

CULTIVO DE *Staphylococcus xylosus* U5 EM MEIO ALTERNATIVO FORMULADO COM MELAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR SUPLEMENTADO

**LEIDI D. PREICHARDT¹; RENATA HENTZ²; MARISTELA C. SAWITSKI³;
WLADIMIR P. DA SILVA⁴; ÂNGELA M. FIORENTINI⁴**

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 – maristelacsw@hotmail.com

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

1. INTRODUÇÃO

Staphylococcus xylosus é um micro-organismo que possui características fisiológicas e tecnológicas importantes para ser utilizado como cultura iniciadora em produtos cárneos fermentados. Dentre essas características é possível citar a produção de catalase; não produção de coagulase; formação de ácido a partir de glicose, sacarose, maltose, manose, lactose, xylose, a capacidade de reduzir nitrato; potencial atividade lipolítica e proteolítica; crescimento em 7,5%, 10% e 15% de NaCl e em temperaturas de 15 e 45°C (SCHLEIFER; KLOOS, 2002). Este efeito é potencializado quando os micro-organismos são isolados da microbiota natural de produtos tradicionais como é o caso da bactéria *Staphylococcus xylosus* U5, isolada de embutidos cárneos da região Fronteira Noroeste do estado do Rio Grande do Sul (FIORENTINI et al., 2009a).

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).

Este trabalho teve por objetivo o cultivo de *Staphylococcus xylosus* U5 em meio alternativo de melaço de cana-de-açúcar suplementado com fontes de nitrogênio.

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. A bactéria *Staphylococcus xylosus* U5 utilizada no estudo foi isolada de embutidos naturalmente fermentados na Região Fronteira Noroeste do RS (FIORENTINI et al., 2009b). O melaço de cana-de-açúcar foi obtido junto a Agroindústria Cooper Tereza do município de Campinas das Missões, RS.

Seis meios alternativos, denominados de meios A, B, C, D, E e F foram submetidos ao processo fermentativo, assim como o meio comercial BHI. 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 6% 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.

A biomassa foi obtida em biorreator Tec-Bio-Plus de 4,5L (Tecnal®) utilizando um volume de trabalho de 3,0L de caldo, sob condições controladas de fermentação, temperatura na faixa ótima de crescimento do micro-organismo, agitação na faixa de 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 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 o desenvolvimento do micro-organismo.

A leitura do pH do caldo foi realizada no próprio biorreator, 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 *Staphylococcus xylosus* U5 foi realizada através de cultivo em placas, em ágar BHI com incubação a 35°C/48h. Para a determinação da biomassa foram utilizados 10 mL de caldo, 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 com *Staphylococcus xylosus* U5 estão apresentadas nas Figuras 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7, respectivamente.

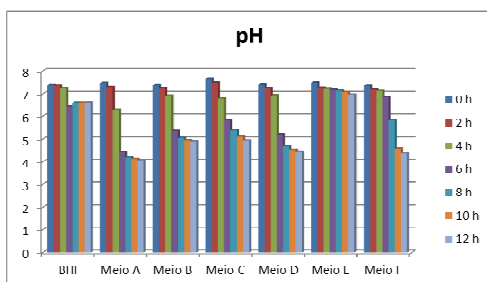


Figura 1. pH das amostras dos diferentes caldos .

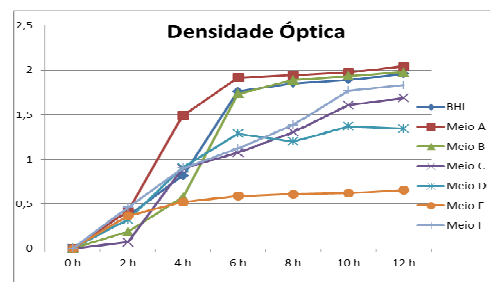


Figura 2. Densidade Óptica das amostras dos diferentes caldos.

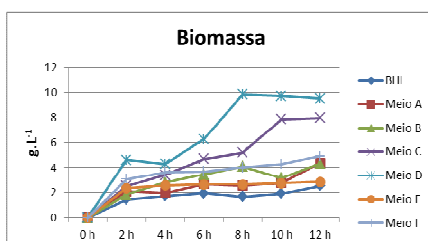


Figura 3. Biomassa das amostras dos diferentes caldos.

