

# Avaliação de variáveis para produção de *Lactobacillus plantarum* BL011 em meio de cultivo alternativo

THAIS LOPES<sup>1</sup>; MARCO ANTÔNIO ZÁCHIA AYUB<sup>2</sup>  
1. Biotecnologia, UFRGS; 2. BiotecLAB – ICTA, UFRGS

## INTRODUÇÃO

Os microrganismos probióticos são considerados suplementos alimentares vivos, apresentam benefícios ao hospedeiro melhorando o balanço intestinal. A produção de *Lactobacillus* com alta densidade celular vem sendo estudada e possui grande interesse por parte da indústria, bem como o estudo de novos meios de cultivo alternativos. *L. plantarum* apresenta longa história de uso seguro em produtos alimentícios sendo reconhecido e largamente empregado como probiótico. Tradicionalmente, os probióticos são adicionados em produtos lácteos, como iogurtes e sorvetes, contudo, estes produtos apresentam uma desvantagem que é a necessidade da manutenção da cadeia do frio até o consumidor final, dificultando dessa forma a maior inserção de alimentos suplementados com probióticos a toda a população, além disso a intolerância à lactose, a alergia das proteínas do leite e o elevado conteúdo de colesterol são obstáculos relacionados ao consumo de produtos lácteos fermentados, bem como devido ao aumento constante no número de consumidores vegetarianos, há também um acréscimo na demanda de produtos probióticos isentos de ingredientes de origem animal.

## OBJETIVO

Desenvolver tecnologia de produção de probióticos pelo cultivo de *L. plantarum* BL011 em sistema de biorreator submerso definindo parâmetros de processo, tais como a formulação de meio de cultivo vegetal e o regime de operação do biorreator. Avaliar a biomassa, os ácidos láctico e acético, e o consumo de açúcares totais durante o cultivo em biorreator.

## METODOLOGIA

**Microrganismo:** O *L. Plantarum* BL011 foi isolado de queijo serrano. Sua produção foi feita em meio de cultivo vegetal, tendo como principal constituinte o resíduo agroindustrial soro ácido de soja, fornecido pela Empresa DuPont (Esteio, RS).

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os melhores resultados encontrados no PB foram 7,74 g/L de biomassa e 20,77 g/L de ácido láctico.

Variáveis	Parâmetros	Efeitos	P-valor
X1	Temperatura (°C)*	-1,58	0,0013
X2	Milhocina (g/L)	0,14	0,1431
X3	Soro ácido de soja (g/L)*	2,19	0,0007
X4	Peptona de soja (g/L)*	-0,95	0,0037
X5	Extrato de levedura (g/L)*	1,66	0,0012
X6	Agitação (rpm)*	-0,90	0,0041
X7	Aeração (vvm)*	0,57	0,0103

**Tabela 2:** Efeitos estimados para a produção de biomassa resultantes do delineamento PB, com erro padrão = 0,58; P-valor ≤ 0,5; R<sup>2</sup>: 0,98. \* Estatisticamente significativo com nível de confiança de 95%.

A partir dos resultados estatísticos (Tabela 2) foram realizados experimentos adicionais com os seguintes parâmetros fixados e composição de meio de cultivo: 40 g/L de açúcares totais (soro ácido de soja); 15 g/L de extrato de levedura; velocidade de agitação de 200 rpm; temperatura 25 °C e taxa de aeração de 4,5 vvm. Os resultados obtidos através da mudança do meio de cultivo e dos parâmetros foram: 10,85 g/L de biomassa e 19,56 g/L de ácido láctico (Figura 3).

