



**Modalidade do trabalho:** Relatório técnico-científico  
**Evento:** 2011 SIC - XIX Seminário de Iniciação Científica

## VIABILIDADE DE *Lactobacillus plantarum* DURANTE O ARMAZENAMENTO POR CONGELAMENTO EM CALDOS DE FERMENTAÇÃO FORMULADOS COM MEIOS ALTERNATIVOS<sup>1</sup>

**Renata Hentz<sup>2</sup>; Leidi Daiana Preichardt<sup>3</sup>; Maristela Sawitski<sup>4</sup>; Wladimir Padilha da Silva<sup>5</sup>; Ângela Maria Fiorentini<sup>5</sup>.**

<sup>1</sup>Projeto de pesquisa institucional

<sup>2</sup>Estudante do Curso de Química Industrial de Alimentos do Departamento de Ciências da Vida, bolsista PIBIC/UNIJUI, Campus Santa Rosa; E-mail: [re\\_hentz@yahoo.com.br](mailto:re_hentz@yahoo.com.br)

<sup>3</sup>Professora do Departamento de Ciências da Vida da Unijuí Campus Santa Rosa; E-mail: [leidi.preichardt@unijui.edu.br](mailto:leidi.preichardt@unijui.edu.br)

<sup>4</sup>Professora do curso de Farmácia da Unipampa, Campus de Uruguaiana; E-mail: [maristelacsw@hotmail.com](mailto:maristelacsw@hotmail.com);

<sup>5</sup>Professor(a) do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial da UFPel; E-mail: [angefiore@gmail.com](mailto:angefiore@gmail.com); [wladimir.padilha@hotmail.com](mailto:wladimir.padilha@hotmail.com);

### Resumo

*Lactobacillus plantarum* faz parte do grupo das bactérias ácido láticas, aplicadas em diversos alimentos como cultura iniciadora. A multiplicação deste micro-organismo é feita por processos fermentativos. As células obtidas na fermentação devem ser preservadas viáveis até sua utilização. Um método barato utilizado para preservação é o congelamento, pois permite o armazenamento das células por períodos prolongados. O objetivo do trabalho foi avaliar a viabilidade do armazenamento de células de *L. plantarum* AJ2 congeladas a -20°C em caldos de fermentação formulados com meios alternativos. Neste estudo, o congelamento preservou as células de *L. plantarum* AJ2 durante o período em que foram armazenadas, independente do meio de cultura utilizado no processo fermentativo. Estudos com relação ao tempo de armazenamento devem continuar, pois ainda não foi possível obter resultados da viabilidade das células por períodos superiores a cinco meses de armazenamento.

**Palavras-chave:** congelamento; estocagem; culturas iniciadoras.

### Introdução

As bactérias ácido láticas são bactérias mesófilas, sendo algumas culturas termófilas, Gram-positivas, normalmente na forma de cocos ou bastonetes, não produzem catalase e tem como principal produto do metabolismo dos carboidratos o ácido lático que é capaz de inibir o crescimento de organismos causadores de deterioração ou produtores de toxinas. (BORDIGNON JUNIOR et al., 2010; JAY, 2005). Devido a estas características, as bactérias ácido láticas têm sido aplicadas nos mais variados tipos de alimentos como culturas iniciadoras (SAWITZKI et al., 2007).

A bactéria *Lactobacillus plantarum* faz parte deste grupo, confere sabor e melhora a conservação dos produtos quando adicionada na forma de cultura iniciadora em embutidos, promovendo melhorias na qualidade (SAWITZKI et al., 2009). Este efeito é potencializado quando os micro-organismos são isolados da microbiota natural de produtos tradicionais



**Modalidade do trabalho:** Relatório técnico-científico

**Evento:** 2011 SIC - XIX Seminário de Iniciação Científica

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. Outro fator importante é a viabilidade das células durante o armazenamento. Após o processo fermentativo devemos preservar as células viáveis até a aplicação das mesmas como culturas iniciadoras. Considera-se uma preservação eficaz quando esta mantém o micro-organismo viável, livre de contaminação e geneticamente estável (ALCARD e BASSO, 1997).

O congelamento é um método comumente utilizado para preservação de micro-organismos, apresentando reduzida possibilidade de contaminação. O princípio deste método está baseado na redução do metabolismo celular (COSTA e FERREIRA, 1991). Devido a estes aspectos, pode ser utilizado para armazenamento por períodos prolongados, no entanto, a estabilidade durante o armazenamento depende muito do micro-organismo, pois em função dos danos causados pela formação de cristais de gelo e a da flutuação de eletrólitos nessa temperatura, alguns organismos não sobrevivem (CEFAR, 2008).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a viabilidade de *Lactobacillus plantarum* AJ2 durante o armazenamento por congelamento em caldos de fermentação formulados com meios alternativos.

## Metodologia

A bactéria *Lactobacillus plantarum* AJ2 foi isolada de embutidos naturalmente fermentados na Região Fronteira Noroeste do RS e caracterizadas molecularmente (SAWITZKI et al., 2007).

O caldo fermentado foi obtido em fermentador Tec-Bio-Plus de 4,5L (Tecnal®), sob as seguintes condições de fermentação: temperatura a 37°C, agitação de 80 rpm e aeração de 0,7 vvm (litros de ar atmosférico filtrado . litros do meio de cultura<sup>-1</sup>. min<sup>-1</sup>) por 12h, conforme ilustrado no fluxograma da Figura 1. Após a fermentação o caldo foi congelado a temperatura de -20°C.

