

AVALIAÇÃO TECNOLÓGICA E PERFIL FERMENTATIVO DE BACTÉRIAS ÁCIDO-LÁTICAS ISOLADAS DE SILAGEM DE COLOSTRO

HELENA REISSIG SOARES VITOLA¹; CAMILA WASCHBURGER AMES²;
MARIANA ALMEIDA IGLESIAS³; VLADIMIR PADILHA DA SILVA²; ÂNGELA
MARIA FIORENTINI⁴

¹Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas –
helena_rsv@hotmail.com;

²Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas –
camilaames@hotmail.com; vladimir.padilha2011@gmail.com

³Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas -
mariyanaiglesias@hotmail.com;

⁴ Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial – *angefiore@gmail.com*

1. INTRODUÇÃO

Bactérias ácido-láticas (BAL) compreendem um grupo de micro-organismos caracterizados principalmente pela formação de ácido lático a partir de carboidratos, apresentando características metabólicas e fisiológicas semelhantes (FUGELSANG et al., 2007). Apresentam morfologia em forma de cocos ou bacilos gram-positivo, não esporulados, anaeróbios facultativos e catalase negativos (SILVA et al., 2007).

A classificação deste grupo de micro-organismos em diferentes gêneros varia de acordo com a morfologia, tipo de fermentação, configuração do ácido lático sintetizado e tolerância a diferentes concentrações de sal, pH e temperatura em que as cepas são submetidas (AXELSSON, 2004). Com base no perfil fermentativo, as bactérias ácido-láticas podem ser classificadas em homofermentativas ou heterofermentativas. O primeiro grupo sintetiza ácido lático como o principal produto da fermentação, enquanto o segundo produz metabólitos como ácido acético, dióxido de carbono e etanol, além do ácido lático (PARADA et al., 2007). Estas características se tornam importantes uma vez que para a aplicação destes micro-organismos na indústria de alimentos o conhecimento das mesmas é primordial (GUCHTE et al., 2002).

Há muito tempo se reconhece a importância das BAL nos alimentos, como micro-organismos benéficos à saúde, atuando sobre o trato gastrointestinal dos seres humanos, impedindo o desenvolvimento de micro-organismos patogênicos capazes de produzir enfermidades, como também pela estimulação da produção de anticorpos (CAMPO et al., 2008). Estas bactérias estão amplamente distribuídas na natureza e podem ser encontradas em diferentes tipos de alimentos, os quais são consumidos diariamente pelo ser humano, como carnes, leite, e seus respectivos derivados, e vegetais. Além desses micro-organismos apresentarem benefícios à saúde humana, também podem ser adicionados como conservantes naturais nos alimentos, figurando como foco de diversos estudos relacionados a sua aplicação tecnológica (SEIXAS, 2014).

Assim como o leite, o colostro bovino (primeiro leite secretado pela glândula mamária da vaca após o parto) também é um meio propício ao desenvolvimento de micro-organismos por apresentar água, lactose, proteínas, gorduras e vitaminas. A silagem de colostro é originariamente utilizada no aleitamento de bezerros, sendo um alimento produzido a partir da fermentação do colostro, com nutrientes superiores ao leite e mantendo valores de proteína, matéria seca, umidade e gordura observados no colostro *in natura* (SAALFELD et al., 2013), permitindo assim a incidência e a multiplicação de BAL.

Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial tecnológico e o perfil fermentativo de isolados de BAL provenientes de silagem de colostro, para possível aplicação em alimentos.

2. METODOLOGIA

Os isolados ($n=16$) foram avaliados quanto ao potencial tecnológico, em diferentes condições simuladas *in vitro*, seguindo a metodologia proposta por HARRIGAN (1998), com adaptações.

Verificou-se a capacidade de crescimento dos isolados em diferentes concentrações de cloreto de sódio (3% e 9%), pH (3,0 e 4,5), sais biliares (0,3% e 1%), incubando-os a 37 °C, por 48 h, e temperatura (8 °C e 45 °C) incubando-os durante 48 h. Considerou-se como critério de crescimento, frente às condições testadas, a turvação do meio. O perfil fermentativo dos isolados foi testado a partir da suplementação de caldo de Man, Rogosa e Sharpe (MRS), acrescido de 3% de glicose, e incubados, em tubos de ensaio contendo tubos de Durhan invertidos, a 37 °C, por 48h, sendo considerados heterofermentativos os isolados que apresentaram turvação do meio e produção de gás no interior dos tubos de Durhan e homofermentativos os isolados que apresentaram somente turvação do meio.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os 16 isolados (100%) apresentaram crescimento quando submetidos a diferentes concentrações de cloreto de sódio, pH e temperatura. Em relação ao crescimento frente à adição de sais biliares, apenas 6 isolados (38%) cresceram na concentração de 0,3% e nenhum isolado apresentou crescimento na concentração de 1%, conforme demonstrado na Figura 1.

