

AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DE BACTÉRIAS LÁTICAS COM SUBSTRATO PREBIÓTICO

Dilliany Adorno de Cerqueira¹; Elisa Teshima²

1. Bolsista PIBIC/CNPq, Graduando em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: dillianyadorno@hotmail.com
2. Orientadora, Departamento de Tecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: eteshima@gmail.com

PALAVRAS-CHAVE: Fibras, *Lactobacillus* sp., crescimento.

INTRODUÇÃO

Atualmente a sociedade tem compreendido que hábitos alimentares saudáveis melhoram a qualidade de vida e isso tem contribuído para o desenvolvimento de uma nova evidência no que se articula a respeito de alimentos funcionais e de seus componentes. Dentro desta categoria de alimentos funcionais, existem aqueles específicos para modulação da microbiota gastrointestinal, os probióticos e prebióticos, que exercem efeitos benéficos à saúde humana.

Os probióticos são alimentos que apresentam microrganismos vivos e quando administrados em quantidade adequada, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2001), sendo os que os gêneros mais utilizados com esta finalidade são *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. Por outro lado, prebióticos são componentes alimentares não digeríveis que afetam benéficamente o hospedeiro, por estimularem seletivamente a proliferação ou atividade dos grupos endógenos de população microbiana desejáveis no cólon (GIBSON e ROBERFROID, 1995). Os prebióticos fazem parte do grupo alimentar de fibras, destacando-se o uso de inulina e oligofrutose, que fornecem carboidratos que as bactérias benéficas do cólon são capazes de fermentar.

Dentre os diversos vegetais que apresentam alto teor de fibras, estão os cladódios de *Opuntia ficus indica*, planta típica do semi-árido conhecida como palma. O extrato seco deste vegetal apresenta elevadas concentrações de fibras totais (28,45% insolúveis e 14,54% solúveis) (SÁENZ et al., 1997), que são constituídas de monômeros residuais de arabinose, galactose, rarnose e xilose em proporções variadas de acordo com o método de extração (SÁENZ et al., 2004). Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar o crescimento de lactobacilos com o extrato seco de palma visando o seu possível uso como ingrediente funcional na indústria de alimentos.

MATERIAL E MÉTODO

Isolamento de *Lactobacillus* sp. e caracterização

O reisolamento de *Lactobacillus* sp. probióticos de origem comercial foi realizado a partir de dois nutracêuticos que continham os seguintes lactobacilos: Jarro-Dophilus®: *L. rhamnosus*, *L. casei*, *L. acidophilus* e *L. plantarum* e Primadophilus®: *L. rhamnosus*, *L. acidophilus* e *L. reuteri*. O produto foi diluído e plaqueado em Agar MRS modificado (0,02% de azul de anilina), seguido da incubação a 35°C por 24-48h. Colônias com características distintas foram selecionadas e submetidas aos testes de catalase, coloração de Gram, caracterização morfológica e fermentação de alguns carboidratos-chave.

Com a pre-caracterização das culturas, utilizou-se o KIT API Ch50, de acordo com as indicações do fabricante, para confirmar a identificação das culturas láticas por meio do perfil de fermentação de carboidratos e a comparação destes com as espécies descritas por Scardovi (1986).

Avaliação do crescimento de *Lactobacillus* sp.

Inicialmente foi avaliado o crescimento de *L. acidophilus* e *L. plantarum* em caldo MRS normal e modificado pela substituição de glicose por 2% do extrato seco de palma, obtido de acordo com a metodologia descrita por NASCIMENTO e TESHIMA (2011). O crescimento foi avaliado por contagem de bactérias viáveis nos tempos 0, 12, 24 e 48 horas de incubação a 37°C.

A espécie de lactobacilos com melhor resposta ao crescimento com o extrato seco de palma foi avaliada novamente, utilizando as concentrações de 2%, 4% e 6% do extrato seco de palma em caldo MRS sem glicose. O crescimento foi avaliado na fase exponencial de crescimento do microrganismo, por meio de contagem de microrganismos viáveis, para determinação da velocidade específica de crescimento, de acordo com Massaguer (2005).

