

PRODUÇÃO DE ÁCIDO LÁTICO POR DIFERENTES *Lactobacillus*: COMPARAÇÃO ENTRE GLICOSE E PERMEADO DE SORO COMO FONTES DE CARBONO

MARIANA VILAR CASTRO DA VEIGA DE MATTOS¹; RENATA AGUIRRE
TRINDADE²; ADRIEL PENHA MUNHOZ³; FERNANDA GERMANO ALVES
GAUTÉRIO⁴; CARLOS ANDRÉ VEIGA BURKERT⁵

¹Universidade Federal do Rio Grande – marianavcvmattos@gmail.com

² Universidade Federal do Rio Grande – rtrindade@furg.br

³ Universidade Federal do Rio Grande – adrielmunhoz@hotmail.com

⁴Universidade Federal do Pampa / Campus Bagé – fernandagauterio@unipampa.edu.br

⁵ Universidade Federal do Rio Grande – burkert@vetorial.net

1. INTRODUÇÃO

As bactérias lácticas são mencionadas na literatura como produtoras de ácido lático (KWAN et al., 2016, HOFVENDAHL; HAHN-HADERDAL, 2000), um composto versátil, utilizado na indústria química, farmacêutica, de alimentos e textil (HOFVENDAHL; HAHN-HADERDAL, 2000).

De acordo com ZOCCAL (2016), 11 bilhões de litro de leite por ano são transformados em queijo no país, o que corresponde a 46% da produção do leite no país, sem considerar a produção informal. O permeado de soro é obtido quando o soro de queijo é ultrafiltrado para concentrar as proteínas, que ficam retidas e, a lactose, sais minerais e vitaminas atravessam a membrana para o permeado (ZACARCHENCO et al., 2012). O inconveniente é que estes coprodutos indevidamente tratados podem acarretar em sérios problema ambientais.

A capacidade de produção de ácido lático por *Lactobacillus* a partir de coprodutos agroindustriais tem sido avaliada, com o uso do melaço (OLIVEIRA et al., 2009), soro de leite (BERNARDO et al., 2016; COELHO et al., 2011; PANESAR et al., 2010) e glicerol oriundo do biodiesel (RIVALDI et al., 2013).

O objetivo do trabalho foi comparar a produção de ácido lático resultante do cultivo de diferentes cepas de *Lactobacillus* utilizando glicose e permeado de soro, visando a substituição da fonte padrão, glicose pelo coproduto, a fim de minimizar custos do processo e o seu descarte.

2. METODOLOGIA

O permeado de soro em pó foi cedido pelo Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas - CETEC - UNIVATES, localizada em Lajeado-RS, produzido pela empresa *Arla Foods Ingredients*, localizada na Dinamarca.

As bactérias *L. rhamnosus* INCQS 00223, *L. fermentum* INCQS 00224, *L. helveticus* INCQS 00227, *L. paracasei* subs. *paracasei* INCQS 00222, *L. acidophilus* INCQS 00076, *L. leichmanii* INCQS 00008, *L. plantarum* INCQS 00007 e *L. delbrueckii* subsp. *lactis* INCQS 00035 foram disponibilizadas pelo Instituto Nacional de Controle e Qualidade em Saúde – Fundação Oswaldo Cruz sendo reativadas a 37°C em meio *Man, Rogosa and Sharpe* (MRS).

Para o preparo dos inóculos, as culturas microbianas foram raspadas com 10 mL de água peptonada 0,1%, transferindo para frascos *Erlenmeyer* de 500 mL contendo 90 mL de caldo MRS, e inculadas a 37°C até atingir a densidade ótica de 1,0.

Os cultivos foram realizados em frascos *Erlenmeyer* de 500 mL contendo 200 mL de meio, inoculados com suspensão de cada bactéria em estudo (10%).

Os frascos foram mantidos em incubadora refrigerada (Tecnal TE-424) a 37°C, sem agitação, em meio MRS padrão e modificado pela substituição da glicose pelo permeado de soro.

