

CARACTERÍSTICAS TECNOLÓGICAS DE BACTÉRIAS ÁCIDO-LÁTICAS PROSPECTADAS DE DIFERENTES FONTES ALIMENTARES

MARIA FERNANDA FERNANDES SIQUEIRA¹; KHADIJA BEZERRA MASSAUT²; CAROLINE KRAUSE BIERHALS³; WLADIMIR PADILHA DA SILVA⁴; GRACIELA VOLZ LOPES⁵; ÂNGELA MARIA FIORENTINI⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – maria.fernanda.fs97@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas–khadijamassaut@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – carolinekbierhals@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas– wladimir.padilha.2011@gmail.com

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

⁶Universidade Federal de Pelotas – angefiore@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

As bactérias ácido-láticas (BAL) são um grupo de microrganismos que possuem como características a morfologia de bastonetes ou cocos, são Gram-positivas e produzem ácido lático como principal produto da fermentação de carboidratos (LEVIT et al., 2021). São geralmente consideradas GRAS (*Generally Recognized as Safe*) pela agência FDA (*Food Drug Administration*), e por conta desse fator são amplamente utilizadas como culturas iniciadoras de processos fermentativos na indústria de alimentos (MOJGANI et al., 2015; LEVIT et al., 2021).

As BAL estão presente no ambiente de forma ubíqua e podem ser isoladas de diversas matrizes alimentares tanto de origem animal como de origem vegetal (LEVIT et al., 2021). A prospecção de bactérias ácido-láticas de diferentes fontes te possibilita a identificação de cepas com capacidades metabólicas diferentes e de interesse industrial, uma vez que seu metabolismo atividade proteolítica, atividade lipolítica, produção de compostos voláteis, tolerância às condições de estresse) são cepa- dependente (FREIRE et al., 2021).

Uma vez isoladas as bactérias ácido-láticas devem ser classificadas fenotipicamente (através das suas características fisiológicas e bioquímicas) essa classificação pode ser realizada através da avaliação da capacidade de crescimento em diferentes temperaturas, concentrações de NaCl, faixas de pH, fermentação de carboidratos entre outros (LERAYER et al., 2009 *apud* FREIRE et al., 2021).

Sendo assim o objetivo do presente estudo foi avaliar características tecnológicas de isolados de bactérias ácido-láticas de diferentes fontes alimentares, para assim direcionar a sua aplicação como culturas fermentadoras no processamento de alimentos.

2. METODOLOGIA

O isolamento das bactérias ácido-láticas ocorreu a partir de oito matrizes alimentares, dentre elas: mel, *levain*, leite de cabra *in natura*, amido fermentado de batata, amido fermentado de mandioca, corvina, camarão e bagre. Foram selecionadas bactérias Gam-positiva, catalase negativa, homofermentativas e seguras (que não apresentaram fatores de virulência).

Ao todo foram selecionados cinco isolados sendo três do *levain* (L111, L23 e L212), um da corvina (CO5) e um do bagre (BA41) para a realização dos testes tecnológicos. Como etapa preliminar todos os isolados foram incubados em caldo MRS a 37° C por 24 horas, para se obter um cultivo metabolicamente ativo.

O teste de fermentação de carboidratos seguiu o protocolo proposto por Lima et al. (2009). As culturas foram inoculadas em um meio de cultura base acrescido

de um indicador de pH e dos carboidratos, sendo esgotadas em forma de estria. Os carboidratos que foram utilizados para a suplementação do meio foram: lactose, glicose, frutose, galactose, manitol, manose, ramnose, sacarose e xilose. As placas foram incubadas a 37 °C por 24-48 horas em anaerobiose.

A avaliação da tolerância a diferentes pH foi realizada através da inoculação de 1% do caldo contendo os isolados ativos, para um novo tubo com caldo MRS com pH ajustado para 4,5 e 8,0. Após, os tubos foram incubados a 37°C durante 48 h. A leitura dos resultados foi observando a turvação do caldo (PERELMUTER, FRAGA & ZUNINO, 2008).

