

AÇÃO DAS ENZIMAS PROTEOLÍTICAS E LIPOLÍTICAS DE BACTÉRIAS PSICROTRÓFICAS SOBRE O LEITE CRU REFRIGERADO

Igor Moreira de Andrade¹
Thauany Gabriely Miranda¹
Letícia Ferreira da Silva²
leticiaafs@gmail.com

PALAVRAS-CHAVE: lipases; proteases; refrigeração; termoresistência.

INTRODUÇÃO

A qualidade do leite cru é influenciada por diversos fatores associados ao manejo, à sanidade da glândula mamária, à dieta, às características genéticas dos rebanhos, à coleta e ao armazenamento do leite recém-ordenhado (GUERREIRO *et al*, 2005). O método de refrigeração do leite cru foi introduzido no Brasil no final da década de 90, sendo atualmente regulamentado pela Instrução Normativa nº 76 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa). Tal legislação, em busca da diminuição da deterioração e da perda desta matéria-prima, recomenda que o tanque de refrigeração seja dimensionado de forma que permita manter o leite em uma temperatura igual ou inferior a 4°C em um tempo de até 3h após o término da ordenha, não levando em conta a sua capacidade máxima em litros (BRASIL, 2018). Este método de refrigeração garante a inibição de crescimento das bactérias mesófilas, que crescem em temperatura ideal de 30°C, entretanto, em grande parte das propriedades de produção de leite, a temperatura de refrigeração oscila entre 5 e 10°C, o que favorece a proliferação de bactérias psicrótróficas, capazes de se multiplicarem em temperaturas abaixo de 7°C (BRASIL, 2018). Assim, para avaliar a qualidade do leite, parâmetros físico-químicos e microbiológicos são utilizados pelas indústrias, como a contagem de células somáticas e a contagem de micro-organismos psicrótróficos (GUERREIRO *et al*, 2005). Em contagens elevadas, as bactérias gram-negativas dos gêneros *Pseudomonas*, *Aeromonas* e *Alcaligenes* são exemplos que compõem a flora psicrótrófica do leite. Estes micro-organismos são produtores de enzimas com caráter proteolítico e lipolítico, que apresentam alta capacidade de termoresistência aos processos de pasteurização e de ultra-alta temperatura (UAT) (ARCURI *et al*, 2008; TRONCO, 2013; PINTO, MACHADO, MARTINS & VANETTI, 2015). Tais enzimas, proteases e lipases, causam alterações no leite devido ao potencial de desestabilização das micelas de caseína, resultando na redução do rendimento na fabricação de derivados lácteos; além de gerarem perdas econômicas, como a diminuição de tempo de vida de prateleira e a redução de qualidade, com perda de suas características sensoriais, como aroma e sabor (GUERREIRO *et al*, 2005; TRONCO, 2013; PINTO, MACHADO, MARTINS & VANETTI, 2015). Diante do exposto, o presente trabalho teve por objetivo descrever uma breve revisão bibliográfica sobre a ação das enzimas proteolíticas de bactérias psicrótróficas sobre o leite cru refrigerado.

¹ Graduandos do Curso de Medicina Veterinária – Faculdade Vértice - UNIVÉRTIX

² Graduada e Doutora em Medicina Veterinária – UFV. Professora do Curso de Medicina Veterinária – Faculdade Vértice - UNIVÉRTIX