Para determinação do ácido láctico foi adicionada às amostras acetona PA (1:3 v v⁻¹), para remoção de proteínas, sendo centrifugadas a 13.000 × g por 15 min, a acetona foi evaporada e as amostras devidamente diluídas, filtradas em membrana hidrofílica de 0,22 µm e transferidas para *vials*. O ácido láctico (AL) foi quantificado em 96 h de cultivo, por cromatografia líquida (Shimadzu, Japão), utilizando uma coluna Aminex HPX - 87H (300 x 7,8 mm) (Bio-Rad, EUA), de acordo com OLIVEIRA et al. (2005).

Todos os ensaios foram realizados em triplicata, sendo os resultados tratados por Análise de Variância e teste de *Tukey* ou teste t (MONTGOMERY, 2004) com o *software Statistica 5.0* (StatSoft Inc., EUA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 contém os resultados da concentração de ácido láctico para as diferentes cepas de *Lactobacillus*, em 96 h de cultivo. Pode-se observar que, quando analisada a glicose como fonte de carbono, *L. paracasei* alcançou as maiores concentrações de ácido láctico, não diferindo significativamente ($p > 0,05$) da bactéria *L. rhamnosus* e *L. plantarum*, seguido por *L. acidophilus*, *L. leichmanii* e *L. helveticus*, não havendo diferença estatística ($p > 0,05$) entre os três, sendo encontrada uma menor concentração de ácido láctico para *L. delbrueckii* e *L. fermentum*.

Ao analisar o permeado de soro como fonte de carbono, pode-se observar que a maior concentração foi encontrada para *L. plantarum*, não diferindo significativamente ($p > 0,05$) da bactéria *L. paracasei*, sendo que esta última não diferiu estatisticamente ($p > 0,05$) de *L. helveticus* e *L. rhamnosus*. *L. rhamnosus* não diferiu significativamente ($p > 0,05$) da cepa de *L. leichmanii*, sendo os menores resultados encontrados para *L. acidophilus*, *L. delbrueckii* e *L. fermentum*, não havendo diferença significativa ($p > 0,05$) entre estes.

Tabela 1 - Concentração de ácido láctico (g L⁻¹) em 96 h de cultivo.

Bactéria	Glicose	Permeado de soro
<i>L. rhamnosus</i>	18,4 ± 0,3 ^{a,b,A}	14,4 ± 1,3 ^{b,c,B}
<i>L. fermentum</i>	9,8 ± 0,8 ^{d,A}	9,3 ± 0,7 ^{d,A}
<i>L. helveticus</i>	16,2 ± 0,4 ^{b,A}	14,7 ± 1,0 ^{a,b,B}
<i>L. paracasei</i>	19,4 ± 0,4 ^{a,A}	16,0 ± 0,3 ^{a,b,B}
<i>L. acidophilus</i>	17,0 ± 1,3 ^{b,A}	9,9 ± 0,4 ^{d,B}
<i>L. leichmannii</i>	16,3 ± 0,8 ^{b,A}	12,2 ± 0,4 ^{c,B}
<i>L. plantarum</i>	17,9 ± 1,1 ^{a,b,A}	16,7 ± 0,4 ^{a,A}
<i>L. delbrueckii</i>	12,6 ± 1,0 ^{c,A}	9,6 ± 1,0 ^{d,B}

*Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam que há diferença significativa entre os micro-organismos, para uma mesma fonte de carbono ($p < 0,05$). Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam que há diferença significativa entre as fontes de carbono ($p < 0,05$), para um mesmo micro-organismo.

Ao comparar as fontes de carbono, apenas *L. plantarum* e *L. fermentum* não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre a glicose e o permeado de soro, sendo que a maior concentração de ácido láctico foi encontrada para a bactéria *L. plantarum*. As demais bactérias apresentaram diferença significativa

($p > 0,05$), sendo que apenas para *L. acidophilus* esta diferença foi mais acentuada, e nas demais cepas esta diferença foi no máximo de 4 g L^{-1} . Levando em consideração que o permeado de soro apresenta em torno de 85% de lactose, este comportamento já era esperado.