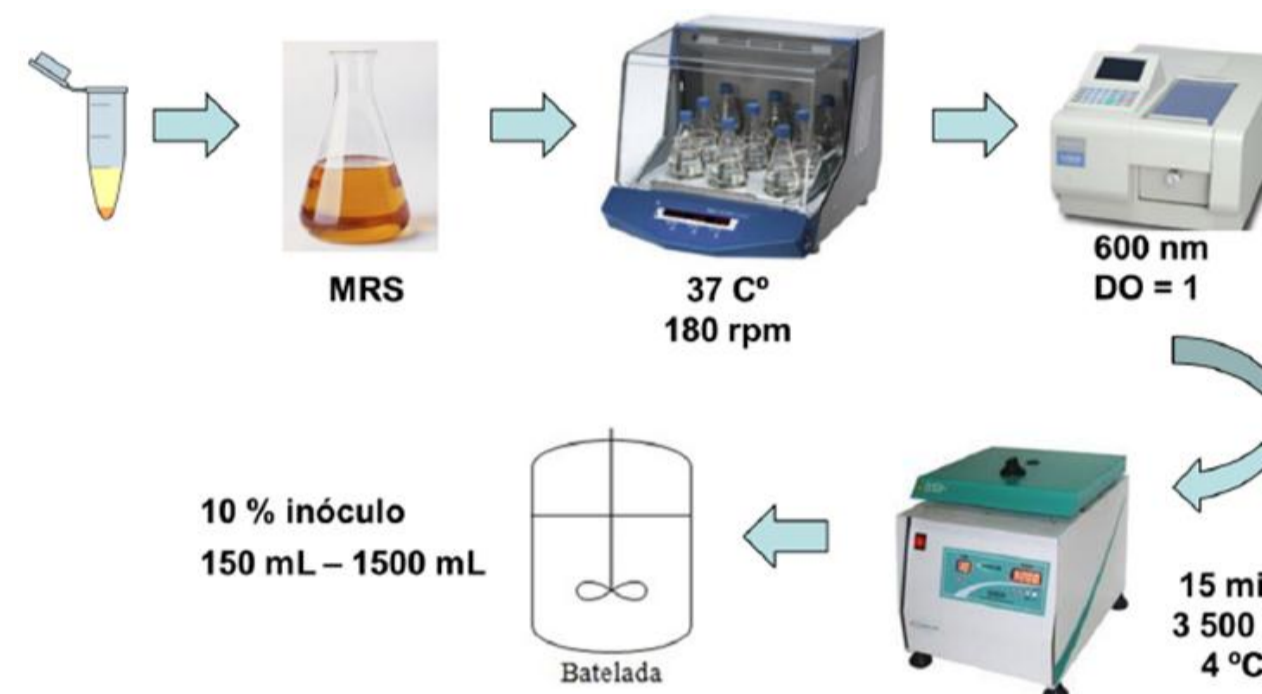
## REFERÊNCIAS

- Bernardeau, M.; Vernoux, J. P.; Henri-Dubernet, S.; Guéguen, M., 2008. Safety assessment of dairy microorganisms: The *Lactobacillus* genus. *International Journal of Food Microbiology*, v. 126.
- De Souza, C.F.V., Dalla Rosa, T., Ayub, M.A.Z., 2003. Changes in the microbiological and physicochemical characteristics of Serrano cheese during manufacture and ripening. *Brazilian Journal of Microbiology*, 34(3), 260–266.
- Plackett, R.L., Burman, J.P., 1946. The design of optimum multifactorial experiments. *Biometrika*, 33, 305–325.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Halmilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350-356.



