



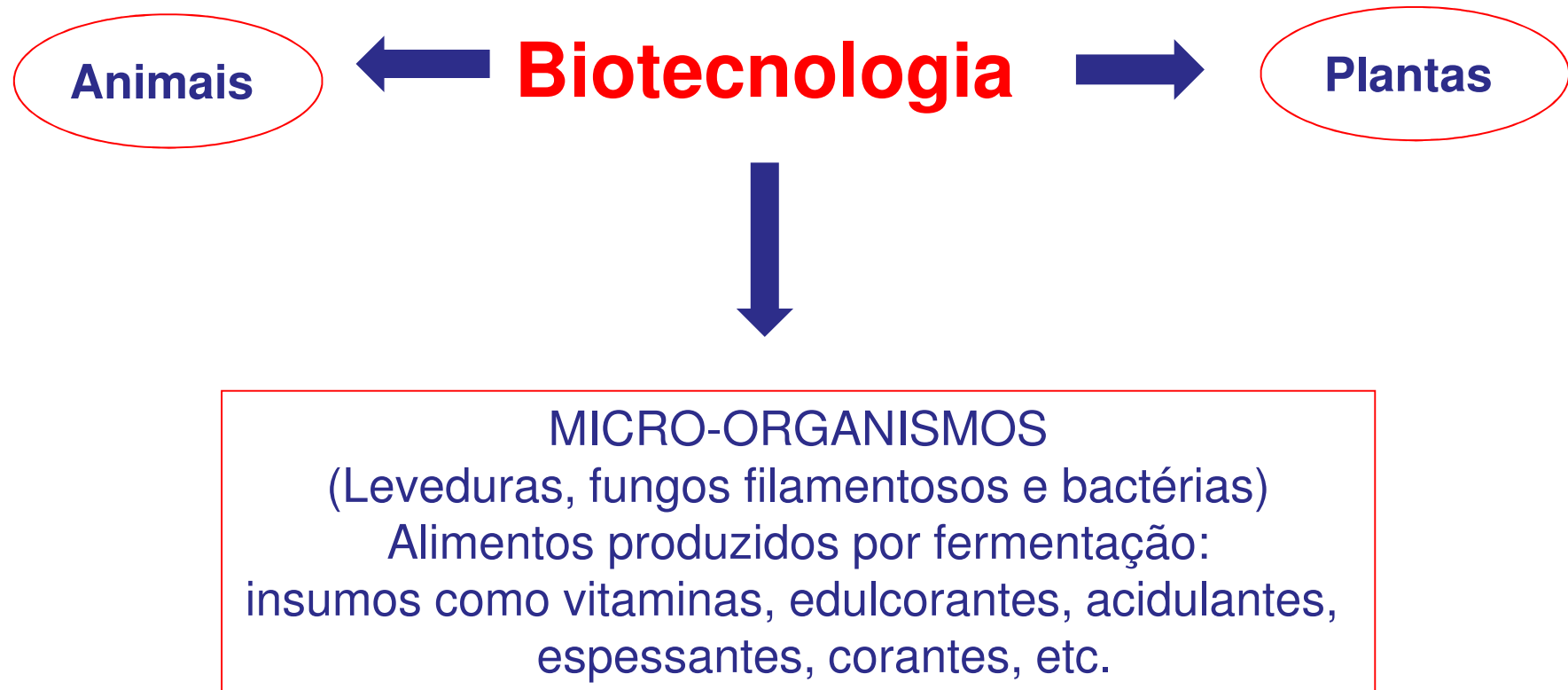
BIOTECNOLOGIA EM ALIMENTOS E BEBIDAS

Dra. Ligianne Din Shirahigue
PNPD – UFSCar - *Campus de Araras*
ligianneds@yahoo.com.br

Histórico: Biotecnologia na produção de alimentos e bebidas

- ✓ Mesopotâmia, Egito e Índia desenvolveram o processo de fabricação de cerveja.
- ✓ A fermentação também foi utilizada nesta época para produzir pão levedado.
- ✓ Por décadas, os seres humanos têm utilizado cruzamentos seletivos para melhorar a produção de colheitas e do gado para usá-los como alimento.
- ✓ Na criação seletiva, os organismos com características desejáveis são cruzados para que produzam descendentes com as mesmas características.
- ✓ Por exemplo, esta técnica foi usada com o milho para produzir colheitas maiores e mais doces (EUA).
- ✓ O setor de biotecnologia permitiu que o setor agrícola dos EUA aumentasse rapidamente o fornecimento de milho e soja - os principais insumos dos biocombustíveis - através do desenvolvimento de sementes geneticamente modificadas que são resistentes às secas e pragas.

