

AValiação DA VIABILIDADE E DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE UMA CULTURA DE BACTÉRIA LÁCTICA SUBMETIDA AO PROCESSO DE MICROENCAPSULAÇÃO

Ingrid Emerim, Amanda de Souza da Motta

Instituto de Ciências Básicas da Saúde - Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia – UFRGS

INTRODUÇÃO

A produção de substâncias antimicrobianas produzidas naturalmente por bactérias lácticas, presentes no leite, tem assumido grande importância na investigação de novos compostos bioativos, bem como no estudo de novas culturas produtoras. Ainda, as tecnologias de encapsulação e microencapsulação têm surgido como novas ferramentas a serem empregadas na área de alimentos, buscando proteger as substâncias bioativas e culturas de bactérias, respectivamente, das condições adversas do meio, primando-se pela manutenção das suas propriedades e funcionalidade. Neste sentido o estudo de novas culturas de bactérias lácticas com propriedades importantes de serem exploradas passou a ser objeto desta pesquisa, buscando-se conhecer características de novos isolados para potencial aplicação em alimentos.

OBJETIVOS

Este trabalho objetivou utilizar uma cultura de bactéria láctica isolada de leite cru de búfala já selecionada por seu espectro de ação frente a microrganismos patogênicos e deteriorantes de alimentos. Neste estudo buscou-se:

- Identificar a cultura de bactérias láctica através de provas bioquímicas, para caracterização preliminar;
- Observar sua capacidade de ser microencapsulada em sistema de alginato de sódio;
- Confirmar a manutenção das suas propriedades antimicrobianas, com a cultura livre e encapsulada;
- Avaliar o potencial de acidificação da cultura de bactérias láctica;
- Aplicar a cultura livre e encapsulada em alimento.

MATERIAIS E MÉTODOS

▪ **Identificação do isolado:** A cultura de bactéria láctica chamada de LB6.8 foi identificado preliminarmente através de vários testes: coloração de Gram (formação de tetrada), prova da catalase, verificação da presença de CO₂ da glicose, crescimento a 10°C e 45°C, avaliação do crescimento em pH 4.4 e 9.6, avaliação do crescimento em concentrações de NaCl de 6,5% e 18%.

▪ **Teste de micro-encapsulação:** A cultura foi cultivada em caldo MRS e misturada com uma solução de alginato de sódio 2%. A mistura foi transferida para seringas com agulhas de 0,45mm de diâmetro e ejetadas lentamente em uma solução de cloreto de cálcio 0,05M suplementado com Tween 80, 0,1%. As micro-cápsulas obtidas foram avaliadas para manutenção da contagem das células da cultura livre e micro-encapsuladas expressas em unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/ml).

▪ **Teste de atividade antimicrobiana:** Foi empregada a metodologia da sobrecamada, empregando as culturas de *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076, *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Nas placas foram inoculados em quadruplicata a cultura livre e a cultura encapsulada. Após o crescimento foram feitas medições dos halos de inibição (mm).

▪ **Desempenho da cultura em leite pasteurizado:** Foi aplicada a cultura encapsulada e livre, em leite bovino pasteurizado e avaliou-se a acidificação do leite comparativamente com *culturas starters*. Este experimento foi acompanhado por 72 horas.

RESULTADOS

▪ **Identificação do isolado**

Tabela 1. Resultado das provas bioquímicas realizadas em meio caldo MRS e ágar BHI somente para crescimento a 10° e 45°C.

Característica	Bactéria LB6.8 em meio caldo MRS	Bactéria LB6.8 em meio ágar BHI
Formação CO ₂ a partir da glicose	-	-
Crescimento a 10°C	-	-
Crescimento a 45°C	+	+
Crescimento em 6,5% NaCl	+	-
Crescimento em 18% NaCl	-	-
Crescimento em pH 4.4	-	-
Crescimento em pH 9.6	+	-

Legenda: (+) houve crescimento e (-) não houve crescimento.

