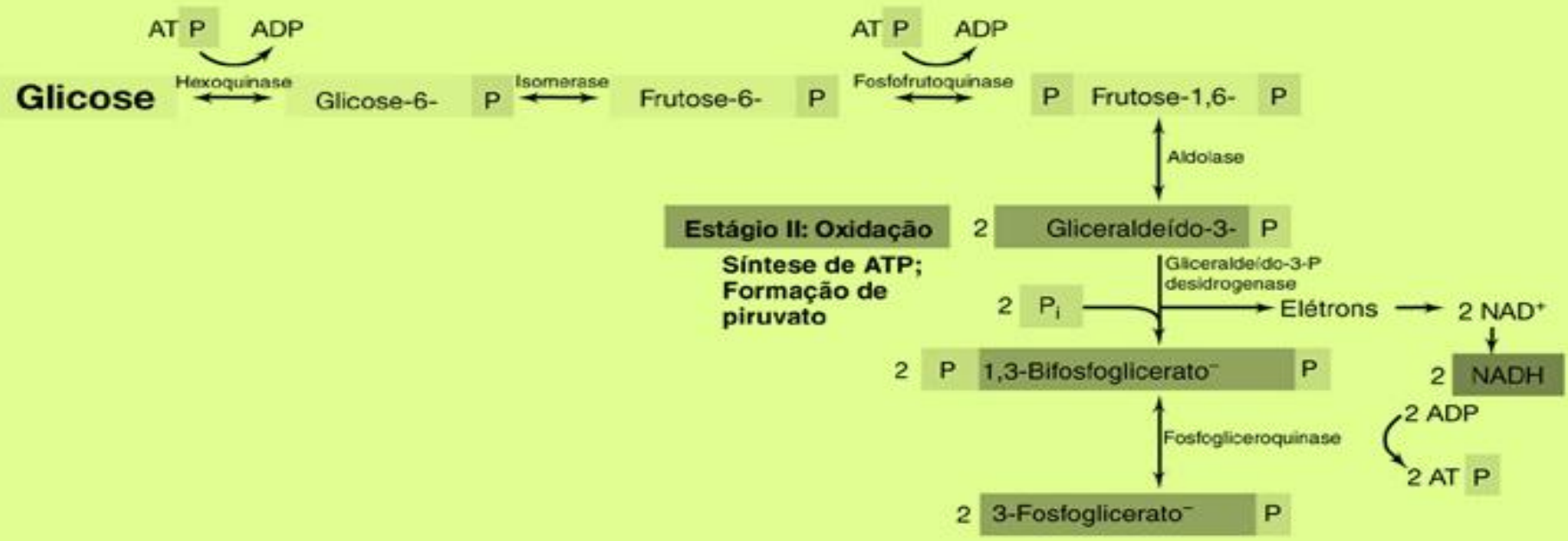
Redução do ácido pirúvico



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**

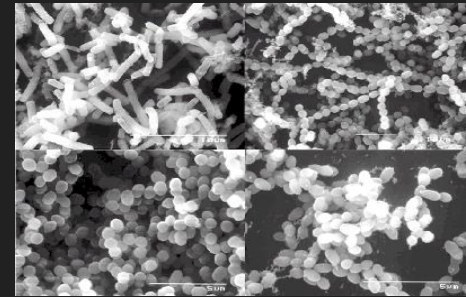
- -produção de **álcool**



**Inibição seletiva de
micro-organismos**

Micro-organismos – Indústria de alimentos

- 1- Bactérias

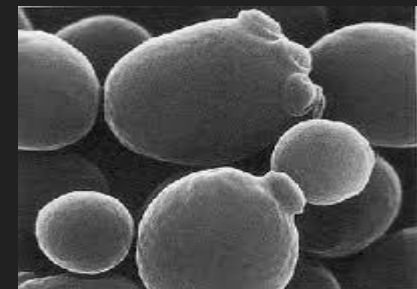
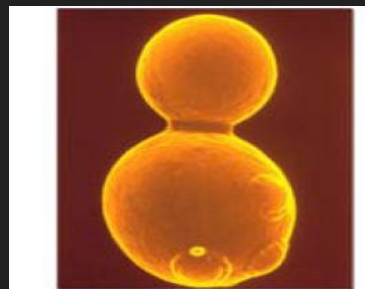


- 2- Fungos

- 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

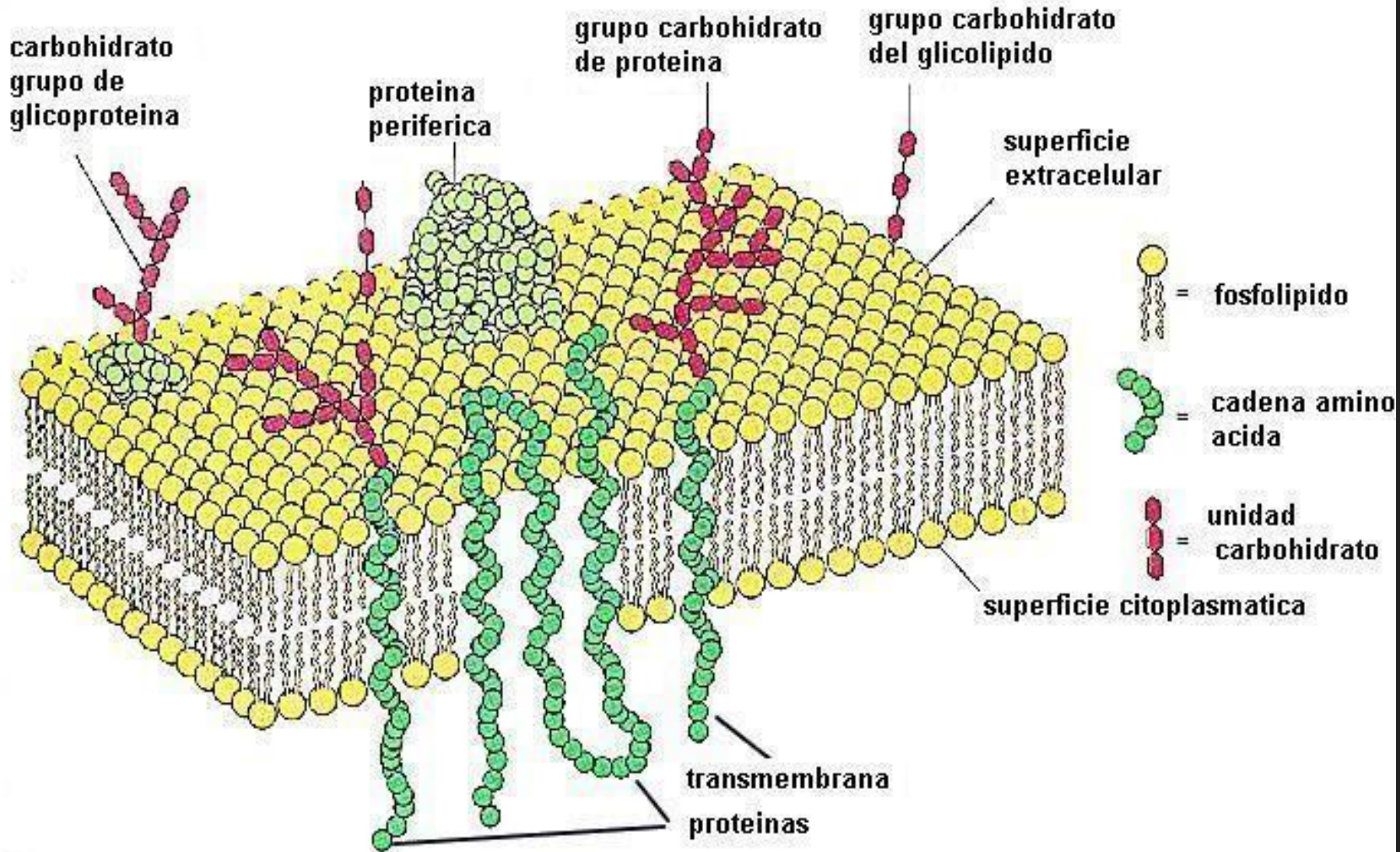
- Ação antimicrobiana → resulta de sua ação lipofílica.
 - H^+ penetram a membrana celular do micro-organismo → acidificando o seu interior.
 - Reduz pH intracelular
- ↓
- Reduz atividades metabólicas celulares.

