

AVALIAÇÃO DE POTENCIAL TECNOLÓGICO EM BACTÉRIAS ÁCIDO-LÁTICAS ISOLADAS DE LEITE DE CABRA *IN NATURA*

KHADIJA BEZERRA MASSAUT¹; MARIA FERNANDA FERNANDES SIQUEIRA²;
VITÓRIA LOPES ROCHA³; PÂMELA DA SILVA WOIGT⁴; GRACIELA VOLZ LOPES⁵; ÂNGELA MARIA FIORENTINI⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – khadijamassaut@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – maria.fernanda.fs97@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – vitoriatro2@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – paswoigt@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – gracielavlopes@yahoo.com.br

⁶Universidade Federal de Pelotas – angefiore@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Bactérias ácido-láticas (BAL), podem apresentar morfologia de cocos, bacilos ou coco-bacilos, são Gram-positivas e catalase negativas, não formadoras de esporos e anaeróbias facultativas. Na indústria de alimentos são utilizados como culturas iniciadoras na fermentação de uma vasta gama de produtos por atuarem como coadjuvantes de tecnologia, assim como seus metabólitos que propiciam a bioconservação, fornecem características sensoriais e/ou nutricionais específicas aos produtos gerados (PFEILER; KLAENHAMMER, 2007; SAAD et al., 2011).

Neste contexto, as características fisiológicas dos microrganismos, além de auxiliarem na sua caracterização fenotípica, permitem sua prospecção no aspecto tecnológico, tendo em vista que exploram suas melhores condições de crescimento e multiplicação para aplicação industrial (CORBO, 2009; ANVISA, 2021)

As BAL estão amplamente distribuídas na natureza, suas fontes são usualmente associadas ao solo, água, plantas, matérias-primas animais e alimentos naturalmente fermentados, (SETTANNI; MOSCHETTI, 2010).

O leite *in natura*, independente da espécie animal, apresenta uma microbiota autóctone diversificada, composta por inúmeros microrganismos, entre eles as BAL, tornando-se assim, uma fonte desejável na investigação de novos microrganismos (PISANO et al., 2014). O leite de cabra, é uma matriz que tem sido referenciada como um alimento cujas características nutricionais apresentam especial relevância, principalmente na prospecção de novos isolados de BAL com potencial tecnológico (PARK, 2007; RIBEIRO; RIBEIRO, 2010; FURTADO, 2010).

Logo, o objetivo do presente estudo foi avaliar isolados de BAL obtidos a partir de leite de cabra *in natura*, quanto aos aspectos tecnológicos para futura aplicação na indústria de alimentos.

2. METODOLOGIA

Os testes tecnológicos, foram realizados em quatro isolados de BAL, procedentes de leite de cabra *in natura*, previamente testados *in vitro* caracterizados como Gram-positivos e catalase negativos e considerados seguros, identificados com a letras GM (goat milk) seguidos do número dos isolados: GM 1, GM 2, GM 14 e GM 21.

Os isolados foram submetidos aos testes de tolerância à temperatura com incubação à 8 °C e 45 °C, tolerância às concentrações de 3 e 9% de NaCl (DROSINOS et al., 2005), tolerância às diferentes faixas de pH 4,5 (ajustado com HCl) e pH 8 (ajustado com NaOH) (PERELMUTER et al., 2008) e perfil fermentativo (homo ou heterofermentativo) (LIMA et al., 2009).

Os isolados foram previamente ativados em caldo MRS (De Man Rogosa & Sharpe) por 24 horas a 37 °C e, posteriormente, 1% do cultivo foi transferido para um novo tubo contendo caldo MRS suplementado (quando aplicável) conforme a especificação de cada teste tecnológico. Os tubos foram incubados por 48 horas a 37 °C e os resultados foram obtidos a partir da turvação do meio com leitura da densidade ótica (DO), através de absorvância em espectrofotômetro a 600nm do cultivo controle (caldo MRS, 37 °C, pH 6,8, sem adição de NaCl) – e dos cultivos conforme os testes realizados.

Para o teste de perfil fermentativo, os isolados foram inoculados em tubos contendo caldo MRS suplementado com 3% de glicose e tubos de Durham, incubados por 48 horas a 37 °C, sendo o resultado avaliado a partir da turvação do caldo e da presença ou não de bolhas de ar no interior dos tubos de Durham (LIMA et al., 2009).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para avaliar o potencial dos isolados selecionados, foram realizados testes sob diferentes condições ambientais, com objetivo de verificar e quantificar sua capacidade de multiplicação frente às condições adversas.