A tolerância ao NaCl foi avaliada de acordo com o protocolo proposto por Drosinos et al. (2005), onde os isolados foram inoculados em caldo MRS com concentração de sal ajustada para 3 e 9% de NaCl. Após, incubação dos tubos a 37°C durante 48 h. A leitura dos resultados foi a partir da turvação do caldo, (DROSINOS et al., 2005).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os isolados apresentaram resultados satisfatório quanto a algumas de suas características tecnológicas avaliadas. Ao avaliar a capacidade fermentativa dos isolados de BAL a partir de diferentes fontes de carboidratos, foi observado que somente 2 açúcares não foram metabolizados, sendo eles ramnose e xilose, Tabela 1.

Tabela 1 - Resultados da capacidade fermentação de isolados de bactérias ácido-láticas em diferentes fontes de carboidratos

Carboidratos	Isolados				
	L111	L23	L212	CO5	BA41
Glicose	+	+	+	+	+
Frutose	+	+	+	+	+
Manose	+	+	+	+	+
Sacarose	+	+	+	+	+
Lactose	+	+	+	+	+
Manitol	+	+	+	+	+
Ramnose	-	-	-	-	-
Xilose	-	-	-	-	-

Sinal (+) indica que foi observada fermentação do carboidrato, sinal (-) indica que não foi observada a fermentação do carboidrato.

Fonte: autores 2023.

A realização de ensaios para identificar as diferentes fontes de carbono que as BAL podem utilizar para a produção de ácido lático são necessários, a fim de se elucidar a influência do carboidrato utilizado no rendimento da síntese de ácido lático (LOPES, 2013). Os isolados analisados no presente estudo apresentaram uma capacidade expressiva na utilização de diferentes fontes de carboidratos, 75% dos carboidratos testados foram metabolizados por todos os isolados.

Bhuiyan et al. (2017), avaliaram a capacidade de fermentação de carboidratos de isolados de leite de cabra, e verificaram que todos os isolados foram capazes de metabolizar os seis carboidratos testados dentre eles a xilose, esses resultados diferem dos encontrados no presente estudo. Entretanto a diversidade do metabolismo encontrada pode ser justificada pelo fato de que essas características são cepa dependentes (FREIRE *et al.*, 2021).

A Tabela 2 demonstra os resultados da capacidade de tolerância às concentrações de 3% e 9% de NaCl, também os resultados da tolerância ao pH 3,0 e pH 8,0 dos isolados avaliados.

Tabela 2- Resultados da avaliação de isolados de bactérias ácido-láticas em diferentes concentrações de NaCl e faixas de pH

Isolados	Tolerância a concentração de NaCl		Tolerância a diferentes pH	
	3%	9%	4,5	8,0
L111	+	-	+	+
L23	+	-	+	+
L212	+	-	+	+
CO5	+	-	+	+
BA41	+	-	+	+

Sinal (+) indica que foi observada a multiplicação celular, sinal (-) indica que não foi observada a multiplicação celular.

Fonte: autores 2023.

As BAL têm a capacidade de tolerar determinadas concentrações de NaCl, sendo essa uma característica desejável, tende em vista que o NaCl é frequentemente utilizado como parte da formulação e como aditivo conservante em alimentos (SALVUCCI; LEBLANC; PÉRESZ, 2016). Todos os isolados avaliados no presente estudo apresentaram tolerância a concentração de 3% de NaCl. Em estudo realizado por Poffo e Silva (2011) alguns isolados de pescado foram avaliados quanto a sua tolerância a diferentes concentrações de NaCl, e como resultados observaram que os isolados em questão apresentaram tolerância a concentração de 2,5% de NaCl.

