

CULTIVO DE *Lactobacillus plantarum* EM MEIO ALTERNATIVO FORMULADO COM MELAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR SUPLEMENTADO

PREICHARDT, Leidi D.¹; HENTZ, Renata²; SAWITSKI, Maristela C³, SILVA,
Wladimir P.⁴; FIORENTINI, Ângela M.⁴

¹Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial – UFPel – preichardt_leidi@yahoo.com.br

²Curso de Química Industrial de Alimentos – DECVida - Unijuí – re_hentz@yahoo.com.br

³Curso de Farmácia – Campus Uruguaiana - Unipampa – maristelacs@hotmail.com

⁴Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial – UFPel – -angefiore@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Lactobacillus plantarum faz parte do grupo das bactérias ácido láticas que tem como principal produto do metabolismo dos carboidratos o ácido láctico, capaz de inibir o crescimento de organismos causadores de deterioração ou produtores de toxina. Este micro-organismo é aplicado em diversos alimentos como cultura iniciadora, pois confere sabor e melhora a conservação de produtos como embutidos cárneos (BORDIGNON JUNIOR et al., 2010; JAY, 2005; SAWITZKI et al., 2009). Este efeito é potencializado quando os micro-organismos são isolados da microbiota natural de produtos tradicionais como é o caso da bactéria *Lactobacillus plantarum* AJ2, isolada de embutidos cárneos da região Fronteira Noroeste do estado do Rio Grande do Sul (SAWITZKI et al., 2009).

Para viabilizar a obtenção de culturas iniciadoras é necessário o desenvolvimento de meios de culturas de baixo custo que garantam um bom rendimento na multiplicação das bactérias, tendo em vista que o custo dos meios comerciais inviabiliza este processo. Vários subprodutos e matérias-primas da indústria de alimentos e/ou da agroindústria têm sido empregados para o crescimento de micro-organismos pela alta disponibilidade e baixo custo. Além do baixo custo, a utilização de resíduos industriais tem tido grande interesse devido ao apelo ecológico. Soro de leite, água de maceração de milho, xarope de milho, levedura de destilaria e melaços são alguns exemplos de resíduos industriais que podem ser utilizados como meio de cultivo (LITCHFIELD, 1996; VALDUGA et al., 2007). Dentre eles, os melaços destacam-se nos processos fermentativos, em virtude do alto teor de açúcares, nitrogênio e vitaminas (OLIVEIRA et al., 2009).

O objetivo deste trabalho foi a produção de biomassa do cultivo de *Lactobacillus plantarum* AJ2 em meio alternativo de melaço de cana-de-açúcar suplementado.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada nos laboratórios de físico-química e microbiologia da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – UNIJUÍ. As bactérias *Lactobacillus plantarum* utilizadas no estudo foram isoladas de embutidos naturalmente fermentados na Região Fronteira Noroeste do RS (SAWITZKI, 2007). O melaço de cana-de-açúcar foi obtido junto a Agroindústria Cooper Tereza do município de Campinas das Missões, RS.

Quatro meios alternativos, denominados de meios A, E, J e H foram submetidos ao processo fermentativo, assim como o meio comercial MRS. Os referidos meios alternativos foram formulados a partir de diferentes combinações com relação aos teores de carbono e nitrogênio, sendo utilizadas concentrações

que variaram de 2% a 10% de melaço de cana-de-açúcar, de 0% a 4% de matérias-primas proteicas com teor de proteína de 7,5% e 12,5%. Cabe ressaltar que o meio denominado E não foi suplementado com nenhuma fonte de nitrogênio, sendo formulado apenas com melaço de cana-de-açúcar.

O caldo fermentado foi obtido em fermentador Tec-Bio-Plus de 4,5L (Tecnal®) utilizando um volume de trabalho de 3,0L, sob condições controladas de fermentação, temperatura na faixa ótima de crescimento do micro-organismo, agitação inferior a 100 rpm e baixa aeração, menor que 0,1 vvm (litros de ar atmosférico filtrado . litros do meio de cultura⁻¹. min⁻¹) por 12h. Durante o processo fermentativo foram realizadas coletas a cada duas horas para determinação de pH, viabilidade celular, biomassa, densidade óptica, açúcares redutores e totais com o objetivo de monitorar a fermentação.