Resultados semelhantes para ácido láctico foram encontrados por KWAN et al. (2016) utilizando a bactéria *L. casei* Shirota e 20 g.L^{-1} de glicose, atingindo $15,5 \pm 0,5 \text{ g L}^{-1}$ de ácido láctico.

4. CONCLUSÕES

O permeado de soro mostrou ser potencial fonte de carbono em substituição à glicose. As maiores concentrações de ácido láctico foram obtidas quando foi utilizada a bactéria *L. plantarum*, seguida por *L. paracasei* e *L. helveticus*. A substituição da glicose pelo permeado de soro mostrou ser uma ótima alternativa, pois possibilita minimizar custos do processo, além de agregar valor à cadeia produtiva do leite.

Agradecimentos: Os autores agradecem FAPERGS, CNPq e CAPES pelo apoio financeiro.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERNARDO, M. P.; COELHO, L. F.; SASS, D. C.; CONTIERO, J. L. (+)-Lactic acid production by *Lactobacillus rhamnosus* B103 from dairy industry waste. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 3, p. 640–646, 2016.

COELHO, L. F.; LIMA, C. J. B.; RODOVALHO, C. M.; BERNARDO, M. P.; CONTIERO, J. L. Lactic acid production by new *Lactobacillus plantarum* LMISM6 grown in molasses: optimization of medium composition. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 28, n 01, p. 27-36, 2011.

HOFVENDAHL, K.; HAHN-HAGERDAL, B. Factors effecting the fermentative lactic acid production from renewable resources. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 26, p. 87-107, 2000.

KWAN, T. H.; HU, Y.; LIN, C. S. K. Valorization of food waste via fungal hydrolysis and lactic acid fermentation with *Lactobacillus casei* Shirota. **Bioresource Technology**, v. 217, p. 129-136, 2016.

MONTGOMERY, D.C. **Introdução ao controle estatístico de qualidade**. 4ª Edição. Rio de Janeiro: Editora LTC, 2004.

OLIVEIRA, A. R.; BUZATO, J. B.; HAULY, M. C. O. Produção contínua de ácido láctico por *Lactobacillus curvatus* a partir de melaço de cana-de-açúcar suplementado. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 26, n. 1, p. 53-60, 2005.

OLIVEIRA, R. F.; SOUSDALEFF, M.; LIMA, M. V. S.; LIMA, H. O. S. Produção fermentativa de ácido láctico a partir do melaço da cana-de-açúcar por *Lactobacillus casei*. **Brazilian Journal of Food Technology**, VII BMCFB, p. 34-40, 2009.



PANESAR, P. S.; KENNEDY, J.; KNILL, J. F.; KOSSEVA, M. Production of L(+) lactic acid using *Lactobacillus casei* from whey. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 53, n. 1, p. 219-226, 2010.

RIVALDI, J. D.; SILVA, M. L. C. S.; DUARTE, L. C.; FERREIRA, A. E. N.; CORDEIRO, C.; FELIPE, M. G. A.; FREIRE, A. P.; MANCILHA, I. M. Metabolism of biodiesel derived glycerol in probiotic *Lactobacillus* strains. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, p. 1735-1743, 2013.

ZACARCHENCO, P.B; VAN DENDER, A.G.F.; SPADOTI, L.M; GALFINA, D.A.; TRENTO, F.K.H.S; ALVES, A.T.S. **Permeado de soro**. Guia de Referência do Setor Lácteo 2012, p. 48-52, 2012.

ZOCCAL, R. Queijos: produção e importação, 2016. Disponível em: <<http://www.baldebranco.com.br/queijos-producao-e-importacao/>>. Acesso em: 28 de setembro de 2017.