Com base na escala de *Mc Farland*, DO de 0,159 a 600 nm, corresponde à 0,5 na escala, equivalendo a $\sim 1,5 \times 10^8$ UFC mL⁻¹ (AVELLAR, 2006) logo, embora todos os isolados tenham apresentado um menor crescimento sob temperatura de 8 °C, pH 4,5 e concentração de NaCl a 9%, os valores obtidos no presente estudo indicam desempenho significativamente satisfatório dos isolados nas condições avaliadas como temperatura de 45 °C, pH 8,0 e concentração de NaCl a 3% (Tabela 1).

Tabela 1. Testes tecnológicos dos isolados de BAL procedentes de leite de cabra *in natura*

| Testes | Isolados | | | |
|--------------------------------|----------|-------|-------|-------|
| | GM 1 | GM 2 | GM 14 | GM 21 |
| Controle¹ | 0,904 | 0,982 | 0,916 | 1,233 |
| Temperatura¹ | | | | |
| 8 °C | 0,127 | 0,131 | 0,133 | 0,165 |
| 45 °C | 0,837 | 0,624 | 0,679 | 1,299 |
| pH¹ | | | | |
| 4,5 | 0,136 | 0,134 | 0,179 | 0,194 |
| 8 | 0,997 | 1,172 | 1,316 | 1,391 |
| NaCl¹ | | | | |
| 3% | 0,133 | 0,132 | 0,659 | 0,294 |
| 9% | 0,156 | 0,127 | 0,116 | 0,146 |
| Homofermentativo | + | + | + | + |
| Heterofermentativo | - | - | - | - |

¹resultados expressos em densidade ótica; +:teste positivo; -:teste negativo

Segundo LUZ et al. (2021), as características tecnológicas de um microrganismo conferem importante papel na escolha para sua aplicação, ou não, no desenvolvimento de alimentos pois, é através do conhecimento de fatores intrínsecos e extrínsecos que será possível determinar a influência que o mesmo irá desempenhar nas características bioconservantes e sensoriais do produto final.

No presente estudo, os quatro isolados avaliados demonstraram capacidade de multiplicação sob as condições adversas propostas, sendo a temperatura

de 45 °C e a faixa de pH 8 aquelas que evidenciaram multiplicação similar às condições normais em meio MRS e temperatura (37 °C), a que os microrganismos são submetidos durante as etapas de isolamento.

A capacidade de um microrganismo se desenvolver em ampla faixa de temperatura, pH e tolerar diferentes concentrações salinas indica que o mesmo pode se adaptar e persistir durante diferentes processos de maturação de alimentos fermentados como queijos (temperatura entre 7 – 10 °C, pH 5,7 – 6,5 e adição de 3% de NaCl) e salames (em torno de 18 °C, pH 5,4 e 8% de NaCl), por exemplo (ORDÓÑEZ et al., 2005; BARBOSA et al., 2015).

Em relação ao pH, todos os isolados apresentaram melhor desempenho em pH 8, fator que não influencia sua utilização como cultura iniciadora em alimentos fermentados como os lácteos por exemplo, tendo em vista que o pH inicial do leite é em torno de 6,8. Entretanto, vale ressaltar que as condições de multiplicação podem variar conforme cada microrganismo (ORDÓÑEZ et al., 2005).

De acordo com REALE et al. (2015), a halotolerância dos isolados de BAL é uma característica importante, especialmente se o microrganismo for utilizado na elaboração de queijos e, embora o crescimento dos isolados tenha sido inferior no teste com diferentes concentrações salinas, todos apresentaram desenvolvimento nos percentuais avaliados, dados que corroboram com o estudo de PAIXÃO (2016), que também observou o mesmo comportamento em isolados de leite de cabra com concentrações de 4 e 6,5% de NaCl.

A respeito do perfil homofermentativo apresentado por todos isolados, os resultados vão de encontro ao observado por PAIXÃO (2016), tendo em vista que de 60 isolados, apenas nove isolados de leite cabra possuíam características heterofermentativas. E, a capacidade de um microrganismo produzir ácido láctico como principal metabólito, acarreta positiva aplicação tecnológica, principalmente pelas suas características de bioconservação. Entretanto, aplicação de culturas homo e/ou heterofermentativas em alimentos, está diretamente associada às características finais desejáveis nos produtos pela produção de compostos aromatizados embora, por produzirem CO₂ como metabólito, são aplicados com maior especificidade, em queijos com olhaduras (ex. Emmental) e não são adequadas para embutidos cárneos (PFEILER; KLAENHAMMER, 2007).