- 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 CO₂.

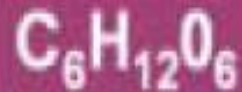
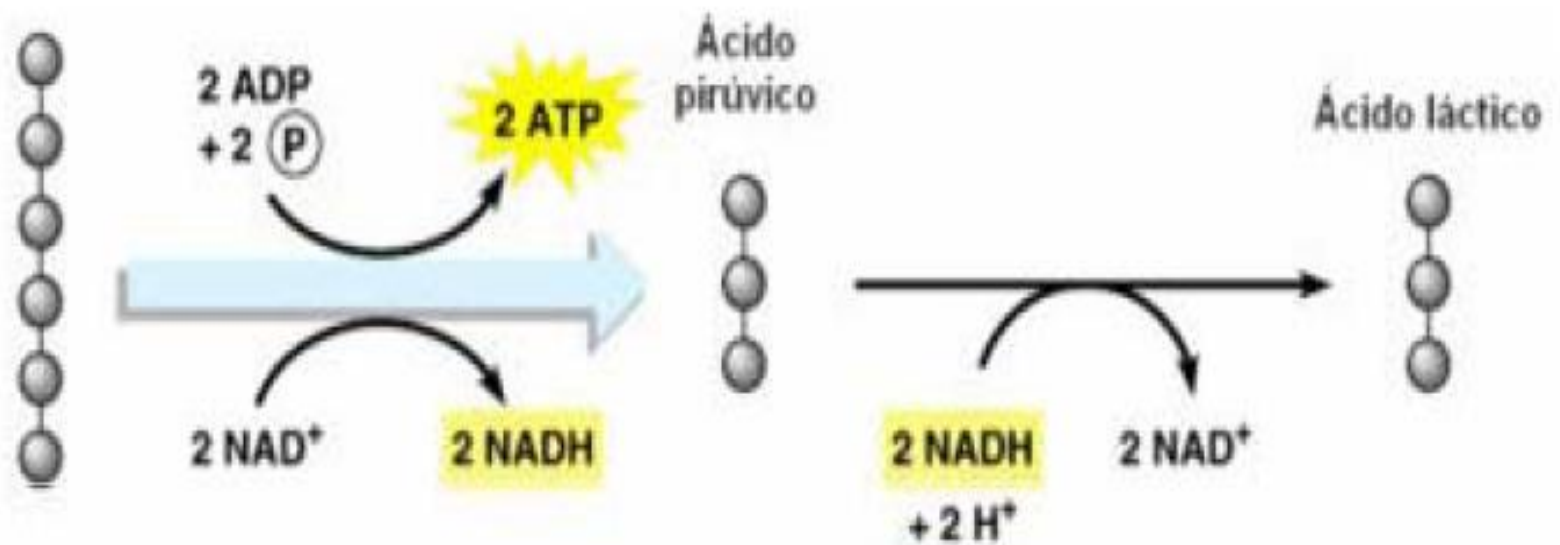




Fermentação láctica

- 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



glicose



Ácido láctico

FERMENTAÇÃO LÁCTICA

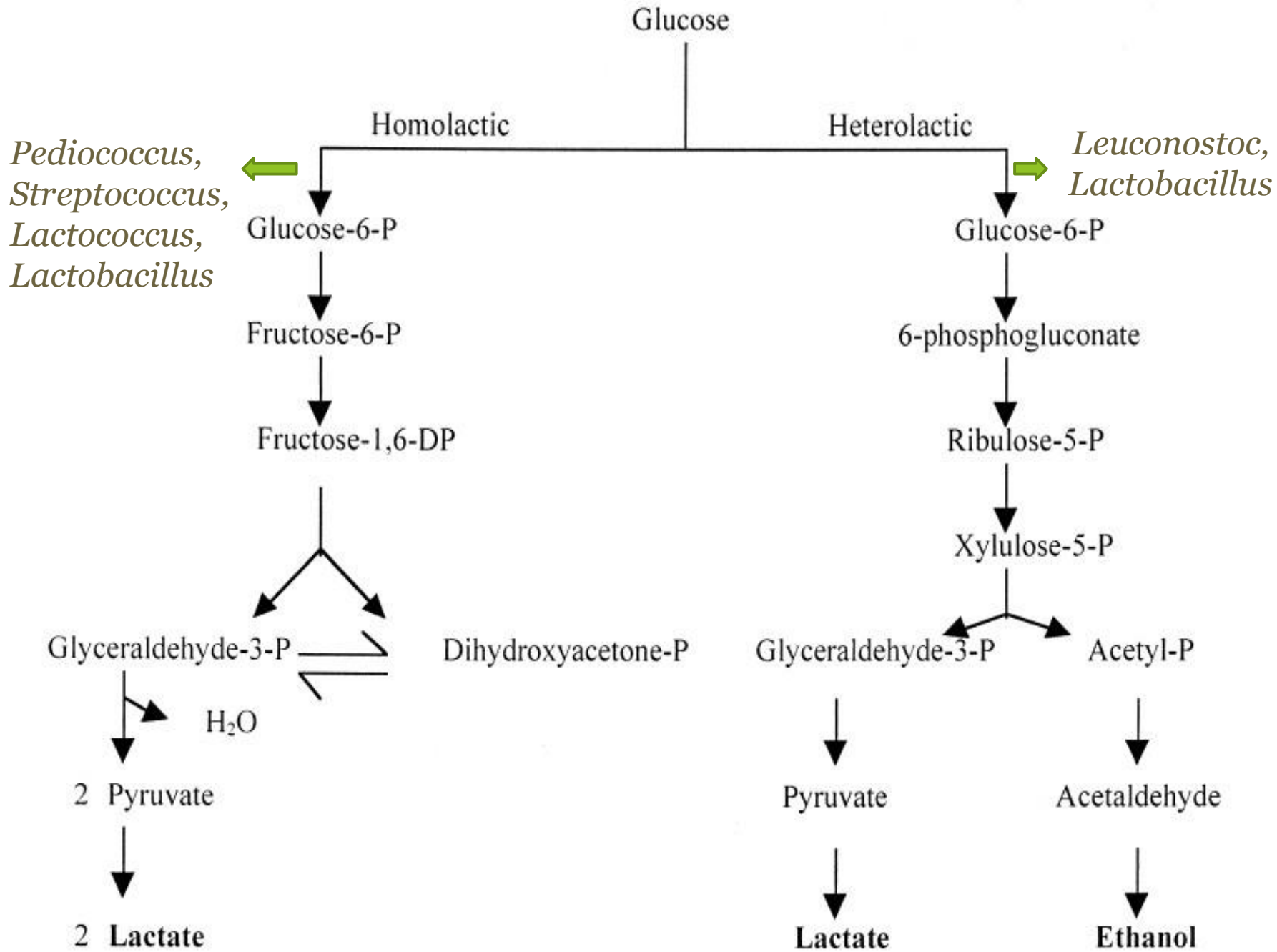


Fig. 1. Generalized scheme for the fermentation of glucose in lactic acid bacteria.

