

Área: Ciência de Alimentos

POTENCIAL PROBIÓTICO DE LEITE COLOSTRAL BOVINO DESTINADO À ALIMENTAÇÃO HUMANA

Lidia Betina Hendges Pletsch*, **Mariele Lenize Brasil**, **Leidi Daiana Preichardt**,
Gislaine Hermanns

*Laboratórios de Microbiologia e Bromatologia de Alimentos, Curso de Tecnologia em Alimentos,
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Farroupilha – Campus Santo Augusto, RS*

**E-mail: lidiabetina02@outlook.com*

RESUMO – O leite colostro é o primeiro produto produzido pela glândula mamária após o parto. É uma rica fonte de nutrientes, cujo destino principal é a alimentação de bezerros. O excedente é descartado nas propriedades rurais. A utilização desse colostro pode ser uma alternativa viável para alimentação humana, já que o mesmo apresenta mais proteínas, gorduras, minerais e vitaminas que o leite normal. Além disso, apresenta um diversificado número de bactérias ácido lácticas (BALs). Essas têm relevância na indústria de alimentos, por apresentarem características transformadoras, bioconservadoras e probióticas. Para que este possa ser utilizado na elaboração de derivados lácteos, o colostro deve ser fermentado, a fim de eliminar possíveis patógenos presentes, decorrentes de ordenha não higiênica. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar o potencial probiótico do leite colostrado bovino, após 21 dias de fermentação, no que diz respeito à resistência de BALs presentes, a condições ácidas e biliares, bem como à capacidade antagonista destas frente a bactérias patogênicas. Os resultados se mostraram promissores, já que foram detectadas BALs com características potencialmente probióticas.

Palavras-chave: Bactérias ácido lácticas, silagem de colostro, leite colostro.

1 INTRODUÇÃO

O leite é de grande importância na alimentação humana, sendo seu consumo recomendado para todas as faixas etárias. Segundo a FAO (2011) em 2014 com novos consumidores oriundos dos países emergentes, houve um déficit de 34 bilhões de litros de leite. Contraditoriamente, uma grande quantidade de leite é descartada pelos produtores, no início da fase de lactação do animal. Esse primeiro leite, denominado de colostro, é secretado pela glândula mamária da vaca após o parto. O destino principal deste leite colostrado é a alimentação de bezerros. No entanto, o excedente deste leite, cerca de 25 a 50L é descartado nas propriedades rurais (SAALFELD et al., 2012).

A utilização deste colostro excedente na alimentação humana pode ser uma alternativa viável, já que este apresenta mais proteínas, gorduras, minerais e vitaminas que o leite normal. Segundo Signoretto (2013), o colostro do dia do parto pode ter mais de 14% de proteína, ou seja, cinco vezes mais que o leite

normal. No segundo dia após o parto, o teor de proteína cai para aproximadamente 8% e no terceiro dia fica ao redor de 5%, valores ainda superiores se comparados com o leite normal.

Vários estudos têm sido realizados para garantir a conservação e aproveitamento do colostro para uso na alimentação humana, dentre eles o congelamento e acidificação natural (RAMÍREZ-SANTANA, 2012; CASTRO et al., 2004). Segundo Saalfeld (2008), outra alternativa de conservação é a silagem de colostro, em que o mesmo é fermentado anaerobicamente, podendo ser conservado por um período em torno de 24 meses. Uma grande vantagem desta técnica é que a silagem de colostro não necessita de refrigeração, congelamento ou aditivos, o que contribui para o seu baixo custo de elaboração.

Além disso, estudos demonstraram que embora o colostro na forma *in natura* apresente contaminação microbiana ambiental (GILLES et al., 2002; GODDEN, et al., 2009), após 21 dias de fermentação anaeróbica apenas bactérias ácido lácticas (BAL), continuam viáveis (SAALFELD, 2013). Essas bactérias têm relevância na indústria de alimentos, por apresentarem características transformadoras, bioconservadoras e probióticas (LEROY; DE VUYST, 2004). De acordo com a FAO/WHO (2001), probiótico é definido como microrganismos vivos que quando administrado em quantidades adequadas conferem benefícios à saúde do indivíduo. As linhagens mais importantes são as de bactérias ácido lácticas (VASILJEVIC; SHAH, 2008), já que muitas delas são geralmente reconhecidas como seguras (GRAS), de acordo com o FDA (PARVEZ et al., 2006).

