

## AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DE *BIFIDOBACTERIUM* COM SUBSTRATO POTENCIALMENTE PREBIÓTICO

**Dilliany Adorno de Cerqueira<sup>1</sup>; Elisa Teshima<sup>2</sup>**

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@uefs.br

**PALAVRAS-CHAVE:** *Bifidobacterium*, Frutooligossacarídeo, Inulina.

### INTRODUÇÃO

Os alimentos funcionais são todos os alimentos ou bebidas que, consumidos na alimentação cotidiana, podem trazer benefícios fisiológicos específicos, graças à presença de ingredientes fisiologicamente saudáveis (CÂNDIDO & CAMPOS, 2005). Dentre esses alimentos existem os probióticos e os prebióticos que são aqueles específicos para a modulação da microbiota gastrointestinal e consequente obtenção de efeitos benéficos locais ou sistêmicos no organismo humano, que servem para manter ou melhorar a microbiota intestinal normal (TESHIMA, 2001).

Os probióticos são alimentos que apresentam microrganismos vivos, não digeríveis e quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2001; SANDERS, 2003), sendo que um dos gêneros mais utilizados com esta finalidade são *Bifidobacterium* spp.

Estudos recentes indicam que a eficácia dos probióticos pode ser potencializada pela presença de substrato necessário para a fermentação colônica e desenvolvimento de suas funções metabólicas. Isto inclui o conceito de prebióticos, que são componentes alimentares não digeríveis que afetam benéficamente o hospedeiro, por estimularem seletivamente a proliferação ou atividade dos grupos endógenos de população microbiana, tal como *Bifidobacterium*, desejáveis no cólon (GIBSON e ROBERFROID, 1995). Os prebióticos fazem parte do grupo alimentar de fibras, destacando-se o uso de inulina e oligofruose, que fornecem carboidratos que as bactérias benéficas do cólon são capazes de fermentar. Portanto este trabalho tem o objetivo de avaliar o crescimento de diferentes espécies de *Bifidobacterium* com inulina e frutooligossacarídeo visando o seu possível uso como ingrediente funcional na indústria de alimentos.

### MATERIAL E MÉTODO

#### **Isolamento de *Bifidobacterium* e caracterização**

O isolamento da *Bifidobacterium* de origem comercial foi realizado a partir de um produto probiótico nutracêutico - Bifidus Balanfe® - que continham as seguintes espécies: *B. breve*, *B. bifidum*, *B. longum* e *B. lactis*. O produto foi diluído e plaqueado em Agar MRS modificado (0,02% de azul de anilina e 5% de L-cisteína), seguido de incubação a 37°C por 24-48h em sistema anaeróbico fornecido pela jarra de anaerobiose e gerador de anaerobiose. Colônias com características distintas foram selecionadas e submetidas aos testes de catalase, coloração de Gram, caracterização morfológica e fermentação de alguns carboidratos-chave.

Após a pré-caracterização das culturas, empregou-se o kit API CH50 (Biomeriux - França) em cada isolado, utilizando a metodologia descrita em TESHIMA (2001), para obter o perfil de fermentação de carboidratos para cada cultura.

### Avaliação do crescimento de *Bifidobacterium*

A avaliação do crescimento das quatro diferentes espécies de *Bifidobacterium* foi realizada em caldo MRS com adição de 0,05% de L-cisteína, para reduzir o potencial de oxirredução do meio, modificado de duas diferentes formas, substituindo-se 2% de glicosado meio de cultura por 2% de xarope de frutooligossacarídeo Ensuiko Sugar Refining® (FOS) e por 2% de Inulina de *Agave tequilana* (INU).

O crescimento foi avaliado por determinação de pH nos tempos 0, 12, 24 e 48 horas de incubação a 37°C em sistema anaeróbico.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Isolamento de *Bifidobacterium* e caracterização

Todos os isolados apresentaram coloração de Gram positiva, teste de catalase negativo e morfologia de bacilos ou coco-bacilos, com algumas células pleomórficas em V ou Y, típicas do gênero. O perfil de fermentação de carboidratos obtidos no kit API CH50, está apresentado no Quadro 1. De acordo com o perfil de fermentação de carboidratos obtido para as culturas isoladas e analisadas com a descrição fenotípica de Scardovi (1986), pode-se confirmar que há quatro diferentes espécies de *Bifidobacterium* a saber: *B. breve*, *B. bifidum*, *B. longum* e *B. lactis*.

Quadro 1 - Perfil de fermentação de carboidratos obtidos no Kit API™ para os isolados de *Bifidobacterium*.

Carboidratos	<i>B. bifidum</i>	<i>B. breve</i>	<i>B. lactis</i>	<i>B. longum</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	(+)	(+)	(+)	-

### Avaliação do crescimento de *Bifidobacterium*

O crescimento de *B. breve*, *B. bifidum*, *B. longum* e *B. lactis* em caldo MRS modificado pela adição de 2% (p/v) de frutooligossacarídeo (FOS) e inulina (INU) está apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Valores de pH durante o crescimento de Bifidobacteria com Inulina e FOS

Tempo	<i>B. bifidum</i>		<i>B. breve</i>		<i>B. lactis</i>		<i>B. longum</i>	
	INU	FOS	INU	FOS	INU	FOS	INU	FOS
0	5,19	5,32	5,06	5,41	5,76	5,79	5,29	5,47
12	4,02	5,38	4,01	5,52	4,05	5,55	4,70	5,27
24	3,66	4,54	3,89	4,57	4,37	4,36	4,30	4,44
48	3,42	3,50	3,30	3,62	4,03	3,58	3,51	3,64

Os valores de pH estão associados quantidade de hidrogênios ionizáveis no meio durante o crescimento do microrganismo. Bifidobacteria produz ácido acético e láctico (3:1) como produto metabólico, e, portanto pode-se associar que quanto maior crescimento dessas estirpes, maior produção desses ácidos e menor obtenção do pH final.

A partir desses resultados de pH foi verificado que com frutooligossacarídeo e inulina as cepas tem um maior crescimento durante a incubação reduzindo o pH a valores em torno de 3,0. Verifica-se que houve variação entre as espécies de bifidobacteria avaliadas bem como com o tempo de fermentação. Verifica-se que para as espécies *B. bifidum* e *B. breve*, estas

apresentam maior preferência pela utilização de inulina que frutooligossacarídeo, uma vez que o valor do pH foi diminuído em 24h de fermentação, quanto comparado com 48h de fermentação com inulina.

### **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O estudo realizado permitiu observar que os substratos inulina e frutooligossacarídeo promovem um estímulo no crescimento de *Bifidobacterium*, confirmando que estes compostos são prebióticos.

### **REFERÊNCIAS**

- CANDIDO, L. M. B.; CAMPOS, A. M. 2005. Alimentos funcionais. Uma revisão. Boletim da SBCTA. v. 29, n. 2, p. 193-203.
- FAO/WHO-Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization. 2001. Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. 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. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. J. Nutr., v.125, p.1401-1412.
- SANDERS, M.E. 2003. Probiotics: considerations for human health. Nutr. Rev., New York, v.61, n.3, p.91-99.
- SCARDOVI, V. 1968. Irregular Nonsporing Gram-positive Rods. In: BERGEY'S Manual of Systematic Bacteriology, 9 ed., Baltimore, Williams and Wilkins.
- TESHIMA, E. 2001. Seleção de bactérias bífidas isoladas de lactentes e modulação da microbiota intestinal por meio de probiótico, prebiótico e simbiótico. 113p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.