Foram utilizados durante o processo fermentativo oito meios alternativos denominados de meios A, B, C, D, F, G, H e I e 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 melão de cana-de-açúcar, de 0% a 4% de farelo de soja e extrato de levedura. A viabilidade do micro-organismo durante armazenamento em caldo congelado foi avaliada mensalmente através de contagem de *Lactobacillus plantarum*, realizada através de cultivo em placas, em ágar MRS com incubação a 35°C/48h. O descongelamento dos caldos para a realização da análise de viabilidade celular foi feito em temperatura de refrigeração.

**Modalidade do trabalho:** Relatório técnico-científico  
**Evento:** 2011 SIC - XIX Seminário de Iniciação Científica

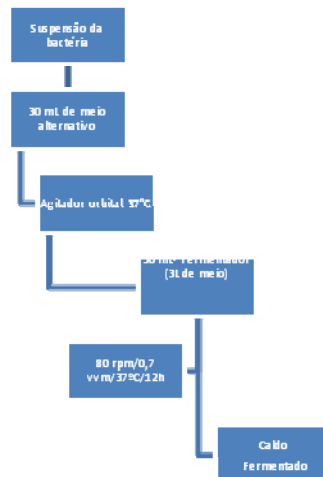


Figura 1: Produção de *Lactobacillus plantarum*.

### Resultados e Discussão

As contagens de *Lactobacillus plantarum* nos diferentes meios de cultura durante o armazenamento estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1: Resultados da Contagem de *Lactobacillus plantarum*.

Meses de Armazenamento	(UFC/mL)								
	Meio MRS	Meio A	Meio B	Meio C	Meio D	Meio F	Meio G	Meio H	Meio I
0	$7,5 \times 10^8$	$3,2 \times 10^8$	$4,0 \times 10^8$	$4,5 \times 10^8$	$1,8 \times 10^9$	$6,0 \times 10^8$	$5,8 \times 10^8$	$1,1 \times 10^9$	$2,0 \times 10^8$
1	$7,5 \times 10^8$	$3,4 \times 10^8$	$5,6 \times 10^8$	$2,7 \times 10^8$	$5,5 \times 10^8$	$4,9 \times 10^8$	$4,0 \times 10^8$	$1,1 \times 10^9$	$1,9 \times 10^8$
2	$5,3 \times 10^8$	$3,8 \times 10^8$	$6,3 \times 10^8$	$2,7 \times 10^8$	$5,5 \times 10^8$	$4,9 \times 10^8$	$4,4 \times 10^8$	*	*
3	$3,5 \times 10^8$	$3,3 \times 10^8$	$5,0 \times 10^8$	$2,5 \times 10^8$	*	*	*	*	*

\* Resultados ainda não foram determinados.

Durante o período de armazenamento todos os caldos congelados, avaliados até o momento, apresentaram contagem de células viáveis semelhantes ao do início do armazenamento. A maior variação ocorreu no armazenamento do caldo D, em valores logarítmicos, a alteração foi de 9,26 a 8,74  $\log_{10}$ . A avaliação da viabilidade de *L. plantarum* AJ2, durante o armazenamento em caldos congelados ainda está sendo realizada, resultados parciais indicam viabilidade da cultura em temperatura de  $-20^\circ\text{C}$ . Não foram verificadas reduções acentuadas na viabilidade de *Lactobacillus plantarum* devido à utilização de um meio alternativo. O congelamento de células microbianas a temperatura de  $-20^\circ\text{C}$  tem sido estudado, em trabalho desenvolvido por Silva et. al. (2008), o congelamento a esta temperatura foi eficiente para manutenção da viabilidade de leveduras por quatro anos. Os



**Modalidade do trabalho:** Relatório técnico-científico

**Evento:** 2011 SIC - XIX Seminário de Iniciação Científica

estudos com relação ao tempo de armazenamento devem continuar, pois ainda não foi possível obter resultados quanto a viabilidade por um período superior a três meses de armazenamento. Com a avaliação de prazos mais longos será possível avaliar de maneira mais precisa a eficiência do método de congelamento a  $-20^{\circ}\text{C}$  para preservação deste micro-organismo.

### Conclusões

O congelamento na temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$  preservou as células de *Lactobacillus plantarum* AJ2 durante o período em que foram armazenadas, independente do meio de cultura utilizado no processo fermentativo. É importante salientar que o estudo ainda está em andamento e que períodos mais longos de armazenamento estão sendo avaliados.

### Agradecimentos

Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – Unijuí  
Secretaria de Ciência e Tecnologia do Estado do Rio Grande do Sul  
Universidade Federal de Pelotas – UFPel.

### Referências

- ALCARD, A.R.; BASSO, L. C. Efeito da trealose na manutenção da viabilidade de células de leveduras desidratadas por liofilização. **Scientia Agricola**, v. 54, n. 3, p. 1997.
- 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.
- COSTA, C. P.; FERREIRA, M. C. Preservação de microrganismos: revisão. **Revista de Microbiologia**, v.22, n.3, p. 263-268, 1991.
- JAY, J. M.. Microbiologia de Alimentos/ James M. Jay. Traduzido por Eduardo Cesar Tondo... [et al.]. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- PROCEDIMENTOS para conservação de micro-organismos. **Informativo CEFAR de Microbiologia**, São Paulo, Set/Out. 2008.
- SAWITZKI, M. C.; FIORENTINI, A. M.; BROD, F. C. A.; TAGLIARI, C.; BERTOL, T. M.; ARISI, A. C. M.; SANT'ANA, E. S. Phenotypic characterization and species-specific PCR of promising starter culture strains of *Lactobacillus plantarum* isolated from naturally fermented sausages. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, n. 3, p. 547-552, 2007.
- 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.
- SILVA, J. O.; COSTA, P. P.; RECHE, S. H. C. Manutenção de leveduras por congelamento a  $-20^{\circ}\text{C}$ . **Revista Brasileira de Análises Clínicas**. v. 40, n. 1, p. 73-74, 2008.