METODOLOGIA

Este estudo trata-se de uma revisão bibliográfica, com busca de artigos nas plataformas Google acadêmico, Scielo e Mendeley, realizada no mês de agosto. Para a pesquisa foram utilizadas as palavras-chaves: lipases; proteases; refrigeração; termoresistência.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A capacidade proteolítica está principalmente associada a linhagens específicas de bactérias psicrotróficas que possuem elevada capacidade de proteólise (NÖRNBERG, TONDO & BRANDELLI, 2009). Além disto, Nicodème *et al*, (2005) destacaram que a temperatura do tanque de refrigeração ao mesmo tempo que pode favorecer a produção de proteases para uma espécie, pode ser um fator limitante para outra. Pinto, Martins e Vanetti, (2006), por sua vez, verificaram que entre os psicrotróficos proteolíticos presentes no leite, destacaram-se as bactérias gram-negativas, predominando aquelas pertencentes ao gênero *Pseudomonas*, que também demonstraram maior capacidade de deterioração do leite devido a sua capacidade de produzir enzimas termoresistentes. Dentre os componentes do leite, a κ -caseína é uma proteína de extrema importância para a estabilidade da micela de caseína, tornando-a o principal alvo de degradação das proteases, o que pode resultar na coagulação do leite, no aparecimento de sabores amargos, no aumento de viscosidade, na geleificação do leite UAT durante o armazenamento e na redução do rendimento de derivados (SILVA, 2005; NÖRNBERG, TONDO & BRANDELLI, 2009). De acordo com Nero, Viçosa e Pereira (2009) e Machado, Bazzolli e Vanetti (2011), a produção de proteases e a deterioração do leite devido a hidrólise da κ -caseína foi observada após o tempo de armazenamento de 48 horas, confirmando que o aumento no tempo de refrigeração na fonte de produção ou na indústria contribui para proliferação de bactérias psicrotróficas e, conseqüente, para o aumento de enzimas proteolíticas (PINTO, MARTINS & VANETTI, 2006). Ao comparar resultados de atividade proteolítica com atividade lipolítica, Silva (2005) observou que a segunda é mais pronunciada pois parece não ser influenciada pela temperatura. As lipases secretadas pelas bactérias psicrotróficas gram-negativas são hidrolases que atuam preferencialmente na posição α dos triglicerídeos (GUERREIRO *et al*, 2005). Já com relação ao local de armazenamento em refrigeração do leite e a contagem de micro-organismos psicrotróficos, Pinto, Martins e Vanetti (2006) demonstraram em seu estudo que o leite cru mantido no silo industrial pode não atender ao padrão microbiológico legal e apresentar contagem microbiana superior a do leite mantido em tanques individuais ou coletivos. Já Silva (2005), observou maior diversidade de bactérias psicrotróficas em tanques comunitários quando comparados aos tanques individuais. Assim, a alta contagem de micro-organismos psicrotróficos produtores de enzimas proteolíticas e lipolíticas no leite coloca em foco a presença de falhas durante procedimentos de manejo com o rebanho, podendo comprometer a qualidade do produto que chega ao consumidor, reforçando a necessidade de investimentos contínuos de boas medidas de manejo, de forma a visar a prevenção e a redução de contaminações dos equipamentos utilizados nos animais (PINTO, MARTINS & VANETTI, 2006; NÖRNBERG, TONDO & BRANDELLI, 2009).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Concluiu-se que as enzimas proteolíticas e lipolíticas produzidas pelas bactérias psicrotróficas são de extrema importância na determinação da qualidade do produto final que chegará ao consumidor. Ainda, o tempo de conservação do leite cru no

tanque de refrigeração deve seguir conforme estabelecido em legislação do Mapa, de forma a minimizar a proliferação destas bactérias e a consequente ação deterioradora de suas enzimas.

REFERÊNCIAS

ARCURI, E. F. et al. Contagem, isolamento e caracterização de bactérias psicotróficas contaminantes de leite cru refrigerado. **Ciência Rural**, v. 38, n. 8, p. 2250-2255, 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 76, de 26 de Novembro de 2018. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 26 Nov. 2018. Seção 1, p. 9. Disponível em: http://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/52750137/do1-2018-11-30-instrucao-normativa-n-76-de-26-de-novembro-de-2018-52749894IN%2076. Acesso em: 21 ago. 2019.

GUERREIRO, P. K. et al. Qualidade microbiológica de leite em função de técnicas profiláticas no manejo de produção. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 1, p. 216-222, 2005.

MACHADO, S. G.; BAZZOLLI, D. M. S.; VANETTI, M. C. D. Development of a PCR method for detecting proteolytic psychrotrophic bacteria in raw milk. **International Dairy Journal**, v. 29, n. 1, p. 8-14, 2013.

NERO, L. A.; VIÇOSA, G. N.; PEREIRA, F. E. V. Qualidade Microbiológica do leite determinada por características de produção. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 2, p. 386390, 2009.

NICODÈME, M. et al. Extracellular protease activity of different Pseudomonas strains: dependence of proteolytic activity on culture conditions. **Journal of Applied Microbiology**, v. 99, p. 641-648, 2005.

NÖRNBERG, M. F. B. L.; TONDO, E. C.; BRANDELLI, A. Bactérias psicotróficas e atividade proteolítica no leite cru refrigerado. **Acta scientiae veterinariae**, v. 37, n. 2, p. 157-163, 2009.

PINTO, C. L. O.; MACHADO, S. G., MARTINS, M. L.; Vanetti, M. C. D. Identificação de bactérias psicotróficas proteolíticas isoladas de leite cru refrigerado e caracterização do seu potencial deteriorador. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 70, n. 2, p. 105-116, 2015.

PINTO, C. L. O.; MARTINS, M. L.; VANETTI, M. C. D. Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e isolamento de bactérias psicotróficas proteolíticas. **Ciênc. Technol. Aliment**, v. 26, n. 3, p. 645-651, 2006.

SILVA, P. D. L. **Avaliação, identificação e atividade enzimática de bactérias psicotróficas presentes no leite cru refrigerado**. Orientador: Margarida Maria dos Anjos Magalhães. 89 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, 2005.

ISSN -21787301



TRONCO, V.M. **Manual para Inspeção da Qualidade do Leite.** 5ª ed. Santa Maria: UFSM, 2013.