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, CO₂

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*



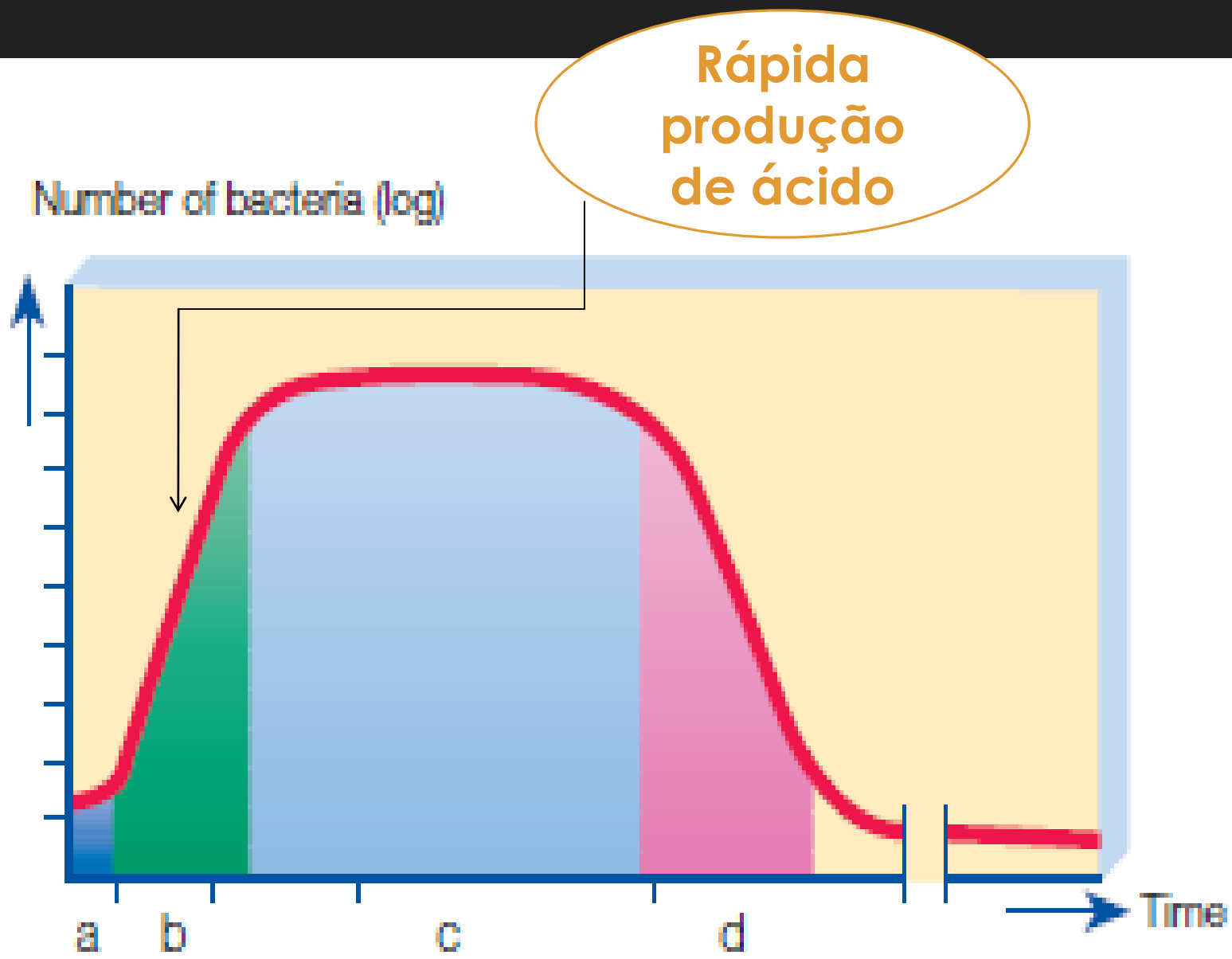


Fig. 4.10 Growth curve of bacteria

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

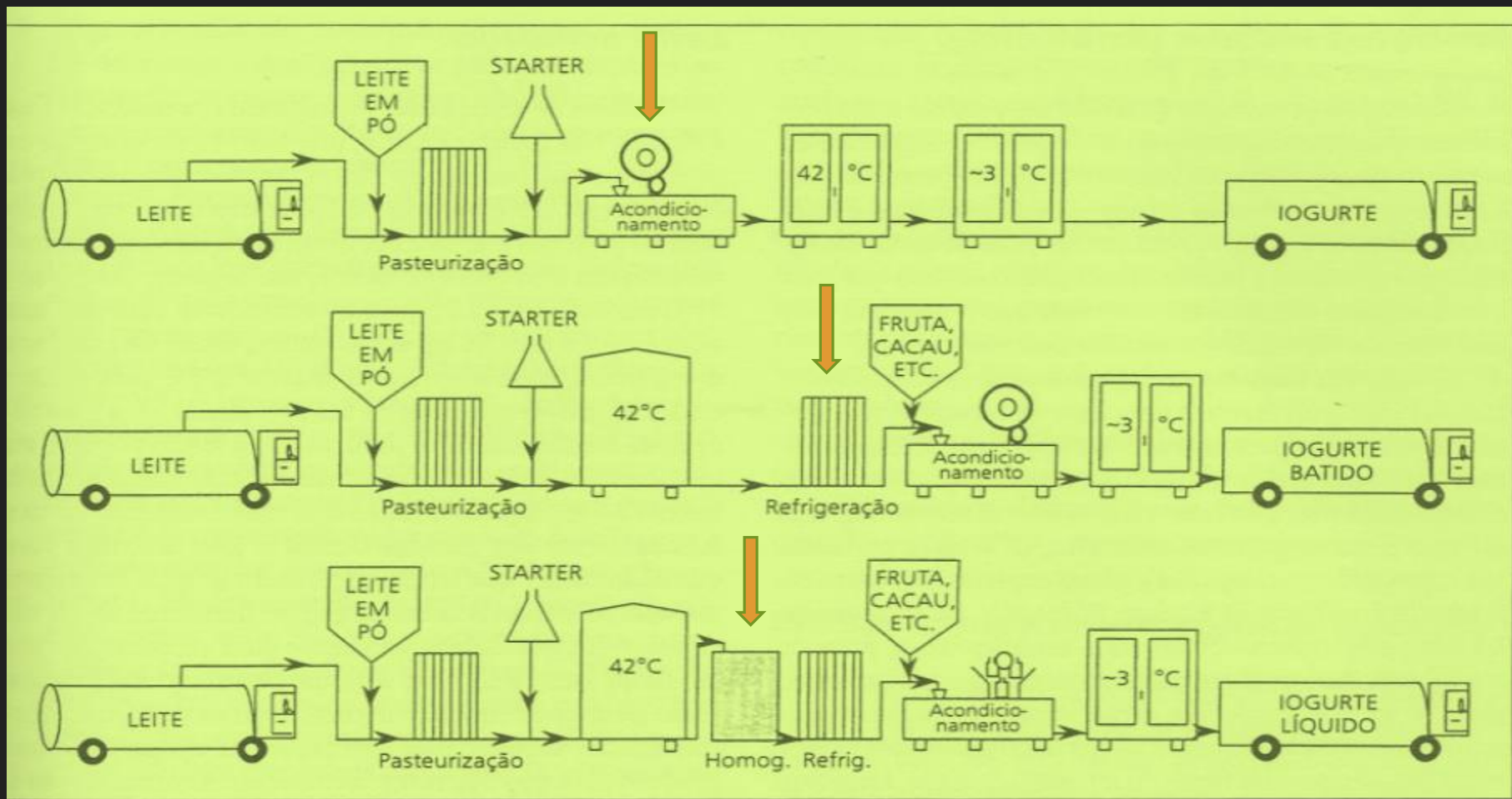


Figura 4.1 Representação esquemática da fabricação de iogurte de consistência firme, iogurte batido e iogurte líquido.