A leitura do pH do caldo foi realizada no próprio biorreator Tec-Bio-Plus de 4,5L (Tecnal®), através da sonda de pH do equipamento. As leituras de densidade óptica (DO) foram feitas em espectrofotômetro a 630 nm, de acordo com Kanasaki, Breheny e Hillier (1975). A contagem de células viáveis de *Lactobacillus plantarum* foi realizada através de cultivo em placas, em ágar MRS com incubação a 35°C/48h. Para a determinação da biomassa foram utilizados 10 mL de caldo fermentado, centrifugado a 3400 rpm, por 30 min, com realização de três ciclos de lavagem com água destilada. Após, foi realizada secagem a 60°C até peso constante, o valor expresso em gramas de células por litro de caldo fermentado (OLIVEIRA, 2006).

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os valores de pH, densidade óptica, biomassa, açúcares redutores, açúcares totais, açúcares não redutores em sacarose e contagem das células viáveis das amostras de caldo fermentado por *Lactobacillus plantarum* estão apresentadas nas Figuras 1, 2, 3, 4,5, 6 e 7 respectivamente.

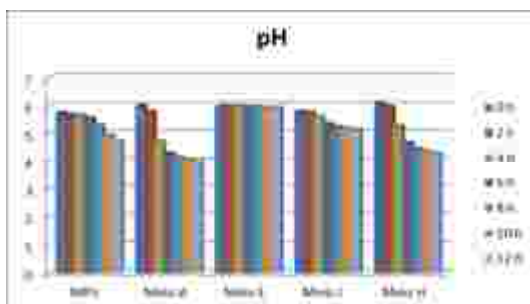


Figura 1. pH das amostras de caldo fermentado.

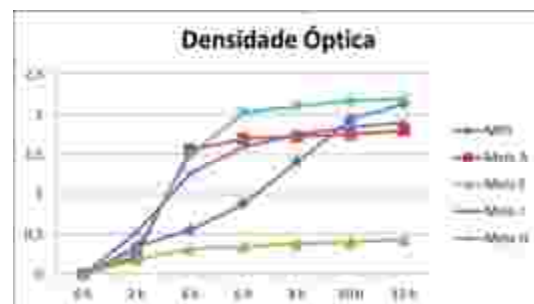


Figura 2. Densidade Óptica das amostras de caldo fermentado.

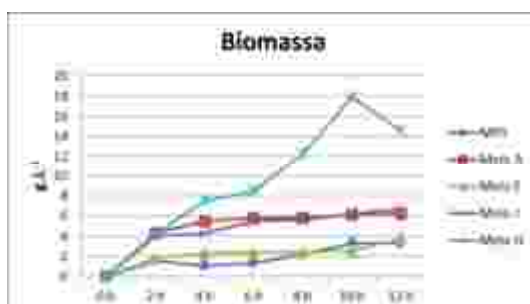


Figura 3. Biomassa das amostras de caldo fermentado.

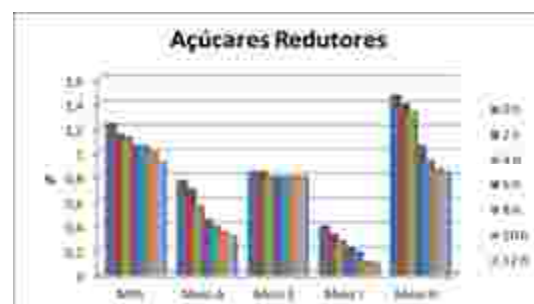


Figura 4. Teor de açúcares redutores das amostras de caldo fermentado.