No Brasil, algumas pesquisas visando a utilização do colostro na elaboração de produtos alimentícios, destinados à alimentação humana têm sido realizadas. Saalfeld (2013) pesquisou o desenvolvimento de manteiga e bebida láctea, utilizando como matéria-prima principal o colostro bovino. Igansi et al. (2011), desenvolveram uma formulação de biscoito salgado a base de silagem de colostro bovino.

Diante dos aspectos mencionados, o objetivo do presente estudo foi avaliar o potencial probiótico do leite colostrado bovino, no que diz respeito à resistência de BALs presentes, a condições ácidas e biliares, bem como à capacidade antagonista destas frente a bactérias patogênicas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para realização do presente estudo foi utilizado colostro do primeiro dia após o parto. Este foi obtido junto a produtores de leite da região Ceilero do RS. O colostro foi coletado em garrafa plástica de 2L, do tipo PET e encaminhado sob refrigeração, ao Laboratório de Leites do Instituto Federal Farroupilha, campus Santo Augusto. Na sequência o colostro foi dividido em garrafas PET de 500L, tomando-se o cuidado para preenchê-las na sua totalidade e fechando-as hermeticamente. Uma das garrafas com a amostra do colostro foi encaminhada para realização imediata de análises microbiológicas e determinação de acidez, enquanto as outras foram mantidas à temperatura ambiente e ao abrigo da luz por 21 dias para que ocorresse a fermentação e se produzisse a silagem de colostro.

A amostra de colostro não fermentado (T0) e a amostra fermentada de colostro após vinte e um dias (T21) foram analisadas quanto à presença de coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Salmonella* spp e *Staphylococcus* coagulase positiva, seguindo metodologia do MAPA (2003). A análise

de contagem de bactérias ácido lácticas (BALs) foi realizada através de plaqueamento em superfície, em Ágar MRS, sob anaerobiose a 35^oC/24-48h. Destas, foram selecionados e isolados, aleatoriamente, dez isolados com características de serem BALs para posterior verificação de características probióticas.

Após realização das análises microbiológicas, as amostras de colostro e silagem de colostro foram analisadas em relação à acidez Dornic, de acordo com as Normas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2004).

Para verificação da potencialidade probiótica dos isolados, inicialmente foi realizado o teste de antagonismo e medição dos halos de inibição frente *Staphylococcus aureus* ATCC 1901 e *Salmonella Typhimurium* ATCC 13076 de acordo com o teste da gota (*spot-on-the-lawn*) proposto por Jacobsen et al. (1999). Os cinco isolados com maiores halos de inibição foram testados quanto a resistência a condições ácidas e biliares.

A resistência dos isolados às condições ácidas foi avaliada em caldo MRS (pH 6,5) ajustado a pH 2,5 com HCl concentrado e ainda a pH 2,5 + pepsina (3mg/mL). A avaliação da tolerância a sais biliares foi realizada em caldo MRS suplementado com bile bovina a 0,3% (m/v). Ambas as avaliações seguiram o protocolo de Perelmutter et al. (2008). O percentual de sobrevivência dos isolados frente às diferentes condições ácidas e aos sais biliares foi calculado com base nas contagens de células viáveis iniciais, anterior ao período de incubação.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo, as análises microbiológicas demonstraram que o colostro utilizado estava isento dos microrganismos patogênicos analisados: coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Salmonella* spp e *Staphylococcus* coagulase positiva, o que demonstra ter sido esse, obtido sob adequadas condições higiênico-sanitárias. Em relação às contagens de BALs, os resultados demonstraram um aumento expressivo de 4,77log para 6,96 log de células viáveis (log₁₀UFC.mL⁻¹), no tempo zero e vinte e um dias, respectivamente.

Em relação à acidez, de acordo com Venturini (2007), o valor considerado normal para o leite, imediatamente após a ordenha, fica entre 14 e 16^oD, enquanto o colostro apresenta uma acidez em torno de 30^oD (SAALFELD et al., 2013). Neste estudo, o colostro analisado apresentou um teor de acidez de 41,6 ^oD, no tempo zero. Ao longo do processo fermentativo, em decorrência do aumento no desenvolvimento das BALs, a acidez da silagem de colostro atingiu o valor de 147,6 ^oD, após 21 dias de fermentação.