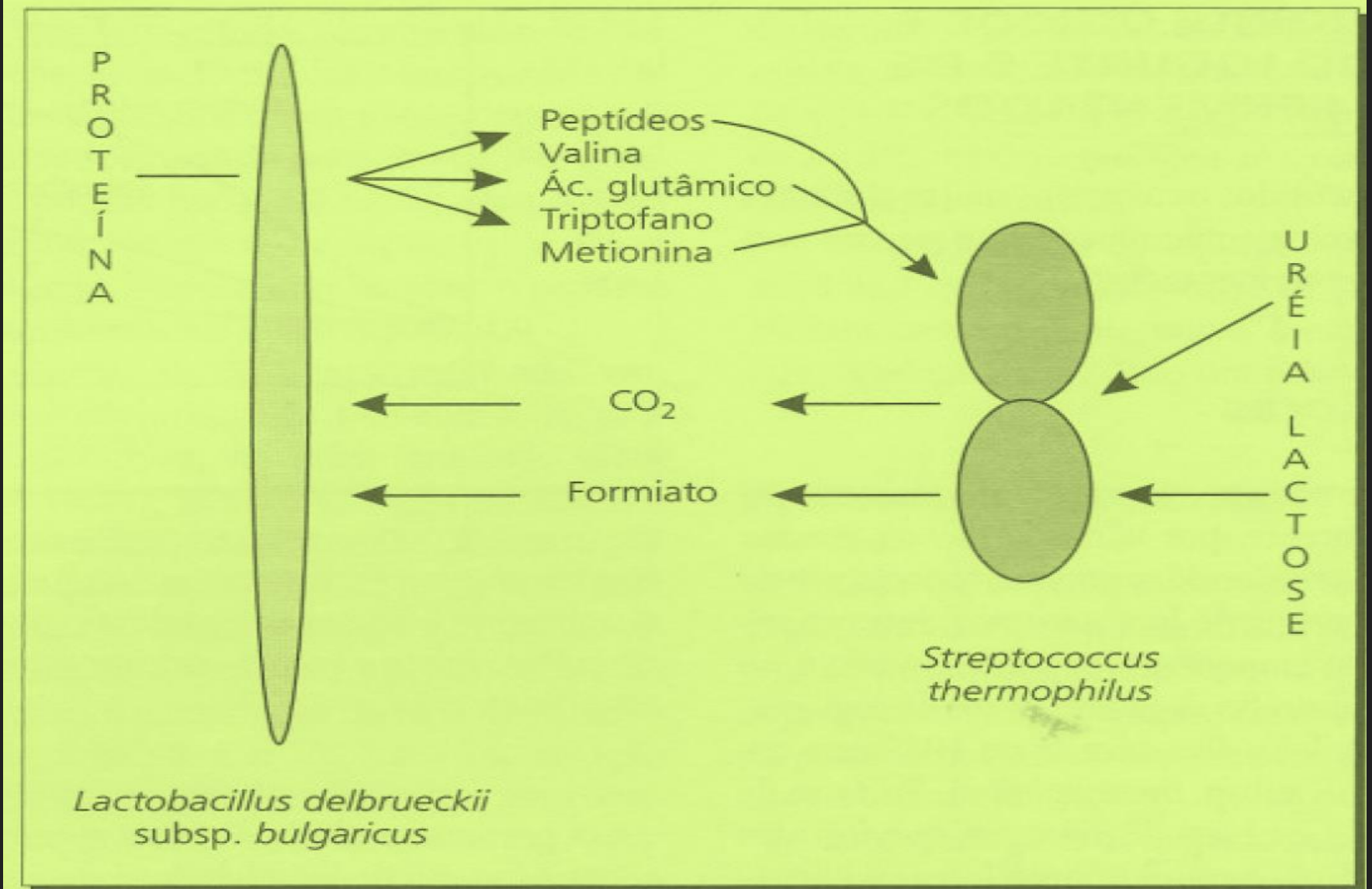


Figura 4.4 Fatores que determinam o crescimento simbiótico de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*.

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



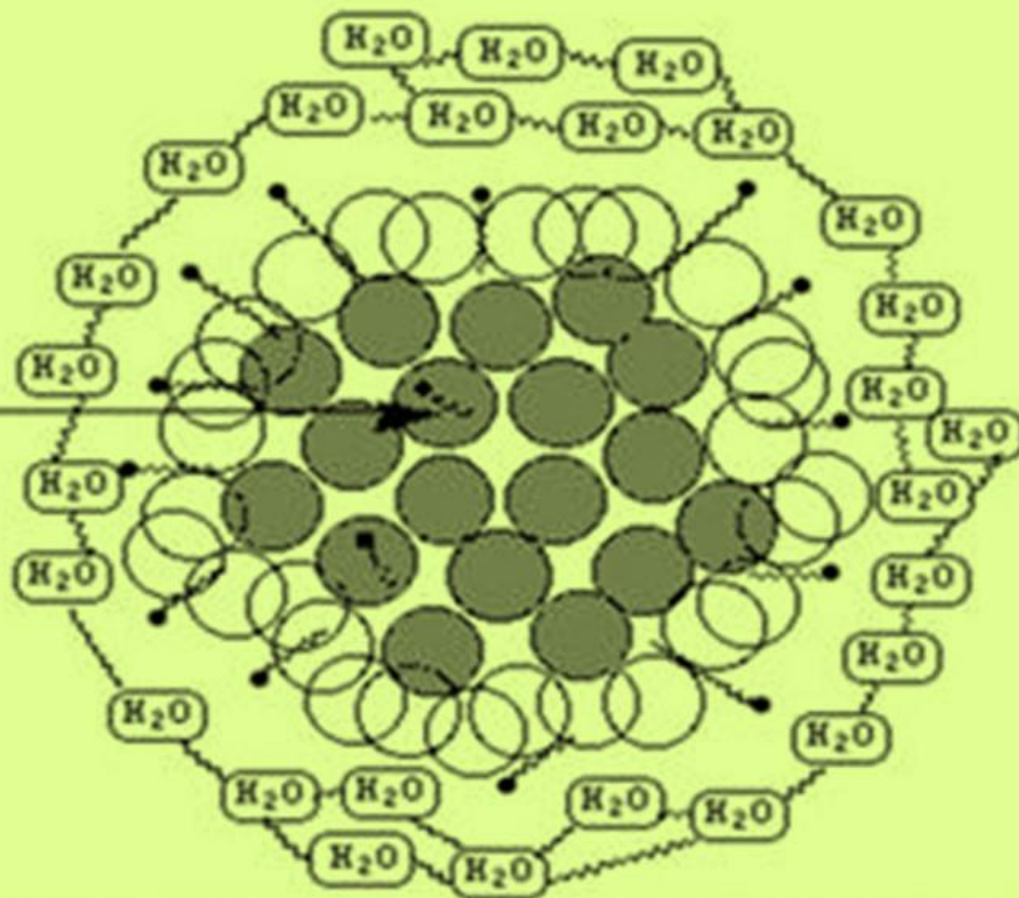
Interações hidrofóbicas → coagulação (gel).

