

## ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁTICAS DE QUEIJOS COM BAIXO TEOR DE UMIDADE COMERCIALIZADOS NO SUL DO BRASIL

Claudio Eduardo dos Santos Cruxen<sup>1</sup>; Guilherme da Silva Dannenberg; Juliana de Lima Marques; Graciele Daiana Funck; Ana Rita Carboni Ritter; Ângela Maria Fiorentini<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – [cbrcruxen@hotmail.com](mailto:cbrcruxen@hotmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – [gui.dannenberg@yahoo.com.br](mailto:gui.dannenberg@yahoo.com.br)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – [ju\\_marques@hotmail.com](mailto:ju_marques@hotmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – [gracifunck@yahoo.com.br](mailto:gracifunck@yahoo.com.br)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – [arcarboni@yahoo.com.br](mailto:arcarboni@yahoo.com.br)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas (UFPEL)<sup>3</sup> – [angefiore@gmail.com](mailto:angefiore@gmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

As bactérias ácido lácticas (BAL) apresentam-se na forma de cocos ou bacilos, Gram positivos, não formadores de esporos, catalase e oxidase negativa, anaeróbios, anaeróbios facultativos ou microaerófilos e estritamente fermentativos, produzindo ácido lático como único ou principal produto final do metabolismo dos carboidratos (AXELSSON, 2004). As BAL representam um grupo de diversos micro-organismos presentes em habitats ricos em nutrientes como nos alimentos, particularmente em produtos lácteos, cárneos e vegetais (MASSAGUER, 2005). Essas bactérias têm relevância, tanto na indústria de alimentos quanto em saúde pública, por apresentarem características transformadoras, probióticas e bioconservadoras (LEROY; DE VUYST, 2004). Particularmente, em função do metabolismo da glicose, são classificadas como homofermentativas, pela produção de ácido lático como o principal ou único produto e heterofermentativas, produtoras de igual quantidade de ácido lático, dióxido de carbono e etanol, além da produção de compostos de *flavor* e aroma, como acetaldeído e diacetileno (JAY et al., 2005). No presente estudo objetivou-se isolar BAL com potencial tecnológico para posterior aplicação em produtos lácteos.

### 2. METODOLOGIA

A coleta das amostras ocorreu em estabelecimentos localizados na Fronteira entre Brasil (Santana do Livramento) e Uruguai (Rivera), sendo adquirida uma amostra de queijo sbrinz e uma de queijo parmesão. As amostras foram transportadas na própria embalagem em ambiente isotérmico até o laboratório de Microbiologia de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL). Primeiramente, procedeu-se com a determinação de umidade dos queijos de acordo com INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2004).

Para realizar uma prévia seleção dos isolados, optou-se por modificar o meio de cultura ágar De Man Rogosa e Sharpe (MRS) (Oxoid), simulando fatores tecnológicos. Para isso, foram realizadas um total de (7) sete formulações diferentes com NaCl a 3% e 9%, NaNO<sub>2</sub> a 150 mg.kg<sup>-1</sup>, adição de ácido lático para obtenção de pH 4,5 e 3,0 e sais biliares a 0,3 e 1%. Para a realização das análises microbiológicas foram pesadas 25 gramas da amostra e adicionado 225 mL de água peptonada a 0,1%. Após, procedeu-se as diluições decimais, onde 0,1mL de cada uma dessas diluições foi semeada em placas de petri, contendo

ágar MRS modificado. As placas foram incubadas em anaerobiose por 72 horas a 37°C.

As bactérias que cresceram nas condições de pré-seleção foram isoladas e transferidas para tubos contendo caldo MRS (Oxoid) modificado com as mesmas formulações já citadas para que fossem avaliados os demais fatores tecnológicos. Os tubos foram incubados por cinco dias a 37°C. Adotou-se a turvação do meio como indicativo da resistência do micro-organismo. Os isolados resistentes a todos os fatores tecnológicos foram submetidos à coloração de Gram e ao teste da catalase. Posteriormente, bacilos e cocos Gram positivos e catalase negativa foram avaliados quanto ao seu perfil fermentativo. A capacidade de fermentar glicose com produção de gás foi determinada em tubos de ensaio contendo tubos de Durham e caldo MRS suplementado com 3% de glicose. A incubação se deu a 37°C por 48h (LIMA et al., 2009).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Determinação do teor de umidade dos queijos

Os queijos, Sbrinz e Parmesão apresentaram teores de umidade de (31,2%) e (29,63%), respectivamente. O teor de umidade dos alimentos reflete o tipo de micro-organismos presentes, pois as bactérias são mais exigentes em umidade quando comparadas a leveduras e bolores (FRANCO e LANDGRAF, 2008). Sendo assim, queijos maturados e mais secos, possuem uma microbiota mais seletiva e resistente. O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos queijos Parmesão e Sbrinz os classifica como queijos de baixa umidade (umidade menor que 36%), estando de acordo com os resultados obtidos no presente estudo.

#### 3.2. Perfil tecnológico dos isolados

Foram selecionados dezoito (18) isolados, sendo que desses, onze (11) apresentaram-se resistentes aos sete fatores tecnológicos (Tabela 1).

