

ISOLAMENTO DE LINHAGENS DE BACTÉRIAS LÁTICAS DE PRODUTOS VEGETAIS PROVENIENTE DA REGIÃO DO SEMI-ÁRIDO BAIANO, VISANDO A SUA UTILIZAÇÃO EM PROCESSOS BIOTECNOLÓGICOS.

Ana Paula ALMEIDA¹, Elinalva Maciel PAULO² Isabella Santos ARAUJO³, Danielza Souza da Silva de JESUS⁴, Mahysa FERREIRA⁵

¹ Bolsista PROBIC/UEFS, Graduanda do curso de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, email: annap_1193@hotmail.com

² Orientadora: Docente do Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, email: elinalvamaciel@yahoo.com.br

³ Participante do projeto, Estudante de Doutorado em Biotecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, email: araujo_isabella@yahoo.com.br

⁴ Participante do projeto, Graduanda do curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Feira de Santana, email: danily_jesus@hotmail.com

⁵ Participante do projeto, Graduanda do curso de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, email: mahysaferreiracosta@yahoo.com.br

Palavras chave: Bactérias láticas, isolamento bacteriano, semi-árido.

Introdução

A região do semiárido baiano é considerada um ambiente extremófilo, contendo uma vasta biodiversidade de micro-organismos. Dentre eles destacam-se os micro-organismos pertencentes ao grupo das bactérias láticas. Estas possuem potencial biotecnológico de grande interesse industrial (PAULO, 2010).

A importância de tais bactérias reside no fato da maioria delas serem seguras para consumo humano, não causando enfermidades aos consumidores, razão pelo qual são bastante utilizadas como culturas iniciadoras em alimentos fermentados, como produtos probióticos, bioconservantes de alimentos e como inibitórios de patógenos causadores de infecção alimentar (PAULO, 2010).

Atualmente, tem surgido uma tendência para selecionar linhagens selvagens de produtos tradicionais, a fim de que elas sejam usadas como culturas "starters" em processos de fermentação. A razão para isso poderia ser que culturas puras selvagens isoladas de alimentos fermentados tradicionais e ambientes considerados extremófilos divergem fortemente de cepas utilizadas como iniciadoras, em termos de diversidade de atividades metabólicas. As linhagens isoladas a partir da fermentação tradicional de substratos de ambientes considerados extremófilos são bem adaptadas a estes substratos, crescendo de forma rápida e eficiente, garantindo assim, uma cultura "starter" bem selecionada para a elaboração de produtos fermentáveis de excelente qualidade, o que justifica o isolamento de linhagens de bactérias láticas da região do semi-árido baiano, região esta, caracterizada como ambiente extremófilo.

Materiais e métodos

Foi utilizado o caldo de cana como substrato para isolamento das BAL. A amostra foi coletada em feira-livre localizada na cidade de Feira de Santana-BA, uma cidade integrante do semi-árido baiano. Todos os procedimentos de coleta e transporte da amostra foram realizados de forma asséptica.

Isolamento e caracterização morfo-fisiológica dos isolados de Bactérias Láticas

O isolamento das BAL procedeu-se de acordo com PAULO (2010), onde foi utilizado o meio DE MAN, ROGOSA e SHARPE - MRS (1960).

Inicialmente realizaram-se testes preliminares de identificação de bactérias lácticas que consistiu em: coloração de Gram, teste da catalase e redução do nitrato a nitrito. Em seguida, realizaram-se alguns testes de caracterização bioquímica dos isolados: produção de gás a partir da glicose; lactofermentação a 15°C, 35°C e 45°C; tolerância bacteriana ao cloreto de sódio em diferentes concentrações (4%, 6% e 8%); produção de amônia a partir da arginina; fermentação de diferentes carboidratos (CHAVES, 1999). Todos os testes foram realizados em triplicatas.

Resultados e Discussões

Isolados que apresentaram como Gram-positivos, catalase negativa e não reduziu o nitrato a nitrito, foram considerados como pertencente ao grupo das bactérias lácticas.