○ 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

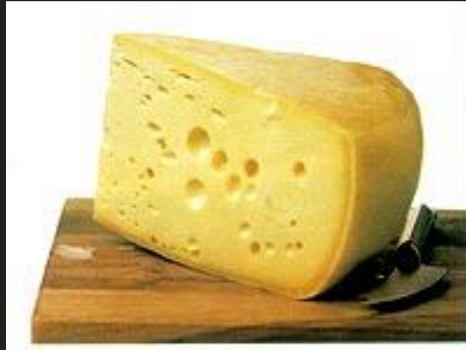


GOUDA- origem Holandesa

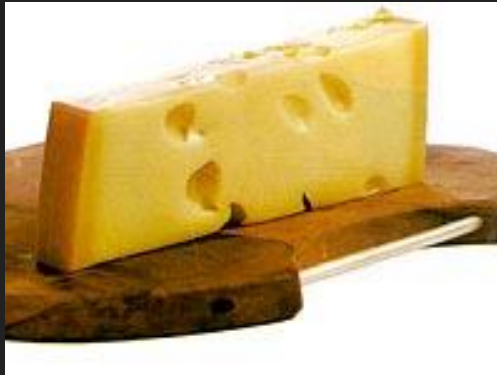


CHEDDAR- origem da Inglaterra

# Predominantemente propiônica



GRUYÈRE- origem Suíça



EMMENTHAL- origem Suíça



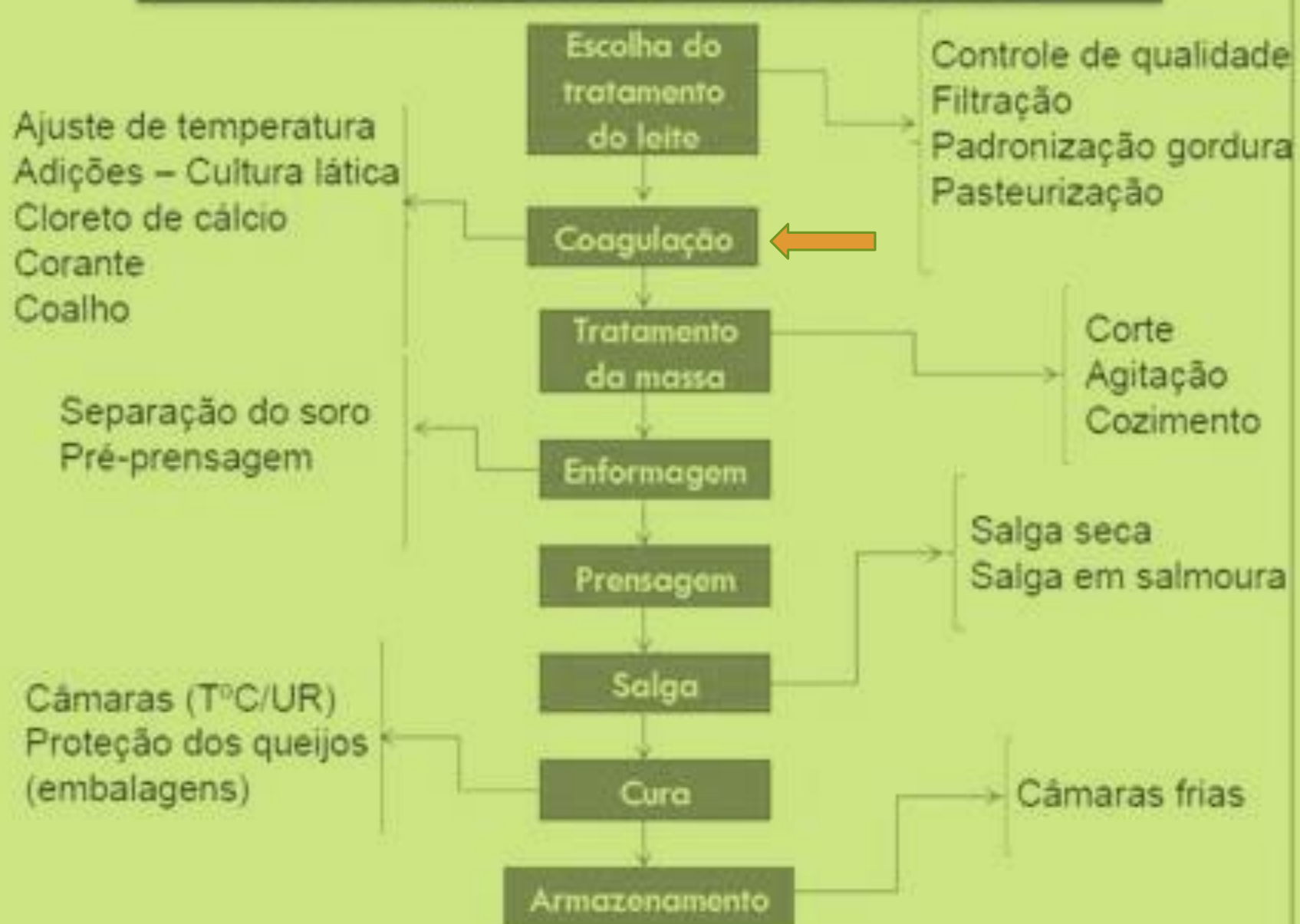
ESTEPE – origem Rússia

# Ácido láctico neutralizado na forma de sais LACTATOS

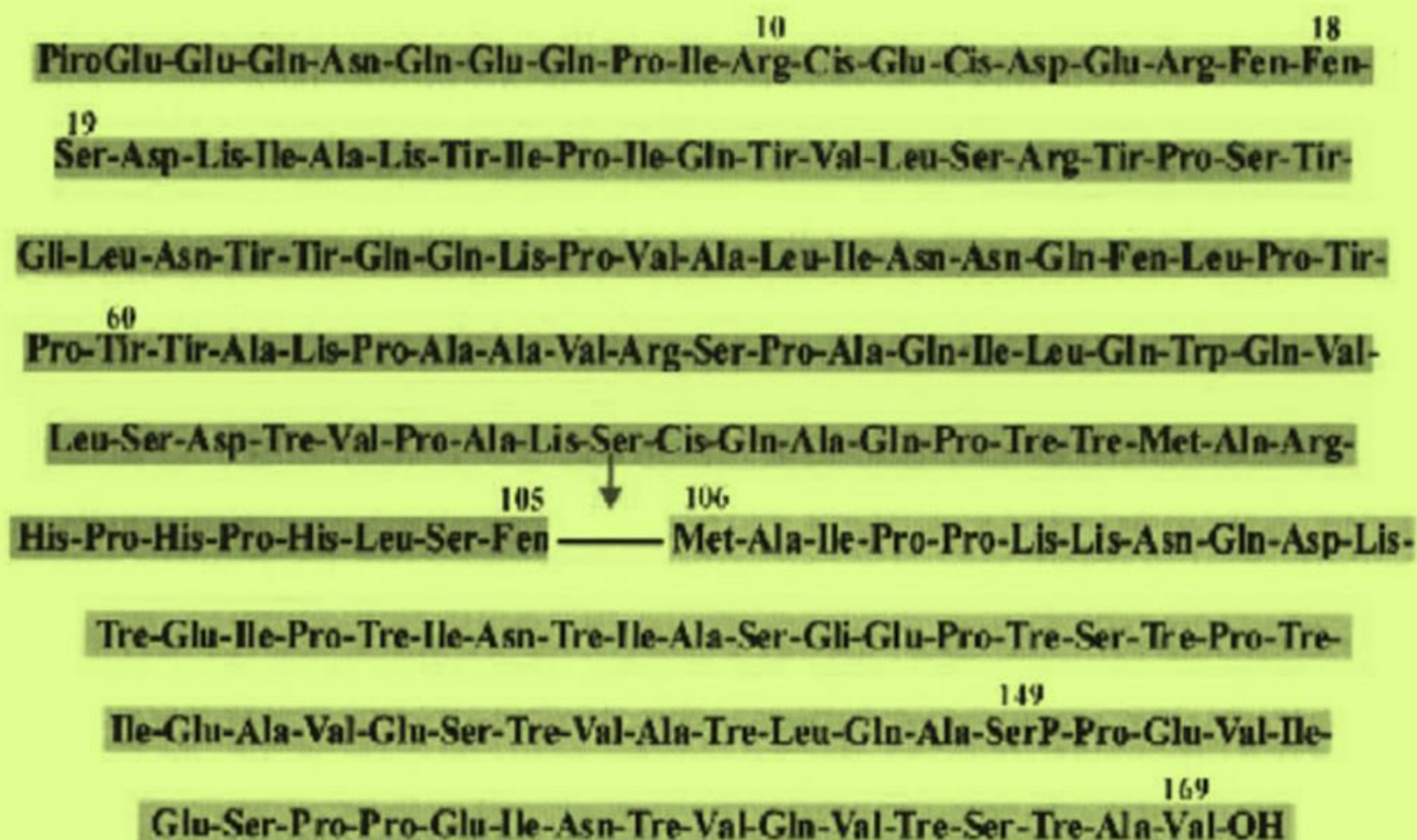
- Consumidos pelas bactérias propiônicas.
- Fermentação propiônica: ácido propiônico e acético e dióxido de carbono - formação dos grandes olhos na massa do queijo.