Indústria de alimentos



Por que utilizar micro-organismos?

✓ Vantagens:

- Facilidade de cultivo em massa
- Velocidade alta de crescimento
- Baixo custo do meio de crescimento (resíduos agrícolas)
- Diversidade de rotas metabólicas (diversidade de produtos finais)
- Facilidade de manipulação genética

BIOTECNOLOGIA



Alimentos tradicionais elaborados com o emprego da biotecnologia



Fermentação alcoólica

- ✓ Cerca de 96% da fermentação etanólica se realiza com linhagens de :
 - *Saccharomyces cerevisiae*
 - *Saccharomyces uvarum*



Vinificação



- ✓ Vinho: bebida proveniente exclusivamente da fermentação alcoólica de uva madura e fresca.
- ✓ Vinhos de outras frutas, pela legislação brasileira, devem ser rotulados com a denominação vinho + fruta que deu origem. Ex. Vinho de laranja.
- ✓ Microbiologia do vinho: Leveduras (agentes da fermentação alcoólica) – *S. ellipsoideus*
- ✓ Vinificação: conjunto de operações realizadas para transformar a uva (mosto) em vinho. O processo é específico para cada tipo de vinho.



Vinificação

Etapas do processo:



- a) Prensagem/Esmagamento – suco com 15 a 30% de açúcar (d-glicose e d-frutose).
- b) Sulfitagem – SO_2 (anidro sulfuroso) – 100 ppm
- c) Correções do mosto – adição de açúcar (sacarose) ou com mosto concentrado.
- d) Inoculação de leveduras (*S. ellipsoideus*)
- e) Remontagem/Refrigeração
- f) Acompanhamento da fermentação – teores de açúcares e temperatura processo (10 -15 dias vinhos brancos e 3 semanas para vinhos tintos)
- g) Prensagem do bagaço
- h) Envelhecimento – 5 meses brancos e 2 anos tintos).



Vinificação

- ✓ Leveduras transgênicas:
 - ✓ Produção toxina *killer**
 - ✓ Melhora na filtração
 - ✓ Inibição de bactérias contaminantes
 - ✓ Aumento ou diminuição da acidez do vinho
 - ✓ Incremento do aroma, glicerol e resveratrol

*** A atividade *killer*, de acordo com Somers e Bevan (1969), corresponde a produção de proteínas de baixo peso molecular que são letais às leveduras sensíveis. Suas toxinas *killer* caracteriza-se por produzir exotoxinas com atividade antimicrobiana.**

Cervejas

- ✓ Legislação brasileira: bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto de malte, por ação de leveduras cervejeiras.
- ✓ Matéria-prima: malte, água e lúpulo, sendo que parte do malte pode ser substituída por cereais maltados ou não, ou por carboidratos de origem vegetal.



Cervejas – etapas do processo

a) Produção de mosto – envolve a moagem do malte, mosturação, filtração e fervura (adição do lúpulo – amargor e aroma).

b) Fermentação – Inoculação $\left\{ \begin{array}{l} 20^{\circ}\text{C} \text{ com } S. cerevisiae - \text{“ales”} \\ 12-15^{\circ}\text{C} \text{ com } S. carlsbergensis - \text{“lagers”} \end{array} \right.$

c) Maturação

d) Clarificação

e) Carbonatação

f) Engarrafamento

g) Pasteurização



Bebidas destiladas

- ✓ Aguardente são bebidas alcoólicas destiladas.
- ✓ Contém 0,5 a 75% de etanol em volume devido fermentação, destilação ou adição.
- ✓ Teor de álcool varia, sendo separado pela destilação.
- ✓ Fontes: frutas, amiláceos, agave, melação de cana e da própria cana.
- ✓ Destilação retiradas impurezas voláteis e conferem características como sabor e aroma que serão intensificadas com a maturação.

É a segunda bebida alcoólica mais consumida no Brasil, e o terceiro destilado preferido do mundo.

Bebidas destiladas

Etapas do processo da aguardente de cana:

- a) Extração do caldo de cana – esmagamento em moendas.
- b) Preparo do mosto – caldo obtido nas moendas e coado.
- c) Correção do mosto – decantação, diluição, temperatura, acidez e adição de sais minerais, etc.
- d) Fermentação – inoculação das leveduras (*S. cerevisiae*).
- e) Destilação – em alambiques ou em colunas de destilação.
- f) Envelhecimento – qualidades organolépticas – tonéis de madeira.