RESULTADOS

O isolado apresentou o perfil de bacilo Gram-positivo, e catalase negativo, com características de cultura de bactéria ácido láctica. Juntamente com os resultados bioquímicos o isolado foi sugerido como pertencente ao gênero *Lactobacillus* sp.

▪ **Microencapsulação da cultura LB6.8**

Tabela 2. Resultados das microencapsulações: média das contagens após 24 horas de encapsulação.

Isolado	LB 6.8
Cultura livre	5,58 x 10 ⁸ UFC/ml
Cultura encapsulada	4,78 x 10 ⁶ UFCL/ml

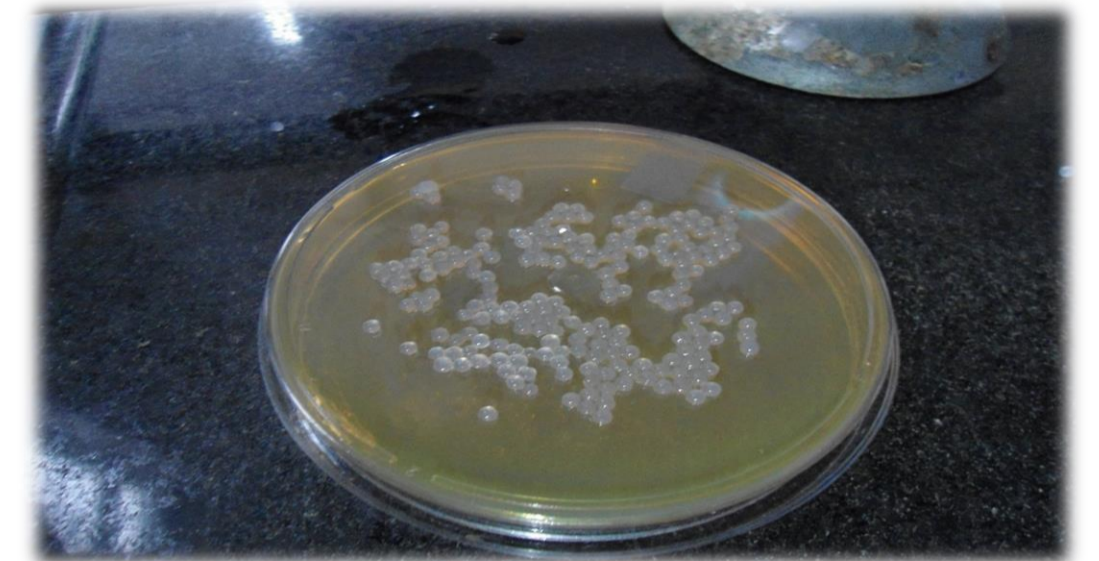


Figura 1. Isolado em microcápsulas.

Nas avaliações pós micro-encapsulação, empregando o teste da sobrecamada, foi observado efeito antimicrobiano frente a *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Enteritidis, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, sendo também observado efeito antimicrobiano com a mesma cultura na forma livre.