# Fluxograma de produção







**Seqüência primária da K-paracaseína (resíduos 1 a 105) e do glicomacropéptido (resíduos 106-169) da K-caseína. A seta indica o sítio de ação da quimosina.**



CAMPO GRANDE  
**NEWS**

# Fermentação com produção de Ácido e Álcool

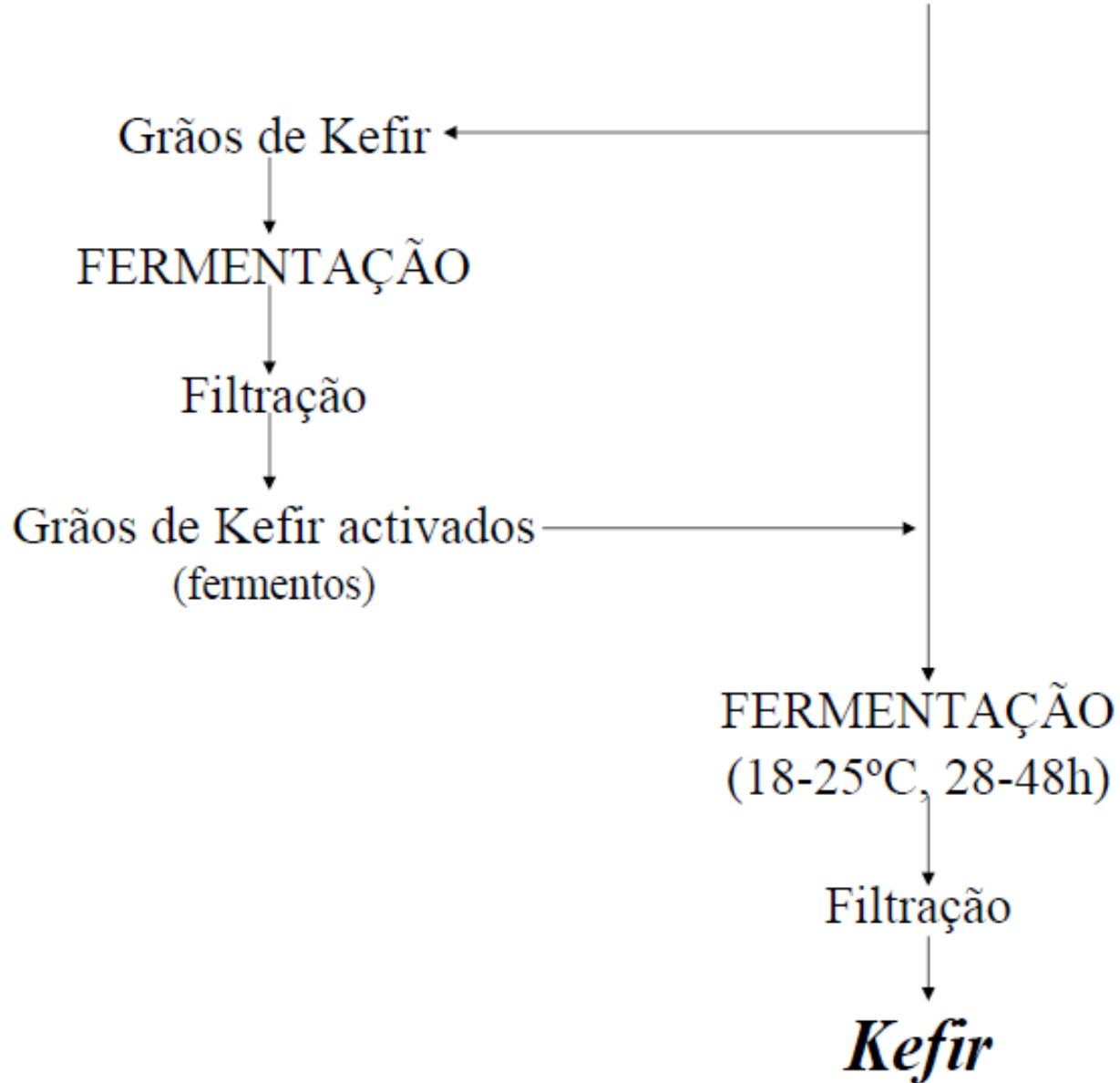