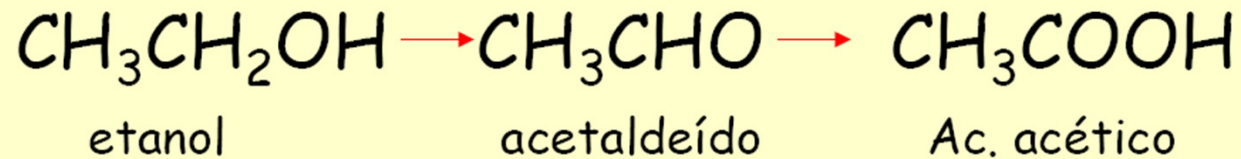
Vinagre

- ✓ Duas fermentações sucessivas, a alcoólica e a acética.
- ✓ Matéria-prima:
 - Vinagre de sucos de frutas
 - Vinagre de tubérculos amiláceos
 - Vinagre de cereais
 - Vinagre de matérias-açucaradas
 - Vinagre de álcool



Vinagre

- ✓ Fermentação alcoólica - **anaeróbio** – levedura (*S. cerevisiae*)
- ✓ Segunda fase – fermentação acética - **aeróbio** bactéria



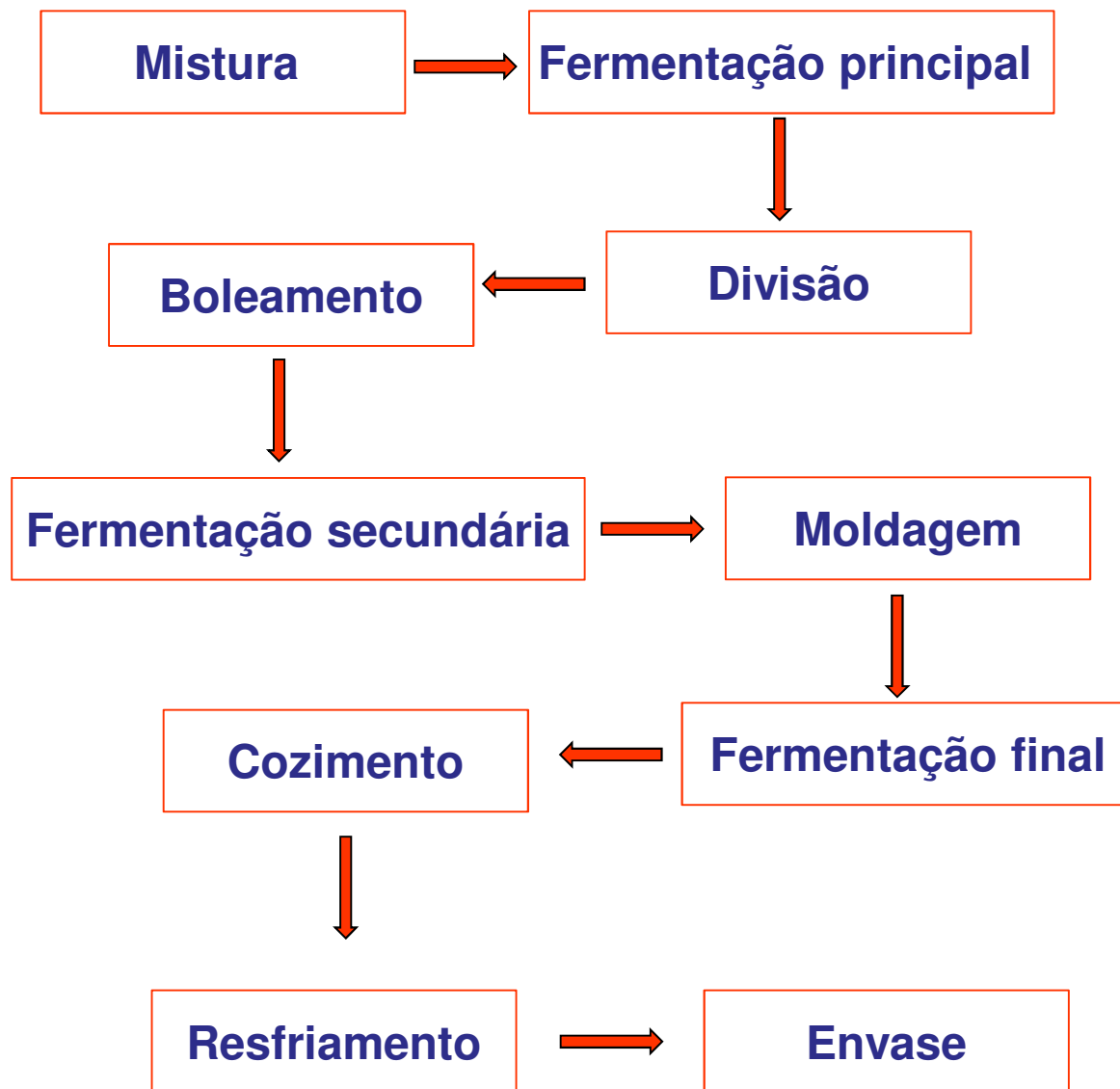
Agentes fermentadores **aeróbios**:

Acetobacter acetii; *Gluconobacter*

VINAGRE



- ✓ Interesse industrial que as cepas:
 - Conferem alto rendimento e produtividade
 - Tolerem altas concentrações de etanol e ácido acético
 - Não produzem material viscoso
 - Não consomem o produto
 - Crescem em meios pobres em nutrientes e a temperaturas próximas de 30 °C



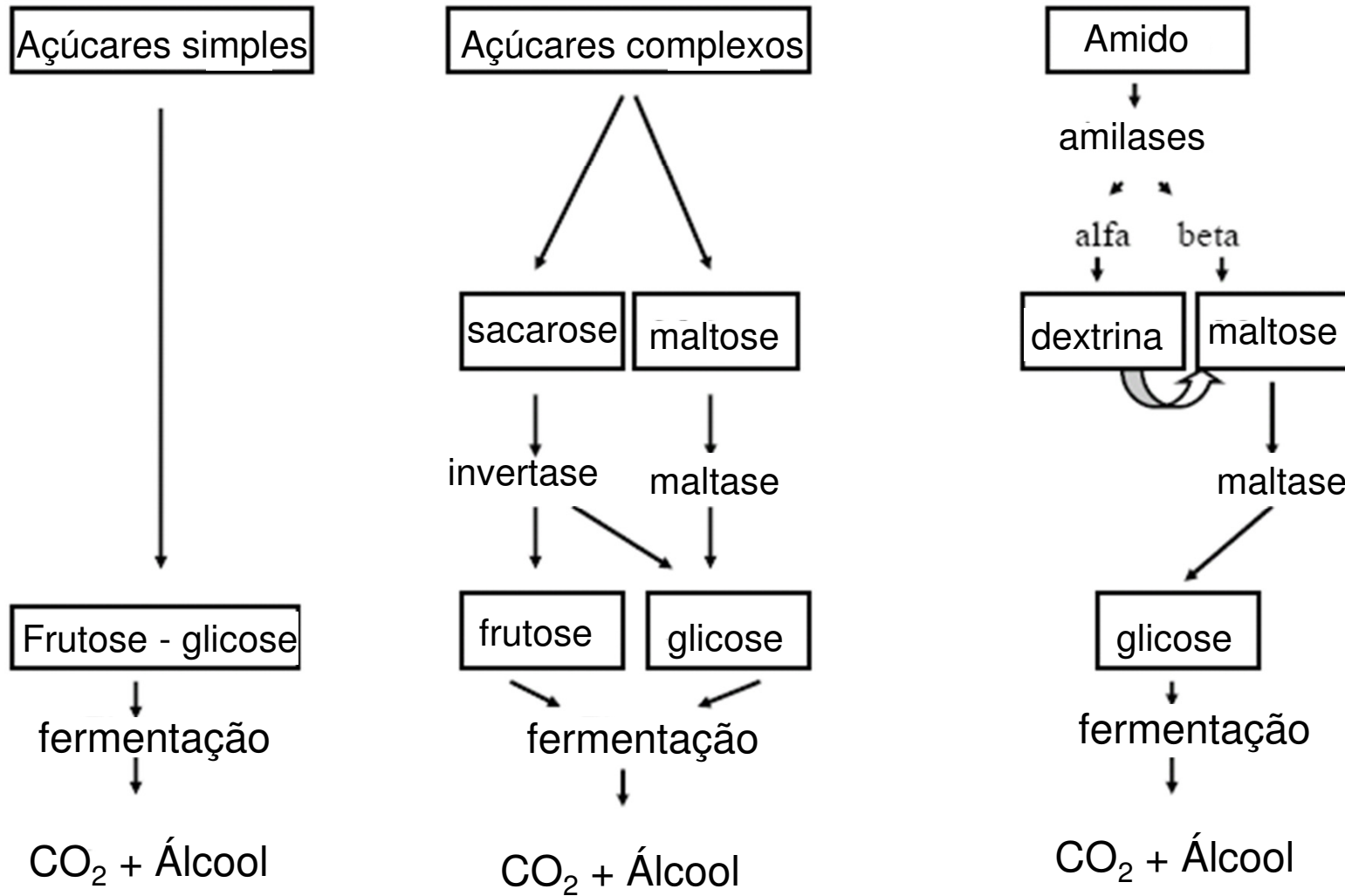
Panificação



PANIFICAÇÃO

- ✓ Fermentação principal:
fermentação alcoólica
(leveduras) sobre açúcares
presentes na massa.
- ✓ Produção gás carbônico e
modificações físico-químicas –
propriedade plásticas da
massa, formação sabor e
aroma do pão.
- ✓ Melhoramento genético
aplicado às leveduras da
panificação:
 - Produção de fator *killer*
 - Introdução de genes para
utilização de outros açúcares
como melibiose e rafinose

Principais fases da panificação



“Starter cultures” para fermentação láctica

- ✓ Os cultivos iniciadores compreendem os microrganismos que são empregados na produção de produtos lácteos fermentados, como queijo e iogurte.
- ✓ Funções:
 - produção de ácido láctico a partir de lactose
 - produção de sabor, aroma e etanol
 - atividade proteolítica e lipolítica
 - Inibição de microrganismos indesejáveis

Melhoramento genético aplicado às bactérias lácticas:

- ✓ Produção de proteases
- ✓ Capacidade de assimilar citrato para produzir diacetil
- ✓ Resistência a bacteriófagos
- ✓ Resistência à íons inorgânicos
- ✓ Capacidade de produção de bacteriocinas e de resistência a antagonistas
- ✓ Capacidade de produzir gomas extracelulares



QUEIJOS