Tendo em vista que bactérias probióticas fornecidas por meio de sistemas alimentares devem primeiramente sobreviver durante a passagem pelo trato gastrointestinal e ainda exercer atividade antagonista frente a patógenos, para então, persistirem no intestino e prover efeitos benéficos ao hospedeiro (HUANG; ADAMS, 2004), as BALs isoladas do colostro foram testadas em relação a estes parâmetros. Na Tabela 01 observa-se o efeito antagônico dos isolados frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 1901 e *Salmonella Typhimurium* ATCC 13076 e na Figura 01 observa-se o percentual de sobrevivência das BALs isoladas, frente a condições ácidas.

Tabela 01. Atividade antagônica de BALs isoladas de silagem de colostro bovino, frente a patógenos de referência, com base na medida dos halos de inibição.

Isolado	Atividade Antagônica com base na medida dos halos de inibição (mm)	
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 1901	<i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 13076
A	18,57	23,33
B	18,27	20,91
C	10,36	14,44
D	13,03	10,72
E	15,18	21,96

Embora as bactérias lácticas sejam capazes de produzir diferentes metabólitos, caracterizados como substâncias antagônicas frente a BALs, dentre eles: os ácidos orgânicos, peróxido de hidrogênio, radicais livres, diacetileno, acetaldeído, isômeros D de aminoácidos e as bacteriocinas (PIARD; DESMAZEUD, 1992), neste estudo, pela metodologia utilizada não se pode concluir os compostos responsáveis por tal efeito.

De acordo com Charteris et al. (1997), foram considerados microrganismos tolerantes para o teste de sobrevivência à simulação gástrica (resistência às condições ácidas), aqueles que diminuíram, no máximo, em 30% a sua concentração celular. Assim, dos isolados testados, os mais resistentes a tais condições foram os isolados A, C e D. Já para verificação da resistência ao trânsito intestinal (resistência aos sais biliares), foram considerados tolerantes aqueles que apresentaram uma redução de até 1,5 log da sua contagem inicial, após quatro horas de incubação. Na Figura 03 é possível observar essa capacidade nos isolados A e D.

Figura 01. Sobrevivência (%) das BAL, isoladas de silagem de colostro, a condições ácidas, após quatro horas de incubação.

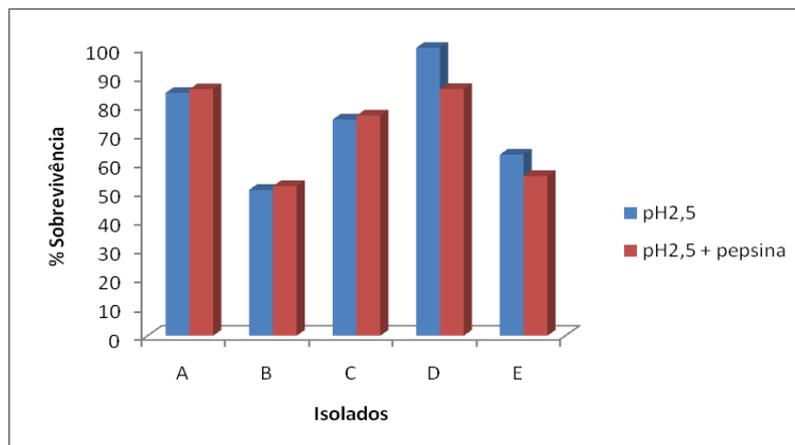


Tabela 02 - Redução logarítmica no número de células viáveis de BAL após exposição à bile 0,3%.

Isolado	Contagem de células viáveis		Redução Logarítmica
	$\log_{10}\text{UFC.mL}^{-1}$		
	T0	T4	
A	8,20	6,85	1,35
B	8,23	4,30	3,93
C	8,08	6,46	1,62
D	8,18	6,95	1,23
E	8,00	4,48	3,52

4 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos são promissores no sentido que demonstram a potencialidade da silagem de colostro em relação a propriedades probióticas, como alta contagem de BALs e resistência destas frente a condições ácidas e sais biliares. A partir disso, pretende-se elaborar uma bebida láctea com características probióticas, utilizando a silagem de colostro bovino.

5 AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia e ao CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pela bolsa de iniciação científica concedida.