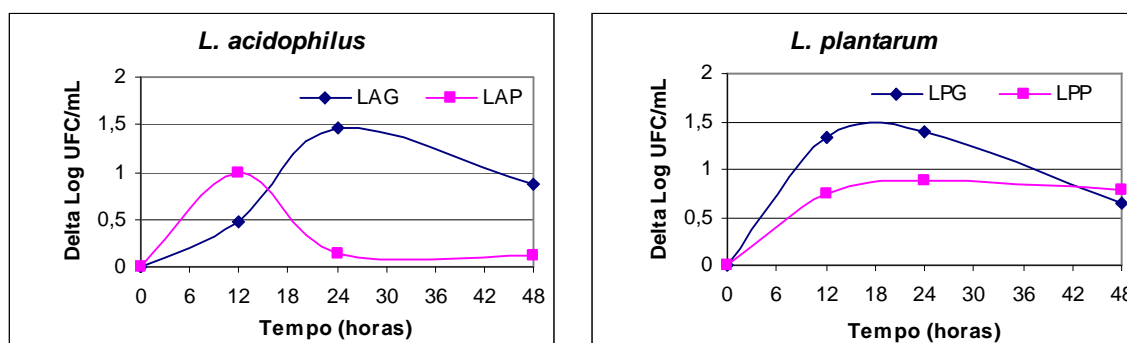
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Isolamento e caracterização

Foram isoladas seis colônias do produto Jarro-Dophilus® e sete colônias do produto Primadophilus® com características diferenciadas quanto ao tamanho, forma, elevação, borda, estrutura, cor e brilho, conforme apresentado por Giraud (1992). Todas as culturas apresentaram-se como Gram positivas e catalase negativas, no entanto apresentaram diferenciação quanto à morfologia na forma de bacilos longos ou curtos ou coco - bacilos. Os resultados da pré-caracterização permitiram a distinção das culturas de *L. acidophilus* e *L. rhamnosus*, no entanto não foi possível diferenciar *L. casei* de *L. plantarum*. As culturas que foram submetidas ao teste de fermentação de carboidratos no KIT API Ch50 permitiram a identificação de *L. casei*, *L. plantarum*, *L. acidophilus* e *L. rhamnosus* cujos resultados estão apresentados na Tabela 1 e estão de acordo com a descrição do perfil de fermentação de carboidratos para as respectivas espécies de lactobacilos, conforme Scardovi (1986).

Crescimento de *Lactobacillus* sp. com extrato seco de palma

A curva de crescimento de *L. acidophilus* e *L. plantarum* em caldo MRS e MRS modificado está apresentada na Figura 1. Verifica-se que ambas as espécies de lactobacilos tiveram um crescimento máximo de 1,5 ciclos Log no caldo MRS com glicose enquanto que na presença do extrato seco de palma, obtiveram o máximo de 1 ciclo Log. No entanto o crescimento máximo para *L. acidophilus* e *L. plantarum* com glicose foi observado com 24 horas e 18 horas, enquanto que com o extrato seco de palma este tempo foi de 12 horas e 18 horas, respectivamente.



Nota: (LAP) - *L. acidophilus* em meio com extrato seco de palma; (LAG) - *L. acidophilus* em meio com glicose; (LPP) - *L. plantarum* em meio com extrato seco de palma; (LPG) - *L. plantarum* em meio com glicose.

Figura 1. Curva de crescimento de *L. acidophilus* e *L. plantarum* em caldo MRS e MRS modificado com extrato seco de palma.

Tabela 1. Perfil de fermentação de carboidratos obtidos no Kit API™ para os isolados de *Lactobacillus* dos produtos nutracêuticos.

Carboidratos	Cultura JDA – <i>L. casei</i>	Cultura PDF – <i>L. acidophilus</i>	Cultura JDB – <i>L. rhamnosus</i>	Cultura JDD – <i>L. plantarum</i>
1-Glicerol	-	-	-	-
2-Eritritol	-	-	-	-
3-D-Arabinose	-	-	-	-
4-L-Arabinose	-	-	-	+
5-Ribose	+	-	+	+
6-D-Xilose	-	-	-	-
7-L-Xilose	-	-	-	-
8-Adonitol	(+)	-	-	-
9-β-Metil-Xilosídeo	-	-	+	-
10-Galactose	+	+	+	+
11-D-Glicose	+	+	+	+
12-D-Frutose	+	+	+	+
13-D-Manose	+	+	+	+
14-L-Sorbose	+	+	+	+
15-Ramnose	-	-	+	-
16-Dulcitol	-	-	-	-
17-Inositol	-	-	-	-
18-Manitol	+	+	+	+
19-Sorbitol	+	+	+	+
20-α-Metil D-Manosídeo	-	-	-	+
21-α-Metil D-Glucosídeo	(+)	-	+	-
22-N-Acetil-Glucosamina	+	+	+	+
23-Amigdalina	+	+	(+)	+
24-Arbutina	+	+	+	+
25-Esculina	+	+	+	+
26-Salicina	+	+	(+)	+
27-Celobiose	+	+	(+)	+
28-Maltose	+	+	+	+
29-Lactose	+	+	+	+
30-Melibiose	-	-	-	+
31-Sacarose	+	+	+	+
32-Trealose	+	+	+	+
33-Inulina	+	+	-	-
34-Melezitose	+	+	+	+
35-D-Rafinose	-	+	(+)	+
36-Amido	-	-	-	-
37-Glicogênio	-	-	-	-
38-Xilitol	-	-	-	-
39-β-Gentibiose	(+)	+	+	+
40-D-Turanose	+	+	+	+
41-L-Lixose	-	-	-	-
42-D-Tagatose	+	-	+	(+)
43-D-Fucose	-	-	-	-
44-L-Fucose	-	-	-	-
45-D-Arabitól	-	-	-	-
46-L-Arabitól	-	-	-	-
47-Gluconato	(+)	(+)	(+)	+
48-2-Ceto-Gluconato	-	-	-	-
49-5-Ceto-Gluconato	+	-	-	-