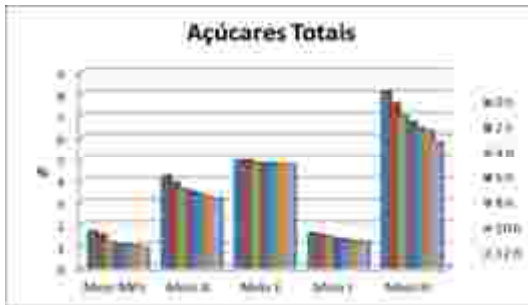


Figura 5. Teor de açúcares totais das amostras de caldo fermentado.



Figura 6. Teor de açúcares não redutores das amostras de caldo fermentado.

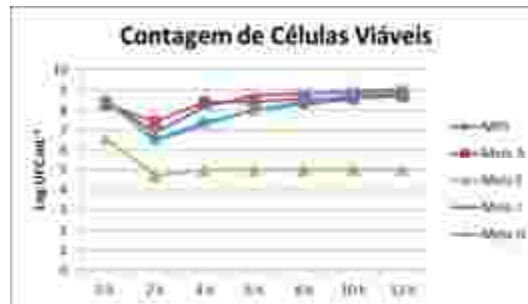


Figura 7. Contagem de células viáveis do caldo fermentado.

A redução do pH, aumento da densidade óptica, da biomassa, da contagem de células viáveis e consumo de açúcares durante as 12 horas de fermentação, demonstram que todas as formulações, com exceção a do caldo E, possuem potencial para utilização como meio de cultura para produção de *Lactobacillus plantarum*. Os valores obtidos na contagem de células viáveis pelos três meios (A, J e H) foram semelhantes ao obtido pelo meio de cultura comercial MRS. Portanto, a suplementação do caldo fermentado com fontes de nitrogênio é fundamental para a produção de biomassa deste micro-organismo.

4. CONCLUSÕES

Meios alternativos formulados com melaço de cana-de-açúcar e suplementados com fontes de nitrogênio podem ser utilizados para o cultivo de *Lactobacillus plantarum*.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BORDIGON JUNIOR et al. Antagonistic activity of lactic acid bacteria isolated from artisan italian salami. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 13, n. 1, p. 18-22, 2010.

JAY, J. M.. **Microbiologia de Alimentos**/ James M. Jay. Traduzido por Eduardo Cesar Tondo... [et al.]. Porto Alegre: Artmed, 2005. 6. ed.

LITCHFIELD, J. H. **Microbiological production of lactic acid**. In: NEIDLEMAN, S. L.; LASKIN, A. (Eds.). **Advances in Applied Microbiology**. California: Academic Press, 1996. v. 42, cap. 2, p. 45-95.

SAWITZKI, M. C.; FIORENTINI, A. M.; BROD, F.C.A.; TAGLIARI, C.; BERTOL, T. M.; ARISI, A. C. M.; SANT'ANNA, E. S. Phenotypic characterization and species-specific PCR of promising starter culture strains of *L. plantarum* isolated from naturally fermented sausage. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.38, p.547-552, 2007.

KANASAKI, M.; BREHENY, S.; HILLIER, A. J. Effects of temperature on growth and acid production of lactic acid bacteria. **J. Food Prot.**, p.142-144, 1975.

OLIVEIRA, M. C. R. **Avaliação do processo de fermentação alcoólica de suco de maçã obtido por liquefação enzimática**. 2006. 92 p. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2006.

OLIVEIRA, R. F.; SOUSDALEFF, M.; LIMA, M. V. dos S.; LIMA, H. O dos S. Produção fermentativa de ácido láctico a partir do melaço da cana-de-açúcar por *Lactobacillus casei*. **Braz. J. Food Technol.**, v.12, p.34-40, 2009.

SAWITZKI, M. C.; TERRA, N. N.; FIORENTINI, A. M. *Lactobacillus plantarum* isolados de salames artesanais naturalmente fermentados e suas propriedades tecnológicas como culturas iniciadoras. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v, 29, n.2, p.340-345, 2009.

VALDUGA, E.; VALÉRIO, A.; TREICHEL, H.; LUCCIO, Di M. Pré-tratamentos de melaço de cana-de-açúcar e água de maceração de milho para a bioprodução de carotenóides. **Química Nova**, v.30, n.8, 1860-1866, 2007.