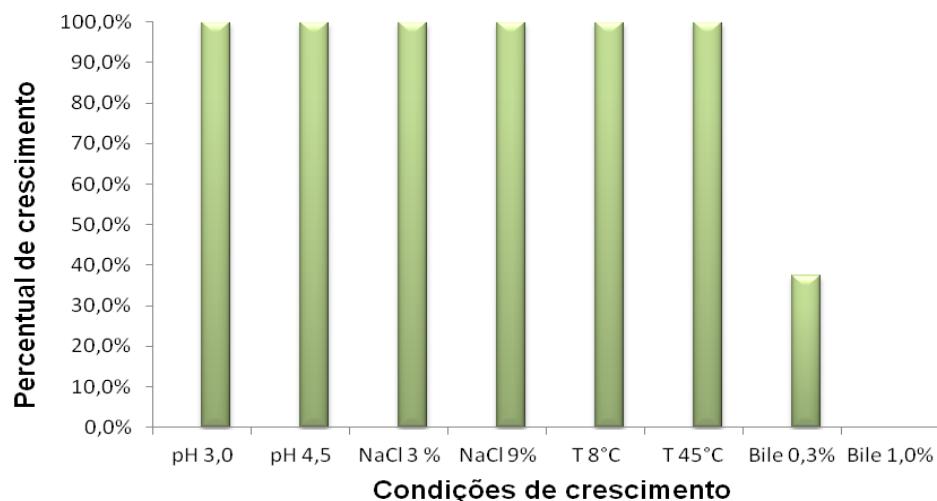


Figura 1. Percentual de isolados que toleraram diferentes condições tecnológicas.

A capacidade de crescimento dos isolados em diferentes condições, como pH, temperatura, resistência aos sais biliares, entre outros, possibilita a aplicação dos mesmos em diferentes produtos, processos e condições de armazenamento (FRANCIOSI et al., 2009; THAPA et al., 2006).

A tolerância ao cloreto de sódio (NaCl) auxilia na conservação dos alimentos por promover a redução da atividade de água, inibindo o crescimento de micro-organismos indesejáveis e auxiliando nas características finais do produto. No grupo de BAL, cepas de *Lactococcus* spp. toleram concentrações de 4-6% de NaCl, já as cepas de *Leuconostoc* spp. tendem a ser menos resistentes a valores de NaCl acima de 4,5% (NIETO-ARRIBAS, 2010).

As BAL homofermentativas produzem ácido lático como produto final da fermentação, o qual ao se acumular no meio extracelular provoca um ambiente desfavorável para muitos micro-organismos patogênicos, além disso, essas bactérias possuem ainda a capacidade de resistir ao pH ácido do estômago e sobreviver ao pH alcalino do intestino, sendo os principais representantes dessas bactérias os probióticos (AXELSSON, 2004).

Quanto à temperatura, todos os isolados foram resistentes a 8 °C e a 45 °C. Esses resultados foram adequados, visto que o crescimento em diferentes temperaturas comprova a capacidade dos isolados em se adaptar a diferentes processos fermentativos (FRANCIOSI et al., 2009). SILVA (2011) detectou em todos os isolados de BAL de queijo, a capacidade de crescimento em uma ampla faixa de temperatura. Em contrapartida, DROSINOS et al. (2005) obtiveram isolados de salame resistentes a baixas temperaturas, porém sensíveis a altas temperaturas.

Em relação à tolerância aos sais biliares, apenas 38% dos isolados resistiram à concentração de 0,3% de bile e nenhum foi resistente à concentração de 1%. Resultados similares da sensibilidade *in vitro*, de bactérias ácido-láticas, aos sais biliares, também foram encontrados por outros autores. CHOU & WEIMER (1999) mostraram tolerância de amostras de *L. acidophilus* aos sais biliares a 0,2%, enquanto MEIRA (2010) revelou tolerância aos sais biliares a 0,3% de bactérias ácido-láticas de leite e queijo de ovelha. SHRUTHY et al. (2011) verificaram tolerância aos sais biliares (0,3%) da maioria dos *Lactobacillus* spp. isolados de amostras de coalhada.

Considerando o metabolismo fermentativo, todos os 16 isolados testados (100%) turvaram o meio de cultura, porém não produziram gás a partir da glicose, característica de bactérias homofermentativas. FUNCK et al. (2012) ao testarem 21 isolados de leite *in natura* e queijos coloniais, da região Noroeste do RS, quanto ao tipo de fermentação, também obtiveram 100% dos isolados homofermentativos.