Os 26 isolados obtidos, apresentaram a morfologia de cocos e cocobacilos, sendo Gram-positivos, catalase negativa, não apresentando endósporos, tais características condizentes com o grupo das bactérias lácticas. Todos os isolados foram preservados no meio LEL (leite extrato de levedura) (Paulo, 2010) para a realização de outros testes posteriores. De acordo com os critérios de CHAVES (1999), no teste de produção de gás a partir da glicose, 35% dos isolados foram considerados homofermentativos por não produzirem gás e 65% foram consideradas heterofermentativas por produzirem gás.

No teste de lactofermentação apresentado na tabela 1, observa-se que dos 26 isolados, 24 cresceram a 35°C, apesar de todos os integrantes do grupo das bactérias lácticas serem considerados essencialmente mesófilicos. Existem linhagens bacterianas pertencentes a este grupo que não metaboliza a lactose, razão pelo qual os isolados CC5 e CC18 não terem se desenvolvidos a 35°C no teste de lactofermentação cujo substrato é leite. Nas demais temperaturas houve variação dos isolados com relação ao crescimento neste substrato; crescimento a 15°C e a 45°C, crescimento a 15°C, mas não a 45°C, crescimento a 45°C, mas não a 15°C e também casos em que não houve crescimento nem a 15°C e nem a 45°C. Também neste teste de lactofermentação (Tabela 1) foram observadas algumas características importantes para identificação dessas bactérias lácticas, estas características referem-se ao aspecto do meio LDR 10% após o crescimento dessas bactérias, características, como produção de soro, aspecto do coágulo (firme ou caseínoso) e produção de gás nas diferentes temperaturas. As informações de crescimento das bactérias lácticas no leite é importante para a escolha da linhagem que devera ser utilizada na elaboração dos tipos de produtos derivados de leite fermentado.

TABELA 1: Forma dos microrganismos e capacidade de coagulação do leite em diferentes temperaturas.

Amostra	Forma	Lactofermentação		
		15°C	35°C	45°C
CC1	Cocobacilos	-	+	+
CC2	Cocobacilos	+	+	-
CC3	Cocobacilos	+	+	-
CC4	Cocos	+	+	+
CC5	Cocobacilos	-	-	-
CC6	Cocobacilos	-	+	-
CC7	Cocobacilos	-	+	+
CC8	Cocobacilos	+	+	-
CC9	Cocobacilos	+	+	+
CC10	Cocobacilos	+	+	-
CC11	Cocobacilos	+	+	-

CC17	+	-	+	+	+	+	+	-
CC18	-	-	-	-	-	-	-	-
CC19	+	-	+	+	+	+	+	-
CC12	Cocobacilos		+		+		+	
CC13	Cocobacilos		+		+		-	
CC14	Cocobacilos		+		+		+	
CC16	Cocobacilos		+		+		-	
CC17	Cocobacilos		-		+		+	
CC18	Cocobacilos		-		-		-	
CC19	Cocobacilos		+		+		+	
CC20	Cocobacilos		+		+		-	
CC21	Cocobacilos		-		+		+	
CC22	Cocobacilos		+		+		+	
CC23	Cocobacilos		+		+		+	
CC24	Cocobacilos		+		+		-	
CC25	Cocos		-		+		+	
CC26	Cocobacilos		+		+		+	
CC27	Cocos		-		+		+	

O teste de tolerância bacteriana ao cloreto de sódio (NaCl) demonstrou que todos os isolados cresceram a 4 %, e a 6% e 81% dos isolados cresceu a 8%. Segundo POFFO (2011), as taxas de crescimento de algumas bactérias tendem a aumentar com o aumento da concentração salina, podendo estas bactérias serem consideradas como micro-organismos halófilicos

No teste da produção da amônia pela arginina, apenas 3 isolados deram resultados positivos.

. A capacidade das culturas de fermentar diferentes carboidratos foi testada como descrita por DAVIS (1955). Os resultados obtidos (Tabela 2) foram interpretados segundo BERGAN (1984).