**Figura 1:** *L. plantarum*, uma bactéria láctica referida internacionalmente como um excelente probiótico.

### Obtenção do inóculo:



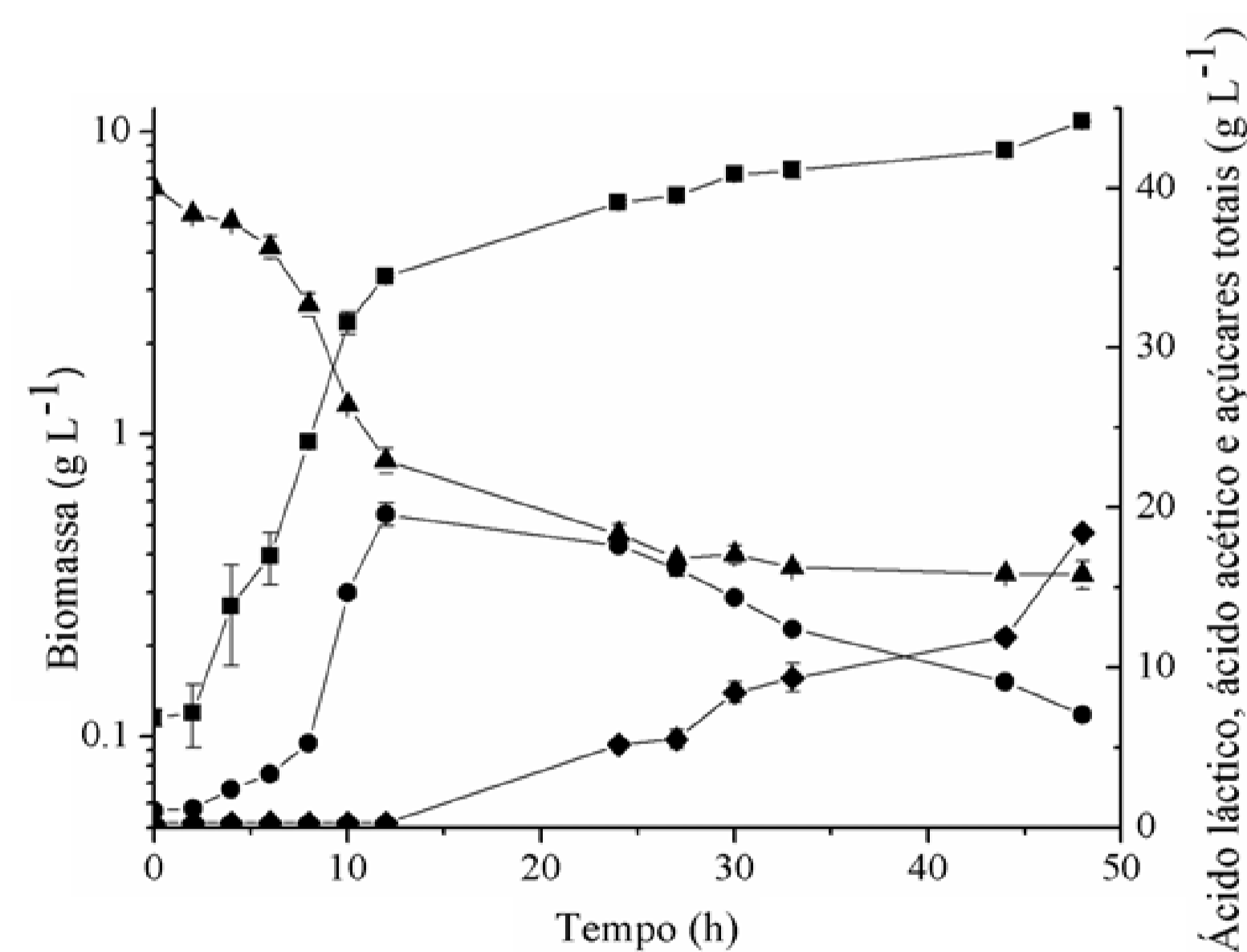
**Figura 2:** Fluxograma de obtenção do inóculo para cultivo em batelada.

**Plackett-Burman (PB):** com 19 ensaios, tendo como variáveis dependentes as concentrações de biomassa e ácido láctico em 48h de cultivo em biorreator submerso, analisando suas diferentes concentrações segundo modificações nos parâmetros de processo, conforme a tabela abaixo:

Variáveis	-1	0	+1
Temperatura (°C)	25	34	37
Milhocina (g/L)	5	12,5	20
Soro ácido de soja (g/L)	5	12,5	20
Peptona de soja (g/L)	2	8,5	15
Extrato de levedura (g/L)	2	8,5	15
Agitação (rpm)	200	300	400
Aeração (vvm)	2,5	3,5	4,5

**Tabela 1:** Níveis estudados no planejamento PB para as variáveis independentes.

**Métodos Analíticos:** As análises de ácido láctico e acético foram conduzidas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, os açúcares totais quantificados pela técnica de fenol-ácido sulfúrico e a medida de biomassa foi realizada por peso seco.



**Figura 3:** Curva de crescimento em biorreator de *L. plantarum* BL011.

(■ biomassa; ● ácido láctico; ◆ ácido acético; ▲ açúcares totais)

Conclui-se que o soro ácido de soja, resíduo agroindustrial, se mostrou uma ótima fonte de nutrientes para a produção de *L. plantarum* BL011, obtido em meio isento de proteína animal, podendo ser um ingrediente o qual contribuiria para o aumento no consumo de probióticos pela população, que por diferentes motivos não consome alimentos de origem animal.

## APOIO