4. CONCLUSÕES

Os 16 isolados de BAL provenientes de silagem de colostro possuem potencial tecnológico e perfil fermentativo para serem usados como culturas iniciadoras, necessitando de mais análises para futura aplicação em alimentos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AXELSSON, L. Acid lactic bacteria: classification and physiology. In: SALMINEN, S. et al. **Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects**. 3 ed. New York: Marcel Dekker Inc, 2004.
- CAMPO, C.I.M. del; GÓMEZ, H.E.; ALANIZ, R. de la O. Bactéria ácido lácticas com capacidade antagónica y actividad bacteriocigénica aisladas de quesos frescos. **E-Gnosis**. V. 6, art. 5, 2008.

- CHOU, L.S.; WEIMER, B. Isolation and characterization of acid and bile tolerant isolates from strains of *Lactobacillus acidophilus*. *J. Dairy Sci.*, v.82, p.23-31, 1999.
- DROSIONS, E.H.; MATARAGAS, M.; XIRAPHI, N.; GAITIS, G.; MOSCHONAS, F.; METAXOPOULOS, J. Characterization of the microbial flora from a traditional Greek fermented sausage. *Meat Science*, v. 69, p.307-317, 2005.
- FRANCIOSI, E.; SETTANNI, L.; CAVAZZA, A.; POZNANSKI, E. 2009. Biodiversity and technological potential of wild lactic acid bacteria from raw cows' milk. *International Dairy Journal*, v.19, p.3–11, 2009.
- FUGELSANG, K.C.; EDWARDS, C.G. **Wine microbiology: practical applications and procedures**. 2. ed. Springer, 2007.
- FUNCK G.D.; HERMANN G.; VICENZI R.; SCHMIDT J.T., RICHARDS N.S.P.S.; SILVA W.P.; FIORENTINI, A. M. Microbiological and physicochemical characterization of the raw milk and the colonial type cheese from the Northwestern Frontier region of Rio Grande do Sul, Brazil. *Rev Inst Adolfo Lutz*. São Paulo, 2015; 74(3):247-57.
- GUCHTE, M.; SERROR, P.; CHERVAUX, C. et al. Stress responses in lactic acid bacteria. *Ant. Leeuw. J.*, v.82, p.187-216, 2002.
- HARRIGAN, W. F. **Laboratory methods in food microbiology**. 3^a ed. San Diego, CA: Academic Press, 1998. 532p.
- MEIRA, S.M.M.; HELFER, V.E.; VELHO, R.V. et al. Identificação e resistência a barreiras biológicas de bactérias lácticas isoladas de leite e queijo de ovelha. *Braz. Jour. Food Technol.*, n.12, p.75-80, 2010.
- NIETO-ARRIBAS, P.; POVEDA, J. M.; SESEÑA, S. et al. Technological characterization of *Lactobacillus* isolates from traditional Manchego cheese for potential use as adjunct starter cultures. *Food Control*, v. 20, p. 1092-1098, 2009.
- PARADA, J. L.; CARON, C. R.; MEDEIROS, A. B. P.; SOCCOL, C. R. Bacteriocins from lactic acid bacteria: purification, properties and use as biopreservatives. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v.50, n.3, p.521-542, 2007.
- SAALFELD, M. H. **Silagem de colostro bovino: propriedades e potencialidades de usos**. 2013. 97p. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Programa de Pós Graduação em Biotecnologia. Universidade Federal de Pelotas.
- SEIXAS, F. N. **Identificação filogenética e caracterização tecnológica da microbiota ácido láctica autóctone do queijo artesanal serrano catarinense e seu potencial antagonista a patógenos**. 2014. 137 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal), Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Estadual de Londrina.
- SHRUTHY, V.V.; PAVITHRA, M.; GOWRI, S. et al. Probiotic potentials among lactic acid bacteria isolated from curd. *Inter. J. Res. Ayurveda Pharm.*, v.2, p.602-609, 2011.
- SILVA, L. J. M. **Isolamento e caracterização bioquímica das bactérias do ácido láctico do queijo São Jorge**. 2011. Dissertação (Mestrado em tecnologia e Segurança Alimentar). Angra do Heroísmo: Universidade dos Açores.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3. ed. Varela, 2007.
- THAPA, N.; PAL, J.; TAMANGA, J. Phenotypic identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from traditionally processed fish products of the Eastern Himalayas. *International Journal of Food Microbiology*, v. 107, p. 33-38, 2006.