- ✓ *Lactococcus, Leuconostoc, Lactobacillus e Streptococcus.*
- ✓ Funções:
 - Produção de ácido e coagulação do leite.
 - Ácido da firmeza ao coágulo, afeta rendimento final do queijo.
 - Maturação do queijo, massa mais ácida – propriedades reológicas do queijo.
 - Fatores antimicrobianos – controle crescimento de certas bactérias contaminantes e patogênicas.
 - Produção de compostos de aroma em alguns queijos.

QUEIJOS



LEITES FERMENTADOS

- ✓ Definição: produto resultante da fermentação do leite pasteurizado ou esterilizado, por fermentos lácticos próprios.
- ✓ Os fermentos lácticos devem ser viáveis, ativos e abundantes no produto final durante seu prazo de validade.





• **Iogurte:**

Streptococcus salivarius subsp. thermophil
Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus

• **Leite Fermentado ou Cultivado:**

Lactobacillus acidophilus
Lactobacillus casei.
Bifidobacterium sp.

Streptococcus salivarius subsp thermophil



• **Kefir:**

Grãos de Kefir
Lactobacillus kefir

Espécies dos gêneros *Leuconostoc*, *Lactococcus*
e *Acetobacter*

Os grãos de Kefir são constituídos por leveduras fermentadoras de lactose (*Kluyveromyces marxianus*) e leveduras não fermentadoras de lactose (*Saccharomyces omnisporus* e *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces exiguus*), *Lactobacillus casei*, *Bifidobaterium sp* e *Streptococcus salivarius subsp thermophilus*.



• **Leite acidófilo:**

Lactobacillus acidophilus.

• **Coalhada:**

Produto resultante da ação de fermentos lácticos mesofílicos individuais ou mistos produtores de ácido láctico.