Tabela 1: Perfil Tecnológico de BAL Isoladas de Queijo Parmesão e Sbrinz.

Isolado	Queijo	Fator de Pré-seleção	Condições testadas						
			NaCl 9%	NaCl 3%	pH 4,5	pH 3	0,3 % bile	1% bile	NaNO <sub>2</sub>
1	Parmesão	9% NaCl	O	O	X	X	O	X	O
3	Parmesão	9% NaCl	O	O	X	X	X	X	O
4	Parmesão	9% NaCl	O	O	X	X	X	X	O
7	Sbrinz	9% NaCl	O	O	X	X	X	X	O
11	Sbrinz	9% NaCl	O	O	X	X	O	X	O
12	Sbrinz	9% NaCl	O	O	X	X	X	X	O
13	Parmesão	NaNO <sub>2</sub>	O	O	O	O	O	O	O
15	Parmesão	NaNO <sub>2</sub>	O	O	O	O	O	O	O
18	Parmesão	NaNO <sub>2</sub>	O	O	O	O	O	O	O
22	Sbrinz	pH 4,5	O	O	O	O	O	O	O
23	Sbrinz	pH 4,5	O	O	O	O	O	O	O
24	Sbrinz	pH 4,5	O	O	O	O	O	O	O
28	Sbrinz	NaNO <sub>2</sub>	O	O	O	O	O	O	O
29	Sbrinz	NaNO <sub>2</sub>	O	O	O	O	O	O	O
30	Sbrinz	NaNO <sub>2</sub>	O	O	O	O	O	O	O

34	Sbrinz	0,3% bile	O	O	O	O	O	O	O
35	Sbrinz	0,3% bile	O	O	O	O	O	O	O
36	Sbrinz	0,3% bile	O	O	O	X	O	O	O

O = resistente X= não resistente

Bactérias probióticas devem possuir a capacidade de sobreviver às condições do trato gastrointestinal (TGI) para então colonizar o intestino e causar efeito benéfico ao hospedeiro (FAO/WHO, 2001). Sendo assim, o presente trabalho revela que os isolados resistentes ao pH ácido e a concentrações de sais biliares possuem um potencia probiótico.

Os isolados resistentes a todos os fatores tecnológicos (13, 15, 18, 22, 23, 24, 28, 29, 30, 34 e 35) não apresentam a enzima catalase. Desses onze isolados, cinco apresentaram morfologia de bacilos e seis morfologia de cocos. HERMANNNS et al. (2012) isolaram durante dois períodos de coleta de amostras de leite *in natura* e queijos artesanais (verão e inverno), cento e doze colônias onde 54,46% dos isolados demonstraram-se positivos para coloração de GRAM e negativos para catalase, caracterizando-se como BAL.

Para a fermentação da glicose não se constatou formação de gás no tubo de Durhan o que indica perfil homofermentativo. A utilização de bactérias homo ou heterofermentativas vai depender do produto que se deseja obter, considerando as características de cada produto. Queijos artesanais geralmente utilizam bactérias homofermentativas, pois seu principal metabólito consiste em ácido láctico (CARR et al., 2002).

#### 4. CONCLUSÕES

Conclui-se que é possível isolar BAL com potencial tecnológico e probiótico a partir de queijos com baixo teor de umidade. Análises posteriores, de identificação molecular para confirmação de gênero e espécie dos micro-organismos serão necessárias, para futura aplicação em lácteos.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AXELSSON, L. Lactic acid bacteria: classification and physiology. In: SALMINEN, S.; WRIGHT, A.; OUWEHAND, A. ed. **Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects**. 3 ed. New York: Marcel Dekker, 2004.

CARR, F. J.; CHILL, D.; MAIDA, N. The lactic acid bacteria: a literature survey. **CRC Critical Reviews in Microbiology**, v.28, n.4, p.281-370, 2002.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO; WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk With Live Lactic Acid Bacteria. Córdoba, 2001.

FRANCO, B. e LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008.

HERMANNNS, G. et al. Isolamento e identificação de bactérias lácticas supostamente bacteriocinogênicas em leite e queijo. **Rev. Acadêmica Ciência Agrária e Ambiental**, Curitiba, v. 11, n. 2, p. 191-196, 2013.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. 4ª Ed. São Paulo, 2004.

JAY, J. M.; LOESSNER, M. J.; GOLDEN, D. A. **Modern Food Microbiology**. 7 ed. New York: Springer, 2005.

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.

LIMA, C. D. L. C.; LIMA, L. A.; CERQUEIRA, M. M. O. P.; FERREIRA, E. G.; ROSA, C. A. Bactérias ácido lácticas e leveduras associadas com o queijo-de-minas artesanal produzido na região da Serra do Salitre, Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 1, p. 266-272, 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v61n1/v61n1a37.pdf>>. Acesso em: 20 julho 2014.

MASSAGUER, P.R. **Microbiologia dos Processos Alimentares**. São Paulo: Livraria Varela, 2005.