TABELA 2: Fermentação de diferentes carboidratos.pelos isolados de bactérias lácticas provenientes de substratos da região do semiárido baiano.

Amostras	A	B	C	D	E	F	G	H
CC1	+	-	+	+	+	+	+	-
CC2	+	-	+	+	+	-	+	-
CC3	+	-	+	+	+	+	+	-
CC4	+	-	+	+	+	+	+	-
CC5	-	-	+	+	-	-	+	-
CC6	-	-	+	+	-	-	+	-
CC7	-	-	+	+	-	-	+	-
CC8	+	-	+	+	+	+	+	-
CC9	+	-	+	+	+	+	+	-
CC10	+	-	+	-	+	+	+	-
CC11	+	-	+	+	+	+	+	-
CC12	+	-	+	+	+	+	+	-
CC13	+	-	+	+	+	+	+	+
CC14	+	-	+	+	+	+	+	+
CC16	+	-	+	+	+	+	+	+

CC20	+	-	+	+	+	+	+	-
CC21	-	-	+	+	-	-	+	-
CC22	+	-	+	-	+	+	+	-
CC23	+	-	+	+	+	+	-	+
CC24	+	-	+	-	+	+	+	-
CC25	-	-	+	+	+	-	+	-
CC26	+	-	+	+	+	+	+	-
CC27	-	-	+	+	+	-	+	-

A. Manitol, B. Arginina, C. Trealose, D. Arabinose, E. Lactose, F. Sorbitol, G. Esculina, H. Amido.

De acordo com os resultados obtidos nos testes preliminares realizados neste experimento pode-se inferir que os isolados pertencem aos gêneros *Leuconostoc* (*Leuconostoc mesenteroides* [CC01, CC02, CC03, CC04, CC08, CC09, CC11, CC12, CC13, CC14, CC16, CC17, CC19, CC20, CC23, CC26], *Leuconostoc paramesenteroides* [CC05, CC06, CC07, CC09], *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *Dextranicum* [CC10, CC22, CC24]) e *Lactococcus* (*Lactococcus lactis* [CC25, CC27]). Porém, falta realizar a identificação pelo método molecular para se chegar a um resultado mais preciso. O fato desses isolados terem sido provenientes da região do semi-árido, ambiente este considerado extremófilo, o seu metabolismo provavelmente se torna diferenciado por estarem em um ambiente inóspito a sua sobrevivência. Assim, podemos inferir que as bactérias lácticas isoladas da região do semi-árido poderão fornecer metabólitos de grande interesse biotecnológico.

Conclusão

O isolamento de linhagens de bactérias lácticas de substratos de uma região extremófila, como é o caso da região semiárida baiana, pode representar uma excelente fonte de obtenção de variedades de micro-organismo de grande aplicabilidade tecnológica.

Agradecimento: Universidade Estadual de Feira de Santana/LAMASP, Fundação de Amparo a pesquisa do Estado da Bahia- FAPESB.

Referências

- BERGAN, T. Methods in Microbiology. Vol 16, Academic Press. London, 1984.
- CHAVES, A. H. et al. Isolamento de *Lactobacillus acidophilus* a Partir de Fezes de Bezerros. Rev. bras. zootec., v.28,n.5, p.1086-1092, 1999.
- DAVIS, G. H. The classification of lactobacilli from the human mouth. Journal of General Microbiology, 13: 481-93, 1955.
- PAULO, E. M. Produção de exopolissacarídeos (EPS) por bactérias lácticas visando microencapsulação de *Lactobacillus acidophilus* La-5 pelo processo de Spray drying. 2010. Tese 212f. (Doutorado em Biotecnologia), Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2010.
- POFFO, F. SILVA, Marcus A. C. Caracterização taxonômica e fisiológica de bactérias ácido-lácticas isoladas de pescado marinho. Cienc. Tecnol. Aliment., Campinas, 31(2): 303-307, abr.-jun. 2011
- SHARPE, E. M. Taxonomy of the lactobacilli. Dairy Science Abstracts, 24(3): 109-19, 1962.