FOTO: REPRODUÇÃO





Sabores e aromas

- ✓ *Quase todas as macromoléculas presentes nos alimentos têm impacto no *flavour* quando hidrolisam: gorduras, proteínas e ácidos nucleicos.
- ✓ Setores da indústrias que utilizam:



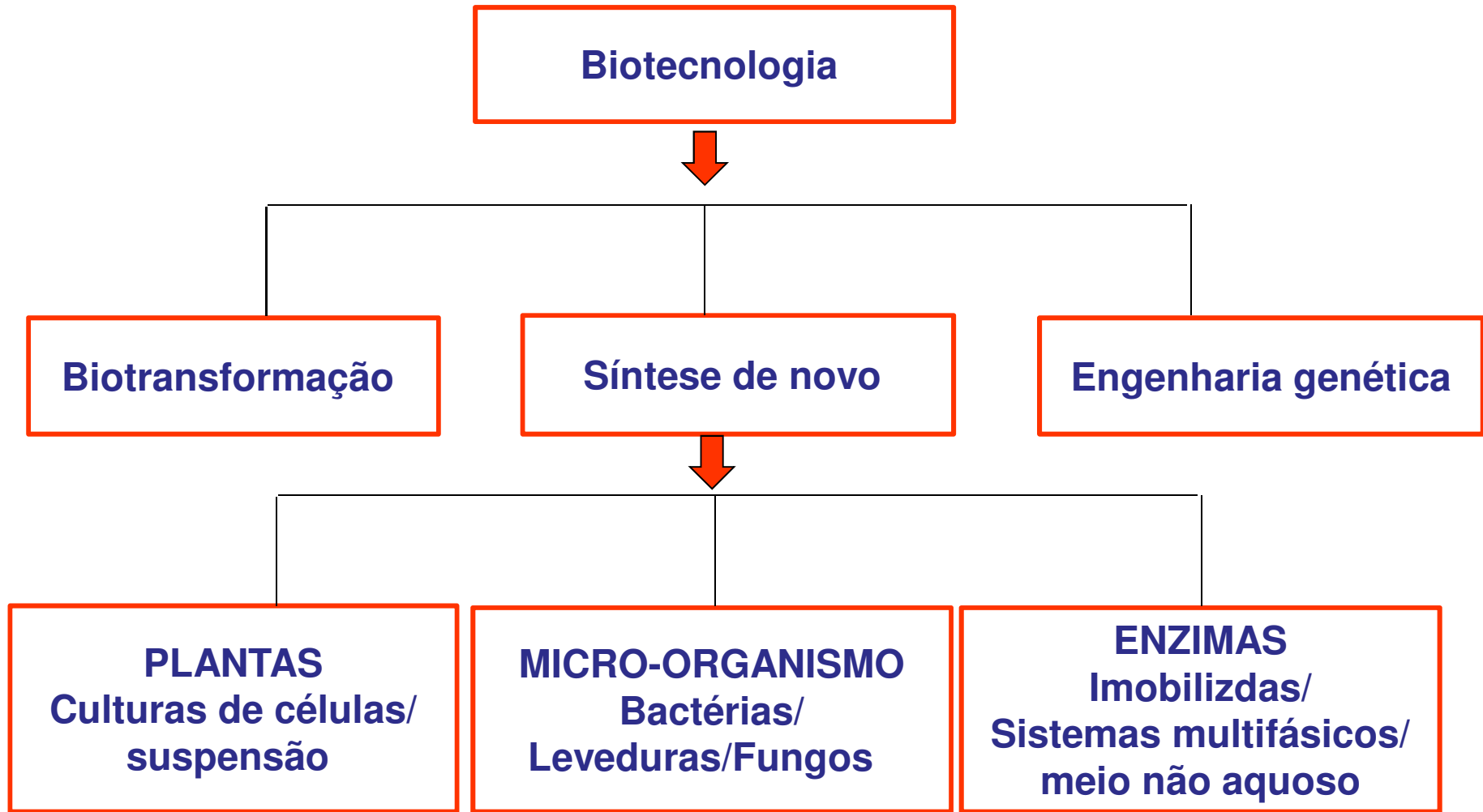
- ✓ Mais consumidos no mercado brasileiro: glutamato monossódico, proteína vegetal hidrolisada e extrato de levedura.

Sabores e aromas



Realçadores de sabor melhoram a qualidade do aroma e maximizam esta sensação a baixo custo.