Para processos de fermentação a nível industrial, é interessante a obtenção de maior concentração de biomassa em menor tempo, o que foi observado para *L. acidophilus* com a

adição de 2% de extrato seco de palma, embora o acúmulo de ácido láctico tenha reduzido a viabilidade desses microrganismos. Estudos realizados por Yahia et al. (2009) verificaram o crescimento de *L. acidophilus* em caldo MRS com a adição de 1% de mucilagem da palma e não foi observado diferença no crescimento em 24 horas, quanto comparado com a glicose. Essa diferença observada entre os resultados pode ser devido ao uso de estirpes diferentes de *L. acidophilus* ou no processo de obtenção do extrato seco da palma.

Como *L. acidophilus* apresentou maior velocidade de crescimento com o extrato de palma, determinou-se a velocidade de crescimento deste microrganismo com 4% e 6% de extrato de palma, cujos resultados estão apresentados na Tabela 2. De acordo com resultados obtidos, verificou-se que o aumento das concentrações do extrato seco da palma não proporcionou o aumento da velocidade de crescimento de *L. acidophilus*.

Tabela 2. Velocidade de crescimento de *L. acidophilus* em diferentes concentrações de extrato seco de palma.

Porcentagem de adição do extrato seco de palma em caldo MRS	Equação de regressão linear	Valor de R ²	Velocidade específica de crescimento (h ⁻¹)
2%	$y = 0,109x + 0,0803$	R ² = 0,9776	0,25
4%	$y = 0,0431x + 0,0902$	R ² = 0,9689	0,10
6%	$y = 0,0165x - 0,012$	R ² = 0,75	0,04

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo realizado permitiu observar que o extrato seco de cladódios de *Opuntia ficus indica* promove um ligeiro estímulo no crescimento de *Lactobacillus acidophilus*, no entanto o aumento da concentração do extrato não aumentou a resposta à sua velocidade de crescimento. Novos estudos serão realizados para avaliação do efeito prebiótico sobre outras bactérias lácticas, uma vez que o extrato apresenta características inovadoras para o uso como ingrediente funcional.

REFERÊNCIAS

- FAO/WHO - Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization. Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Córdoba, 2001. Acesso em: 20 de janeiro de 2011. Disponível em: <<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/a0512e/a0512e00.pdf>>.
- GIBSON, G.R.; ROBERFROID, M.B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.*, v.125, p.1401-1412, 1995.
- GIRAUD, E. Contribution a l'étude physiologique et enzymologique d'une nouvelle souche de *Lactobacillus plantarum* amylolytique isolée du manioc fermenté. 1992. 139 p. Thèse, Université de Provence aix-Marseille.
- NASCIMENTO, K. F.; TESHIMA, E. Caracterização físico-química de cladódios de *Opuntia ficus-indica* in natura e na forma de extrato seco. Relatório de Iniciação Científica. Feira de Santana, 32 p.
- MASSAGUER, P.R. Microbiologia dos processos alimentares. Livraria Varela, São Paulo, 258 p., 2005.
- SÁENZ, C. Cladodes: a source of dietary fiber. *J. PACD*. p.117-123, 1997.
- SÁENZ, C.; SEPÚLVEDA, E.; MATSUHIRO, B. *Opuntia* spp. mucilage's: a functional component with industrial perspectives. *Journal of Arid Environments*. v. 57, p. 275-290, maio de 2004.
- SCARDOVI, V. Irregular Nonsporing Gram-positive Rods. In: BERGEY'S Manual of Systematic Bacteriology, 9 ed., Baltimore, Williams and Wilkins, 1986.
- YAHIA, E.M., ORNELAS, J.J., ANAYA, A. Extraction and chemical characteristics of mucilage from Mesquite, Aloe vera, Manguey and Prickly pear cactus cladodes (Nopal) and evaluation of its prebiotic effect on the growth of 2 probiotic bacteria. *Acta Hort. (ISHS)*, v.841, p.625-628, 2009 <http://www.actahort.org/books/841/841_98.htm>