## ***Kefir***

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






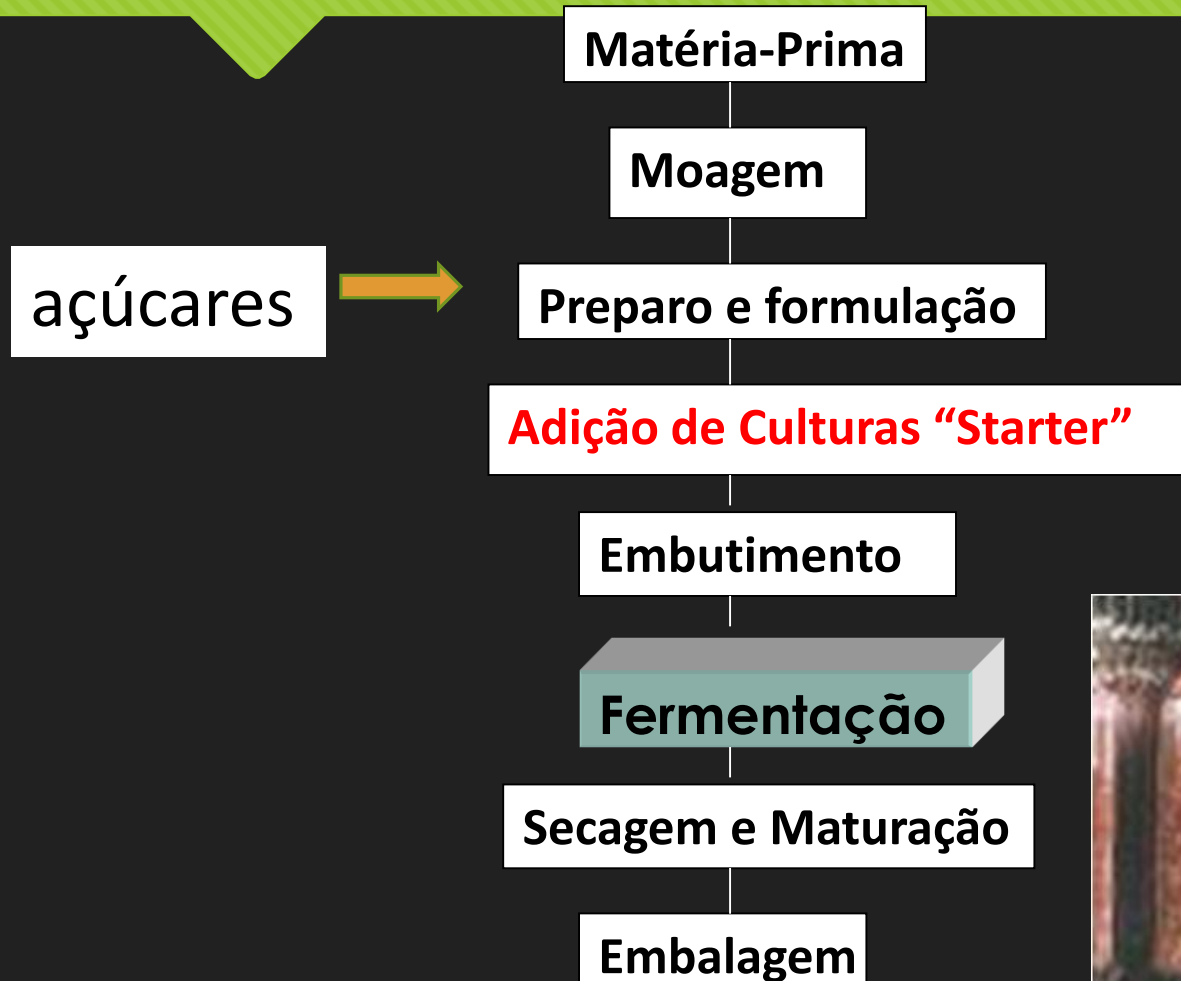
# Leite Pasteurizado



# 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

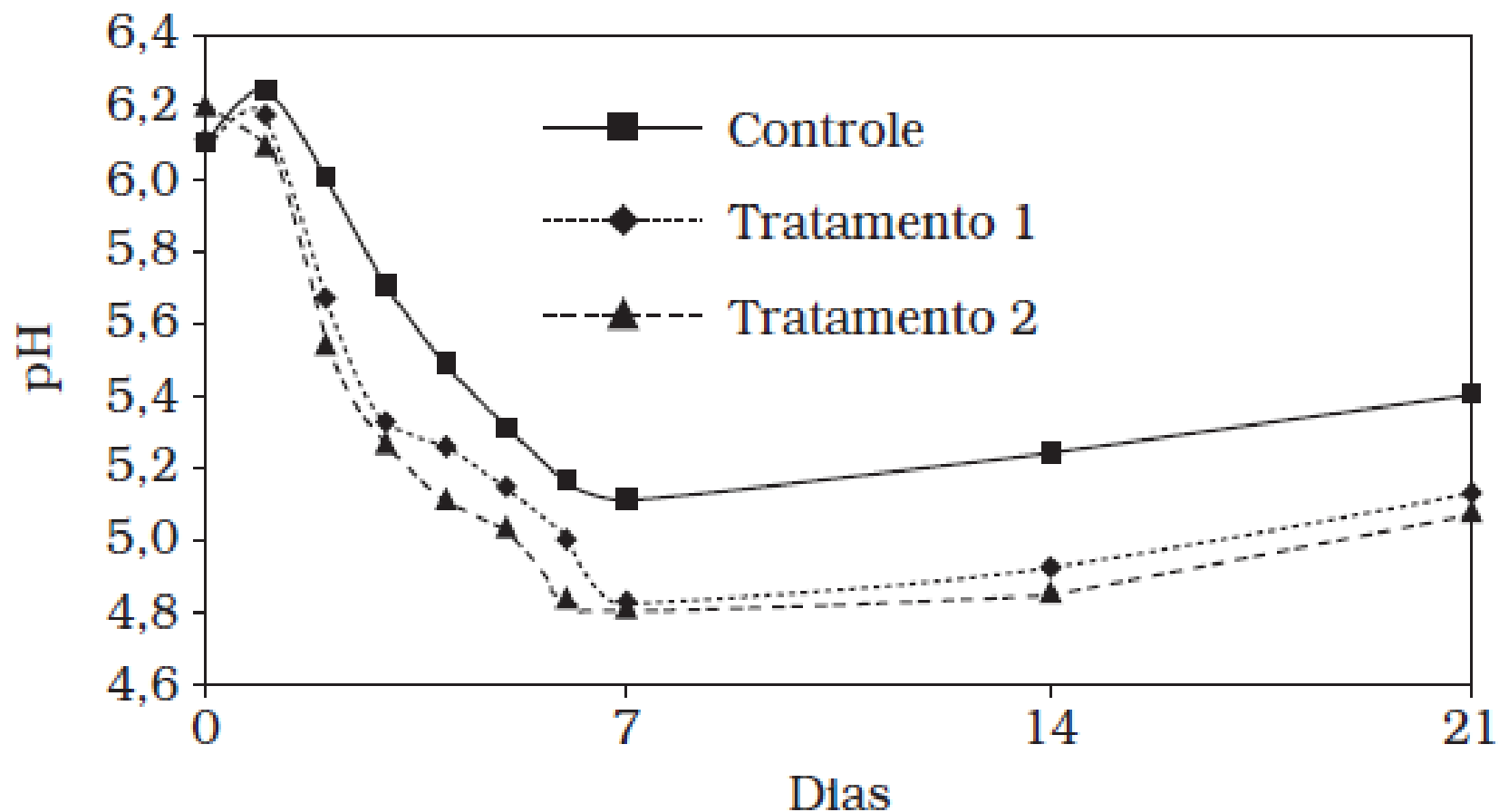


Melhora textura, desidratação e a cor do embutido.