- ✓ **Busca de novos produtos e bioprocessos nessa área é incrementada por:**
 - **Mercado crescente**
 - **Conscientização do consumidor quanto a salubridade e segurança química dos ingredientes para alimentos.**



Biotechnologia e produção de aromas

Metodologias para produção de aromas

Métodos	Descrição
Tradicionais	Síntese química Extração de fontes botânicas entre outros Reações de aromas Fermentações tradicionais
Atual	Fermentações Bioconversão microbiana e enzimática
Emergentes	Engenharia genética de micro-organismos Engenharia genética de plantas
Futuro	Cultura de células e de tecidos de plantas

Produção de Vitaminas

1) Cianocobalamina

- Linhagens produtoras: *Propionibacterium shermanii* e *Pseudomonas denitrificans*
- Produção: 150 mg/l

2) Riboflavina (B₂)

- Linhagens produtoras: *Eremothecium ashbyii* e *Ashbya gossypii*
- Produção: > 20 g/l
- Linhagens produtoras: *Candida sp.* e *B. subtilis*
- Produção: 30 g/l

3) Ácido ascórbico (C)

- Linhagens produtoras: *Acetobacter suboxidans* e *Gluconobacter oxidans*

Enzimas industriais de origem animal

- ✓ Pancreatina
- ✓ Tripsina
- ✓ Pepsina
- ✓ Renina
- ✓ Quimotripsina
- ✓ Catalase

Enzimas industriais de origem vegetal

- ✓ Papaína
- ✓ Bromelina
- ✓ Ficina
- ✓ Malte

Produção de enzimas microbianas

- ✓ Vantagens:
 - Econômicas (produção em grande escala)
 - Técnicas (grande variedades de vias metabólicas, crescem grande intervalo de condições ambientais, flexibilidade genética e manipulação, curto tempo de geração).

Vantagens das enzimas produzidas por OGM

- ✓ Maior disponibilidade – permite novas aplicações.
- ✓ Maior eficiência – melhora taxa metabólica e de conversão - produção mais econômica.
- ✓ Menor uso de energia e matéria-prima – menos resíduo.
- ✓ Maior pureza.
- ✓ Maior segurança.
- ✓ Redução do potencial alergênico e reações tóxicas – obtidas com a modificação.

Biotecnologia - permite modificar processos e explorar novas oportunidades, algumas das quais imprevisíveis, como é o caso dos organismos geneticamente modificados

- **O que é um Organismo Genéticamente Modificado ?**
- Entende-se por organismo geneticamente modificado (OGM) todo o organismo cujo seu material genético foi manipulado de modo a favorecer alguma característica desejada.

Um transgênico é um organismo que possui uma sequência de DNA (ou parte do DNA) de outro organismo, que pode até ser de uma espécie diferente.

Produção de enzimas por OGM para a indústria de alimentos

Enzimas	Aplicações
α – Acetolactato decarboxilase	Bebidas
α – Amilase	Cereais, amido, bebidas, alimentação animal, frutas, açúcares e mel, entre outros
Catalase	Leite e maionese
Quimosina	Queijos
Glucose oxidase	Ovos, bebidas, confeitos e saladas
Lipase	Óleos gorduras, confeitos e alimentação animal
Pectinase	Bebidas (sucos de frutas)