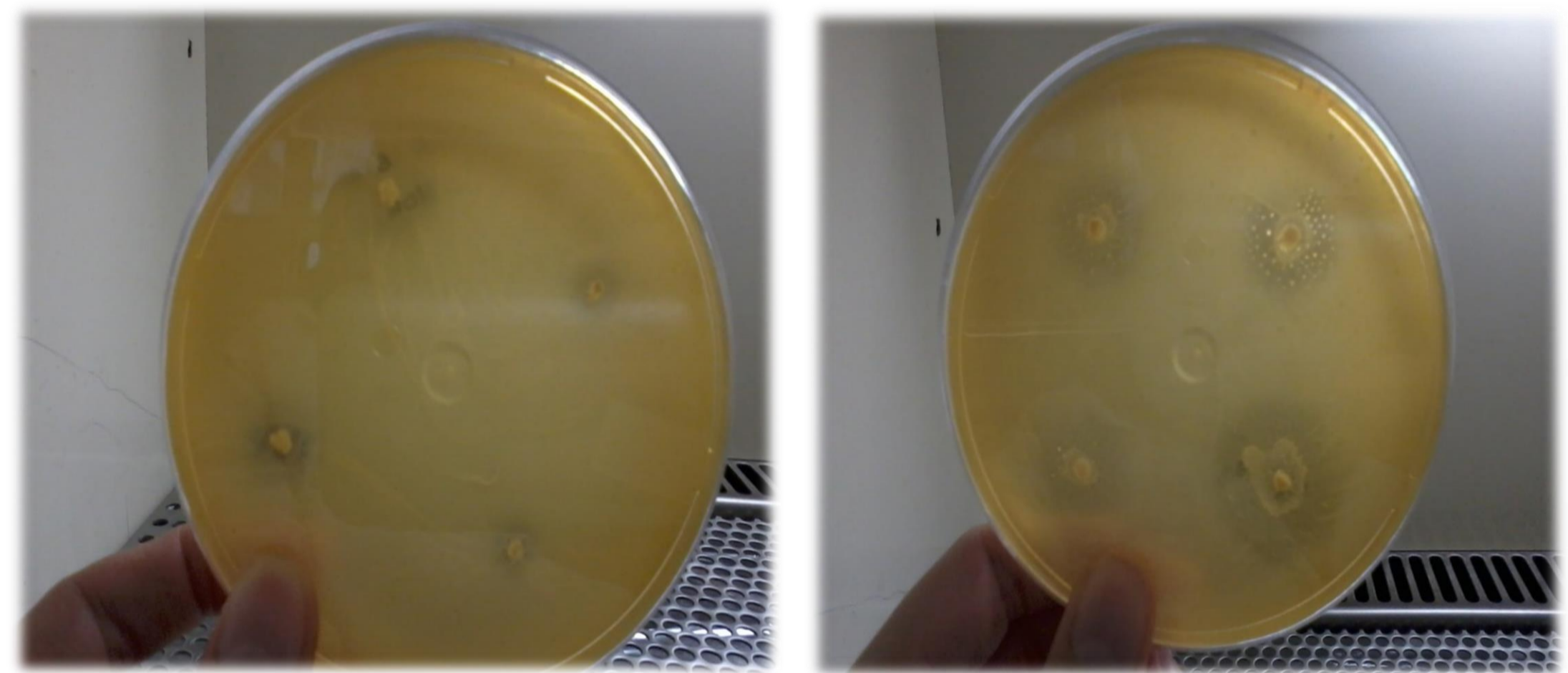


Figura 2 e 3. Teste de sobrecamada realizado com cultura encapsulada (1) e livre (2) utilizando *Escherichia coli* ATCC 25922 como cultura indicadora.

▪ **Avaliação do teste em leite pasteurizado**

Tabela 3. Acidificação do leite nas amostras com cultura livre e encapsulada ao longo de 72 horas.

Verificação do pH em	Tempo após inóculo das culturas no leite (horas)				
	1	6	24	48	72
Leite + água estéril	7	7	7	7	6,5
Leite + cultura livre	7	6,1	6,1	6,1	5,8
Leite + microcápsulas	7	7	6,5	6,1	5,8
Leite + cultura starter	7	4,4	4,4	4,4	4



Figura 4. Amostras de leite apresentando-se coaguladas após 72 horas de inóculo de cultura livre e encapsulada.

CONCLUSÕES

Através da aplicação da microencapsulação, pode-se observar a capacidade de retenção da cultura de BAL nas cápsulas formadas, sendo liberadas ao longo do tempo, o que é desejado considerando o que esta tecnologia propõe, que é a proteção das culturas do ambiente adverso, considerando as condições de processamento dos alimentos. Dentre os isolados testados, a inibição de bactérias patogênicas, evidencia a importância do potencial antimicrobiano deste isolado seja na forma livre ou micro-encapsulada.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Fapergs pela concessão da bolsa de Iniciação Científica, ao Laticínio Kronhardt pelo fornecimento das amostras de leite para o isolamento das culturas usadas neste trabalho.