6 REFERÊNCIAS

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº62 de 26 de agosto de 2003. Métodos de Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para controle de Produtos de Origem Animal e Água.
- CHARTERIS, W.P.; KELLY, P.M.; MORELLI, L.; COLLINS, J.K. Selective detection, enumeration and identification of potentially probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species in mixed bacterial populations. **International Journal of Food Microbiology**, 35: 1-27, 1997.
- FAO, 2011. The State of food and agriculture (FAO) 2010-1011. Disponível em <<https://www.fao.org.br/download/i2050e.pdf>> .Acesso em 08 abr 2011.
- FAO/WHO, 2001. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Joint Food and Agricultural Organization of the United Nations and World Health Organization Expert Consultation Report, Córdoba, Argentina disponível em: <http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/probiotics/en/index.html>. Acesso em 10 de abril. 2010.
- GILLES, F.; BAILLARGEON, P.; HIGGINS, R.; PARÉ, J.; FORTIN, M. Bacterial contamination of colostrum fed to newborn calves in Québec dairy herds. *Canadian Veterinary Journal*, Volume 43, 2002.
- GODDEN, S. 2009. Microbial risks associated with feeding colostrum to calves. Annu. Mtg. Southwest Nutrition and Management Conference, Tempe, AZ. Feb. 26-27, 2009.

- GODWIN C. How to Make Beestings Pudding. Disponível em: <http://www.ehow.com/how_6167575_make-beestings-pudding.html> acesso em 05/08/2012.
- IGANSI, A. M. et al. Características nutricionais, microbiológicas e de aceitação de biscoito salgado à base de silagem de colostro. XXIII Congresso de Iniciação Científica da Universidade Federal de Pelotas, 2011.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos Químico e Físico para Análise de Alimentos. 3ª edição. v.1. São Paulo, 2004.
- JACOBSEN, C. N.; NIELSEN, V.A. R.; HAYFORD, E. ; MOLLER, P. L.; MICHAELSEN, K. F.; PARREGAARD, A. ; SANDSTRÖM, B.; TVEDE, M.; JAKOBSEN, M. Strains in humans the colonization ability of five selected by in vitro techniques and evaluation of forty-seven strains of *Lactobacillus* spp. screening of probiotic activities of the colonization ability of five selected strains in humans. **Applied Environmental Microbiology**, v. 65, n. 11, p. 4949-4956, 1999. Disponível em: <<http://aem.asm.org/> on January 15, 2012 by guest>. Acesso em: 15 jan. 2012.
- LEROY, F.; DEVUYST, L. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science & Technology*, v.15, p. 67-78, 2004.
- PARVEZ, S.; MALIK, K. A.; KANG, S.; KIM, H. Y. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *Journal of Applied Microbiology*.v.100, p. 1171–1185, 2006.
- PERELMUTER, K.; FRAGA, M.; ZUNINO, P. In vitro activity of potential probiotic *Lactobacillus murinus* isolated from the dog. *Journal of Applied Microbiology*, v. 104, p. 1718- 1725, 2008.
- PIARD, J.C.; DESMAZEUD, M. Inhibiting factors produced by lact acid bacteria 2. Bacteriocins and other antibacterial substances. **Lait**, v.72, p.113-142, 1992.
- RAMÍREZ-SANTANA C. et al. Effects of cooling and freezing storage on the stability of bioactive factors in human colostrum. *Journal Dairy Science*., v. 95, c.5, p. 2319-25, 2012.
- SAALFELD, M. H. Silagem de colostro bovino: propriedades e potencialidades de usos. Tese. Programa de Pós Graduação em Biotecnologia. UFPeL, 2013. 97p.
- SAALFELD, M. H. Uso da silagem de colostro como substituto do leite na alimentação de terneiras leiteiras. *A hora veterinária*, v.162, p59-62, 2008.
- SAALFELD, M. H.; PEREIRA D. I. B.; SILVEIRA K. R. K.; GRANDA, E.; GULARTE, M. A. E LEITE, F. P. L. Silagem de colostro: alternativa sustentável para minimizar a fome no mundo. 4º SIMPÓSIO DE SEGURANÇA ALIMENTAR- 4. 2012 Gramado Anais. Gramado: FAURGS RS, 2012.
- SIGNORETTI, R. D. Uso de silagem de colostro para bezerras: vantagem ou desvantagem? *Pesquisa & Tecnologia*, vol.10, n.2, Jul-Dez. 2013.
- VASILJEVIC, T.; SHAH, N. P. Probiotics from Metchnikoff to bioactives. *International Dairy Journal*, v. 18, p. 714– 728, 2008.
- VENTURINI, K. S.; SARCINELLI, M. F.; SILVA, L. C.; Características do Leite. 2007. Disponível em: http://www.agais.com/telomc/b01007_caracteristicas_leite.pdf.