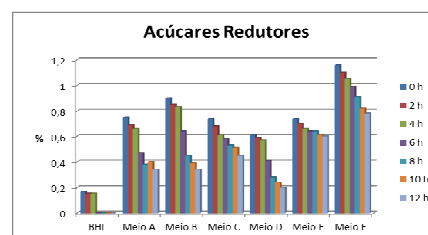


Figura 4. Teor de açúcares redutores das amostras dos diferentes caldos

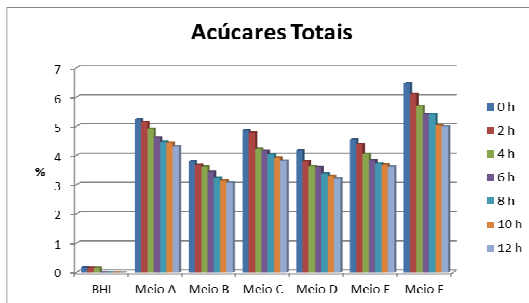


Figura 5. Teor de açúcares totais das amostras dos diferentes caldos

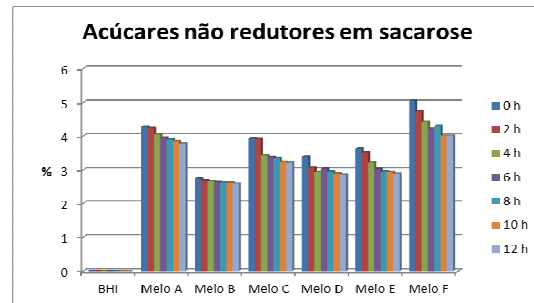


Figura 6. Teor de açúcares não redutores das amostras dos diferentes caldos.

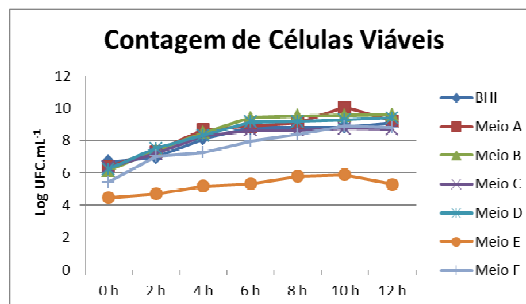


Figura 7. Contagem de células viáveis nos diferentes caldos.

A redução do pH, aumento da densidade óptica, da biomassa, da contagem de células viáveis e consumo de açúcares durante as 12 horas de cultivo, demonstram que todas as formulações, com exceção a do caldo E, possuem potencial para utilização como meio de cultura para produção de *Staphylococcus xylosus* U5. Os valores obtidos na contagem de células viáveis pelos cinco meios (A, B, C, D e F) foram semelhantes ao obtido pelo meio de cultura comercial BHI. Portanto, a suplementação dos meios de cultivo alternativos 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 *Staphylococcus xylosus* U5.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FIORENTINI, A.M.; SAWITZKI, M. C.; BERTOL, T. M.; SANT'ANNA, E. S. Viability of *Staphylococcus xylosus* isolated from artisanal sausages for application as starter cultures in meat products. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 40, p.129-133, 2009a.
- FIORENTINI, A.M.; SAWITZKI, M. C.; BERTOL, T. M.; BROD, F. C. A.; PELISSER, M. R.; ARISI, A. C. M.; SANT'ANNA, E. S. Phenotypic and molecular characterization of *Staphylococcus xylosus*: technological potential for use in fermented sausage. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 52, n.3, p. 737-746, 2009b.
- KANASAKI, M.; BREHENY, S.; HILLIER, A. J. Effects of temperature on growth and acid production of lactic acid bacteria. **Journal of Food Protection**, United States, p.142-144, 1975.
- 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.
- 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*. **Brazilian Journal Food Technology**, Campinas, v.12, p.34-40, 2009.
- SCHLEIFER, K.H.; KLOOS, W. E. **Genus Staphylococcus xylosus**. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**, Baltimore: Williams & Wilkins, 10^a ed., 2002.
- 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**, São Paulo, v.30, n.8, 1860-1866, 2007.