Transgênicos



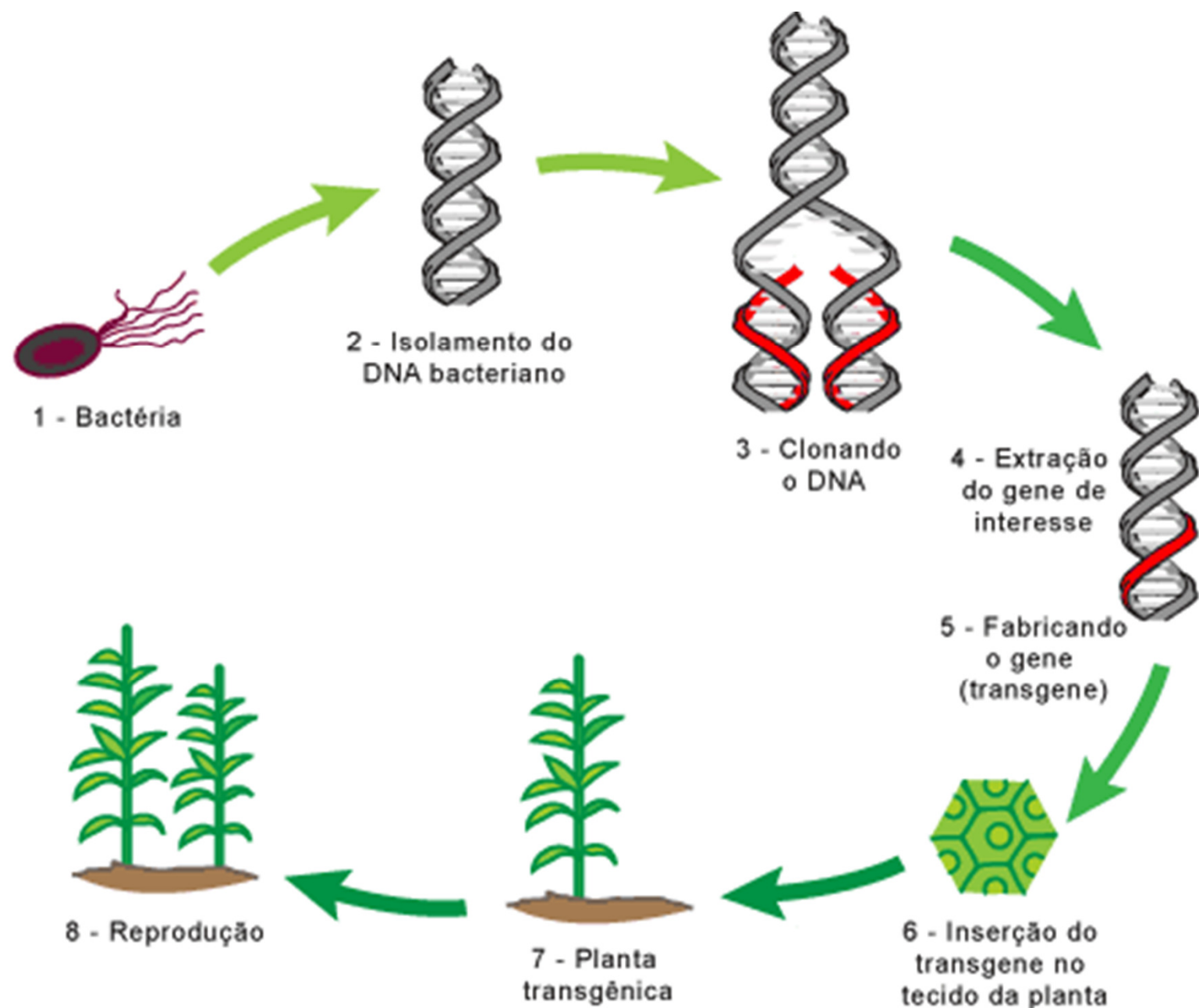
Soja resistente ao herbicida GLIFOSATO, contendo um gene bacteriano que codifica a enzima 5-enolpiruvil-shikimato-3-fosfato sintetase. A enzima participa da síntese de aminoácidos aromáticos, e assim as plantas daninhas são inibidas pelo glifosato.

Soja “Roundup ready”



Milho “Bt”

Milho resistente ao ataque de insetos. Contém um gene que codifica uma proteína de *Bacillus thuringiensis* com ação inseticida que é capaz de unir-se à receptores específicos do tubo digestivo de determinados insetos interferindo no processo de alimentação e causando a morte. A toxina não tem efeito sobre os humanos.



| **Biotecnologia**

Ferramenta importante para o desenvolvimento e aprimoramento dos alimentos funcionais:



contribui tanto para o estado nutricional quanto para a saúde da população em geral.

| **Alimento Funcional (ANVISA):**

“aquele alimento ou ingrediente que, além das funções nutritivas básicas, quando consumido como parte da dieta usual produza efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica.”

1 Biotecnologia

1. Controle dos alimentos e aumento da resistência a agrotóxicos e pragas;
2. Modificação da composição dos alimentos (mais em nível nutricional);
3. Estudos nutrigenômicos, que objetivam obter alimentos mais ricos em proteínas ou micronutrientes com atividades nutrifuncionais de importância médica, integrando tecnologias genômicas e ciências nutricionais.

ANIMAIS TRANSGÊNICOS

- ✓ Animais com cópias múltiplas de hormônio de crescimento (salmão, carpas)
- ✓ Aves resistentes a diferentes bactérias e vírus
- ✓ Ruminantes com composição do leite alterada



REFERENCIAS

- ✓ www.cib.org.br
- ✓ Biotecnologia Industrial: Processos Fermentativos e Enzimáticos – Volume 3 / Editora Edgard Blücher Ltda
- ✓ Biotecnologia Industrial: Biotecnologia na Produção de Alimentos – Volume 4 / Editora Edgard Blücher Ltda
- ✓ Aroma e sabor de alimentos: temas atuais – Livraria Varela/2003.