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*

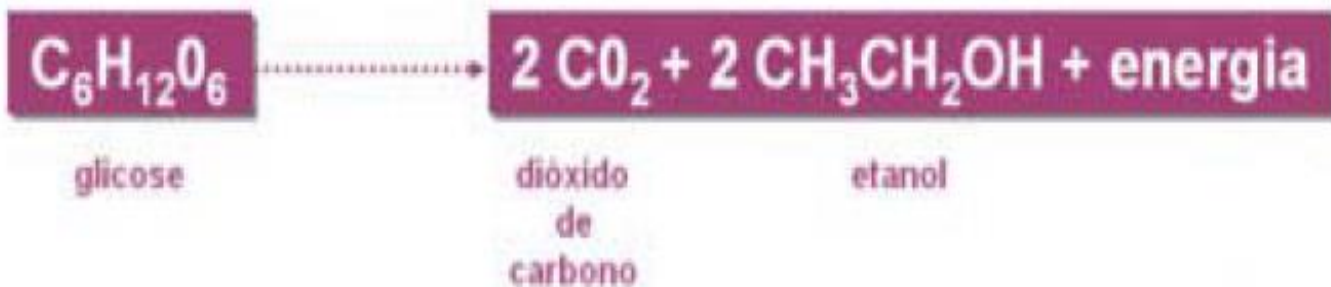
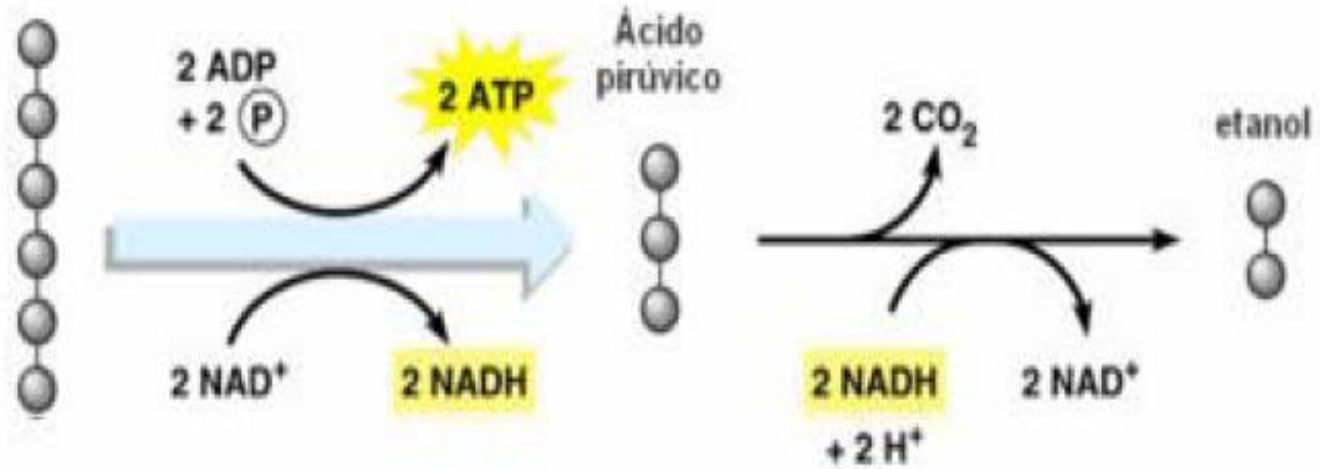


# Fermentação alcoólica

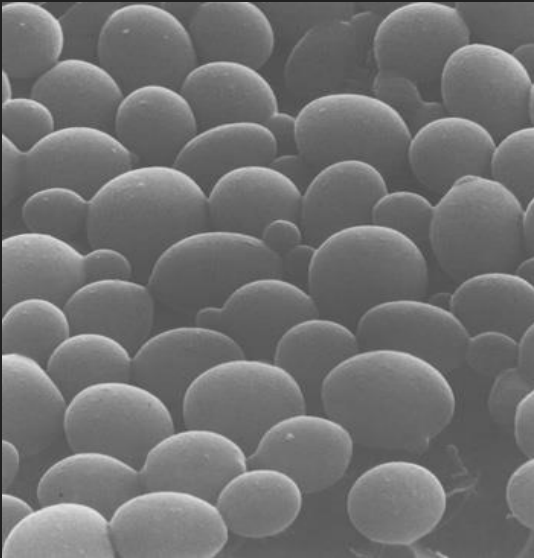
- 1- Ácido pirúvico é descarboxilado formando acetaldeído.
- 2- Acetaldeído reduzido em etanol.

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

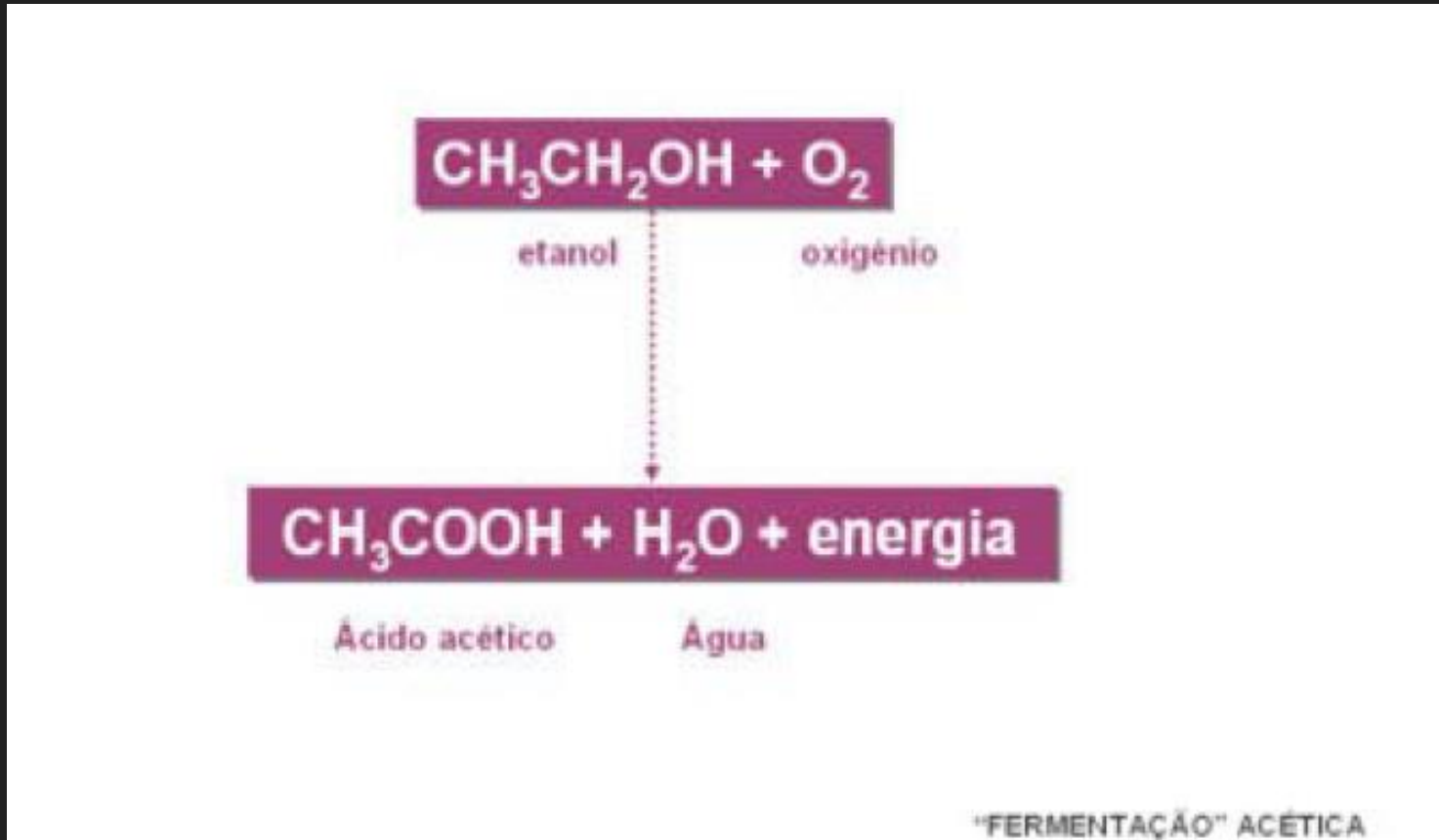
- Fermentação do açúcar das uvas por leveduras principalmente *Saccharomyces cerevisiae*.
- O  $\text{CO}_2$  é liberado para a atmosfera e a concentração de etanol vai aumentando.
- Término da fermentação – em torno de 12% de álcool.
- Fermentação maloláctica – ác. Malolático a ác. Láctico.





Produção de vinho

# Fermentação acética



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