Em relação a tolerância a diferentes pH os isolados do estudo apresentaram capacidade de multiplicação celular tanto em pH ácido (4,5), quando em pH básico (8,0), indicando que podem ser aplicados como culturas fermentadoras tanto em alimentos com um pH inicial perto da neutralidade, como em alimentos mais ácidos. Os resultados obtidos estão de acordo com o comportamento de algumas linhagens de BAL citadas na literatura, segundo Lahtinen et al. (2012) a capacidade de multiplicação das BAL pode ocorrer em pH de 3,8 a 9,8, e algumas linhagens específicas têm a sua multiplicação restrita a faixa de pH 4,0 a 4,5.

4. CONCLUSÕES

Os isolados de BAL avaliados apresentaram propriedades tecnológicas promissoras para a sua aplicação em diversas matrizes alimentares. Ao analisar a tolerância as concentrações de NaCl foi observado que todos os isolados toleraram de 3% de NaCl. Em relação a tolerância a diferentes pH os isolados apresentaram capacidade de multiplicação de tanto em pH 4,5 e 8,0. Além disso foi verificado também a capacidade e metabolizar diferentes fontes de carboidratos. Estes resultados são um indicativo para a aplicação desses isolados em processos fermentativos de produtos com diferentes pH, concentrações mais elevadas de sal, e com diferentes fontes de carboidratos. Por fim, vale ressaltar que mais avaliações quanto ao potencial tecnológico desses isolados devem ser realizadas, como a tolerância a diferentes faixas de temperatura e produção de exopolissacarídeos.

Agradecimentos: Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BHUIYAN, R.; SHILL, S.; ISLAM, A.; CHAKRABORTTY, S. Screening of *Lactobacillus* spp. From raw goat milk showing probiotic activities against pathogenic bacteria. **African Journal of Microbiology Research**, V.11, p.620-625, 2017
- BURNS, P. et al. Technological and probiotic role of adjunct cultures of non-starter lactobacilli in soft cheeses. **Food Microbiology**, v. 30, n. 1, p. 45-50, 2012.
- SALVUCCI, E.; LEBLANC, J. G.; PÉREZ, G. Technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw cereal material. *LWT Food Sci Technol*, v.70, p. 185-191, 2016.
- 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
- FREIRE, T. T.; SILVA, A. L. T.; FERREIRA, B. K. O.; SANTOS, T. M. Lactic acid bacteria characteristics and importance| review. **Research Society and Development**, v. 10, 2021.
- LAHTINEN, S.; OUWEHAND, A. C.; SALMINEN, S.; WRIGHT, A. V. **Lactic Acid Bacteria: microbiological and functional aspects**. 4. ed. Boca Raton, USA: CRC Press, 2012. 798.
- LERAYER, A. L. S. MARASCA, E. T. G. MORENO, I. VIALTA, A. . Culturas lácticas e probióticas: Identificação, classificação, detecção e aplicação tecnológica. in: Oliveira, M. N. **Tecnologia de produtos lácteos funcionais**. São Paulo: Editora Atheneu , p.125 – 186
- LEVIT, R.; SAVOY DE GIORI, G.; DE MORENO DE LEBLANC, A.; LEBLANC, J. G. Recent update on lactic acid bacteria producing riboflavin and folates: application for food fortification and treatment of intestinal inflammation. **Journal of Applied Microbiology**, v. 130, n. 5, p. 1412-1424, 2021.
- 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(2), p.491–495. 2009
- LOPES, A. R. **Prospecção de bactérias lácticas em matriz ambiental**. 2013. 84f. Tese (Doutorado em ciências biológicas) - Curso de Pós-graduação em ciências biológicas- área de concentração microbiologia aplicada. Universidade Estadual Paulista.
- MOJGANI, N.; HUSSAINI, F.; VASEJI, N. Characterization of indigenous lactobacillus strains for probiotic properties. **Jundishapur journal of microbiology**, v. 8, n. 2, 2015.
- 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.
- POFFO, F.; SILVA, M. A. C. Caracterização taxonômica e fisiológica de bactérias acidoláticas isoladas de pescado marinho. **Ciênc Tecnol Aliment**, v.31, n.2, p. 303-307, 2011.