4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos com a realização dos testes tecnológicos, permitiram verificar que os quatro isolados de BAL apresentaram características fisiológicas satisfatórias para aplicação dos mesmos na elaboração de alimentos fermentados. Contudo, outras avaliações devem ser efetuadas, para uma maior compreensão do potencial de cada isolado, como suas características probióticas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia Para Instrução Processual De Petição De Avaliação De Probióticos Para Uso Em Alimentos**. ALIMENTOS - GUIA nº 21, versão 1, de 21 de fevereiro de 2019. Brasília, DF: Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2019.

AVELLAR, C. P. **Controle de *E. faecalis* em função da substância irrigadora utilizada durante o preparo químico mecânico de canais radiculares**. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Federal de Brasília, Brasília, 2006.

- CORBO, M. R. Prolonging microbial shelf life of foods through the use of natural compounds and non-thermal approaches - A review. **International Journal of Food Science and Technology**, v.44, p.223–241, 2009.
- DROSINOS, E. H.; MATARAGAS, M.; XIRAPHI, N.; MOSCHONAS, G.; GAITIS, F.; METAXOPOULOS, J. Characterization of the microbial flora from a traditional Greek fermented sausage. **Meat Science**, v.69, n.2, p.307–317, fev. 2005.
- FURTADO, D. N. **Isolamento de bactérias lácticas produtoras de bacteriocinas e sua aplicação no controle de *Listeria monocytogenes* em queijo fresco de leite de cabra**. Dissertação. (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Universidade de São Paulo. São Paulo. 2010.
- LIMA, K. G. C.; KRUGER, M. F.; BEHRENS, J.; DESTRO, M. T.; LANDGRAF, M.; GOMBOSSY M. F. B. D. Evaluation of culture media for enumeration of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium animalis* in the presence of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. **LWT - Food Science and Technology**, v.42, n.2, p.491–495, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.08.011>
- LUZ, C.; CALPE, J.; QUILES, J. M.; TORRIJOS, R.; VENTO, M.; GORMAZ, M.; MAÑES, J. MECA, G. Probiotic characterization of *Lactobacillus* strains isolated from breast milk and employment for the elaboration of a fermented milk product. **Journal of Functional Foods**, v. 84, p. 104599, 2021.
- ORDOÑEZ, J. A. O.; RODRIGUEZ, M. I. C.; ALVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLON, G. D. G. F.; PERALES, L. H.; CORTECERO, M. D. S. Tecnologia de Alimentos. In: **Alimentos de Origem Animal**. 2. ed. Artmed. 2005. 279p.
- PAIXÃO, I. S. F. **Caracterização de Bactérias Ácido Lácticas autóctones de leite de cabra e sua funcionalidade no queijo coalho caprino artesanal**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Ciências Agrárias, Petrolina, 2016.
- PARK, Y.W. Rheological characteristics of goat and sheep milk. **Small Ruminant Research**, 68:73-87, 2007.
- 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.
- PFEILER, E. A.; KLAENHAMMER, T. R. The genomics of lactic acid bacteria. **Trends in Microbiology**, 2007. v.15, p.546-553.
- PISANO, M. B.; VIALE, S.; CONTI S.; FADDA, M. E.; DEPLANO, M.; MELIS, M. P.; COSENTINO, S. Preliminary evaluation of probiotic properties of *Lactobacillus* strains isolated from Sardinian dairy products. **BioMed research international**, 2014.
- REALE, A.; DI RENZO, T.; ROSSI, F.; ZOTTA, T.; PREZIUSO, M.; PARENTE, E.; COPPOLA, R. Tolerance of *Lactobacillus casei*, *L. paracasei* and *L. rhamnosus* strains to stress factors encountered in food processing and in the gastro-intestinal tract. **LWT - Food Science and Technology**, v.60, p.721-728, 2015.
- RIBEIRO, A.C.; RIBEIRO, S.D.A. Specialty products made from goat milk. **Small Ruminant Research**, 89:225-233, 2010.
- SAAD, S.M.I.; CRUZ, A.G.; FARIA, J.A.F. **Probióticos e prebióticos em alimentos: fundamentos e aplicações tecnológicas**. 1 ed. São Paulo: Varela, 699p. 2011.
- SETTANNI, L.; MOSCHETTI, G. Non-starter lactic acid bacteria used to improve cheese quality and provide health benefits. **Food Microbiology**, v.27, n.6, p.691–697, 2010.