

Atividade antibacteriana e de β -galactosidase de bactérias lácticas isoladas de leite e queijo de ovelha

HELPER, Virginia Etges; MEIRA, Stela Maris Meister; BRANDELLI, Adriano

Departamento de Ciência de Alimentos, ICTA, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves 9500, CEP 91501-970, Porto Alegre – RS, Brasil, Telefone: (51)3308-6249, E-mail: (vikzinha@hotmail.com).

INTRODUÇÃO

Bactérias ácido lácticas (BAL) são amplamente empregadas como culturas iniciadoras definidas (*starters*) para controle do processo fermentativo, segurança, padronização e qualidade do produto final. Além disso, suas propriedades de promoção a saúde têm sido largamente exploradas para aplicação como probióticos.

Torna-se portanto, importante avaliar a atividade antibacteriana das BAL contra patógenos para posterior colonização do intestino, como também sua propriedade de metabolizar a lactose, principal açúcar do leite.

MATERIAIS E MÉTODOS

Atividade antibacteriana

As bactérias foram cultivadas em caldo MRS por 24h a 30°C em anaerobiose. Volumes de 5 μ L dessas culturas foram inoculados sobre placas contendo ágar MRS e incubadas sob as mesmas condições para formação de colônias. Após, a superfície da placa foi coberta com 10 mL de “soft” ágar BHI (0,75%) inoculado com os patógenos a uma concentração de 1×10^6 UFC/mL. As placas foram novamente incubadas a 37°C por 24 h em aerobiose. O halo de inibição (mm) foi calculado subtraindo o diâmetro da zona de inibição do diâmetro da colônia da BAL.

Também foi avaliado o sobrenadante ácido e neutro das culturas utilizando o mesmo método e ainda pela técnica de difusão em poços e em placa de microtitulação (Maragkoudakis *et al*, 2006).

Atividade de β -galactosidase

As bactérias foram cultivadas em caldo MRS modificado contendo lactose, suas células lavadas com tampão fosfato pH 7 e a absorvância a 560 nm ajustada para permeabilização com tolueno:acetona (1:9). Uma alíquota de 100 μ L da suspensão celular foi adicionada a 900 μ L de tampão fosfato e incubada com 200 μ L de *o*-nitrofenil- β -D-glicopiranosídeo (ONPG – 4 mg/mL) por 15 minutos a 37°C. A reação enzimática foi interrompida pela adição de 0,5 mL de Na₂CO₃ 1M e após, foi medida a liberação de *o*-nitrofenol a 420 nm a partir do substrato. A atividade da enzima foi expressa em unidades Miller (Vinderola e Reinheimer, 2003).

RESULTADOS

Os resultados da atividade antagonística das BAL são expressos na Tabela 1. Observou-se que a linhagem LCN 27 não foi capaz de inibir tão fortemente os patógenos como os demais lactobacilos.



Tabela 1. Atividade antibacteriana das BAL.

Bactéria Indicadora	Zona de Inibição (mm) \pm Desvio Padrão					
	LCN 17	LCN 27	LCN 35	LCN 39	LCN 43	LCN 56
Listeria monocytogenes ATCC 6477	16,1 \pm 1,3	13 \pm 1,7	16,7 \pm 1,2	18,3 \pm 1,5	19 \pm 1,8	19,7 \pm 0,6
Staphylococcus aureus ATCC 1901	18,5 \pm 0,7	10,2 \pm 1,3	26 \pm 1,4	18,7 \pm 0,5	17,2 \pm 0,5	14,5 \pm 0,7
Bacillus cereus ATCC 14579	14,7 \pm 1,5	7 \pm 1	13 \pm 0,8	15,5 \pm 0,9	13,1 \pm 0,8	11 \pm 1
Escherichia coli ATCC 8739	16,2 \pm 0,3	7 \pm 1	11 \pm 1	12,7 \pm 0,6	17 \pm 1	10,3 \pm 1,2
Salmonella Enteritidis ATCC 13076	16,5 \pm 1,3	13,1 \pm 0,3	17,1 \pm 0,8	16,5 \pm 0,7	15,6 \pm 1,1	18 \pm 1
Salmonella Typhimurium ATCC 14078	14,1 \pm 0,6	10,4 \pm 0,3	13,1 \pm 1	12,5 \pm 0,8	11,5 \pm 0,8	10 \pm 0,3

Após a avaliação dos sobrenadantes das culturas pelo método de microtitulação, observou-se que a atividade inibitória é devido à produção de ácidos orgânicos pelas BAL.

A maior atividade de β -galactosidase foi observada para a linhagem LCN 56, sendo a menos observada para LCN 43 (Tabela 2).

Tabela 2. Resultados da atividade de β -galactosidase em unidades Miller.

Isolados	Atividade Enzimática
L. plantarum LCN 17	149,5 \pm 11,4
L. casei/paracasei LCN 27	79,9 \pm 4,35
L. plantarum LCN 35	367,7 \pm 32,5
L. plantarum LCN 39	143,7 \pm 24,8
L. plantarum LCN 43	76,4 \pm 8,7
L. plantarum LCN 56	2433,2 \pm 133,7

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos para as características funcionais das BAL são de grande interesse, pois o antagonismo é um dos requisitos para sua sobrevivência e colonização do intestino. Paralelamente, a variação da produção de β -galactosidase permite aplicação dessas linhagens em produtos lácteos probióticos, aliviando sintomas relacionados à intolerância da lactose.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- MARAGKOUDAKIS, P. A.; ZOUMPOPOULOU, G.; MIARIS, C.; KALANTZOPOULOS, G.; POT, B.; TSAKALIDOU, E. Probiotic potential of *Lactobacillus* strains isolated from dairy products. *Int. Dairy J.*, v. 16, p. 189–199, 2006.
- VINDEROLA, D. G.; REINHEIMER, J. A. *Lactic acid starter and probiotic bacteria: a comparative “in vitro” study of probiotic characteristics and biological barrier resistance.* *Food Research International*, v. 36, p. 895 – 904, 2003.