

MICROENCAPSULAÇÃO DE BACTÉRIAS LÁCTICAS ISOLADAS DE LEITE DE BÚFALA COM PROPRIEDADES ANTIBACTERIANAS E ANTIFÚNGICAS

André Juchen¹, Mônica Slaviero¹, Amanda de Souza da Motta¹

¹Instituto de Ciências Básicas da Saúde - Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia – UFRGS
Rua Dr. João Simplicio Alves de Carvalho 735, Ap. 406 CEP: 91360-260 Porto Alegre-RS E-mail: andrejuchen@gmail.com

INTRODUÇÃO

Sabe-se que as bactérias ácido lácticas (BAL) são produtoras de uma variedade de compostos antimicrobianos, incluindo ácidos orgânicos, diacetil, peróxido de hidrogênio, dióxido de carbono, álcool, aldeído e bacteriocinas. Estes compostos podem inibir o desenvolvimento de bactérias deteriorantes e patogênicas, bem como de fungos patogênicos presentes nos alimentos, o que torna o estudo destas substâncias de extrema importância. Este estudo pôde ser feito a partir da avaliação do potencial antimicrobiano de culturas de bactérias lácticas isoladas de amostras de leite cru de búfala. Assim, as linhagens que demonstraram maior capacidade antimicrobiana, puderam ser selecionadas para procedimentos de microencapsulação, que visaram a manutenção da BAL dentro das microcápsulas, para posterior aplicação.

OBJETIVOS

Este trabalho buscou a avaliação das propriedades antimicrobianas das bactérias lácticas isoladas de leite cru de búfala, avaliando-se o efeito frente a bactérias patogênicas e deteriorantes e frente a fungos filamentosos e leveduriformes. Também procurou-se demonstrar a eficiência do processo de microencapsulação de BAL, aplicando as culturas selecionadas.

MATERIAIS E MÉTODOS

A partir de isolamentos feitos em ágar MRS, selecionaram-se colônias típicas de BAL para caracterização preliminar. As bactérias com resultado positivo para a coloração de Gram e negativo para o teste de catalase, mantiveram-se para estudo. As linhagens foram utilizadas em testes antibacterianos, antifúngicos e antilevedura. Culturas foram selecionadas para testes de microencapsulação.

Teste de atividade antibacteriana: O teste de atividade antibacteriana das BAL selecionadas foi feito em Agar MRS pelo método de sobrecamada, sendo a inoculação da BAL no Agar MRS na forma de picada. Após 48 horas de crescimento, foi vertido um Agar TSB semi-sólido previamente inoculado com uma cultura indicadora. As placas foram incubadas e observou-se a formação de halos de inibição, que foram medidos em (mm).

Teste de atividade antifúngica: Os fungos foram inoculados em PDA por 7 dias à 30°C. As culturas preparadas foram cortadas em quadrados de 1 cm² e colocadas no centro de outras placas com PDA. O sobrenadante contendo as BAL foi depositado em forma de gota a distancia de 1 cm do fungo. A partir da incubação feita, foi observada a retração ou não no crescimento do fungo sobre a superfície da placa

Teste de atividade antilevedura: O teste de atividade antilevedura foi feito de forma semelhante ao antibacteriano, porém usando-se leveduras como culturas indicadoras.

Teste de encapsulação: Para realizar a microencapsulação, uma suspensão da cultura de células das BAL foi misturada com 25 ml de uma solução de alginato de sódio 2%. A mistura foi transferida para seringas equipadas com agulha de 0.45 mm de diâmetro e ejetada lentamente para dentro de 100 ml de 0,05 M CaCl₂, estéril, suplementado com Tween 80, 0,1%. Após centrifugação, lavagem e filtração obtiveram-se as cápsulas, com uma média de 1 mm de diâmetro. Estas cápsulas foram então avaliadas quanto a liberação destes isolados por métodos de contagem das BAL em Agar MRS ao longo do tempo.

RESULTADOS

Amostras de leite cru de búfala recebidas: 10 amostras
Das 87 colônias isoladas, 39 apresentaram o perfil de coco-bacilos ou bacilos Gram-positivos e catalase negativos; e foram selecionadas para os testes antimicrobianos. Os resultados foram compilados e podem ser visualizados nas tabelas a seguir:

RESULTADOS

Tabela 1. Resultado do teste antibacteriano, pelo Método da Sobrecamada. Placas incubadas a 37°C por 24-48 horas.

Indicadoras	Bactérias indicadoras inibidas (%) por BAL
<i>Corynebacterium fimi</i>	70%
<i>Listeria monocytogenes</i>	89%
<i>Salmonella Enteritidis</i>	75%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40%
<i>Staphylococcus aureus</i>	51%

Tabela 2. Resultados do teste antifúngico, avaliação do crescimento em PDA. Placas incubadas a 37°C por 7 dias.

Indicadores	Fungos filamentosos inibidos (%) por BAL
<i>Fusarium graminearum</i>	47%
<i>Aspergillus flavus</i>	17%
<i>Penicillium roquefort</i>	23%
<i>Aspergillus fumigatus</i>	35%

Tabela 3. Resultados do teste antilevedura, pelo método da Sobrecamada. Placas incubadas a 37°C por 24-48 horas

Indicadores	Fungos leveduriformes inibidos (%) por BAL
<i>Cryptococcus curvatus</i> (1ml)	59%
<i>Cryptococcus curvatus</i> (3ml)	18%
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (3ml)	4%

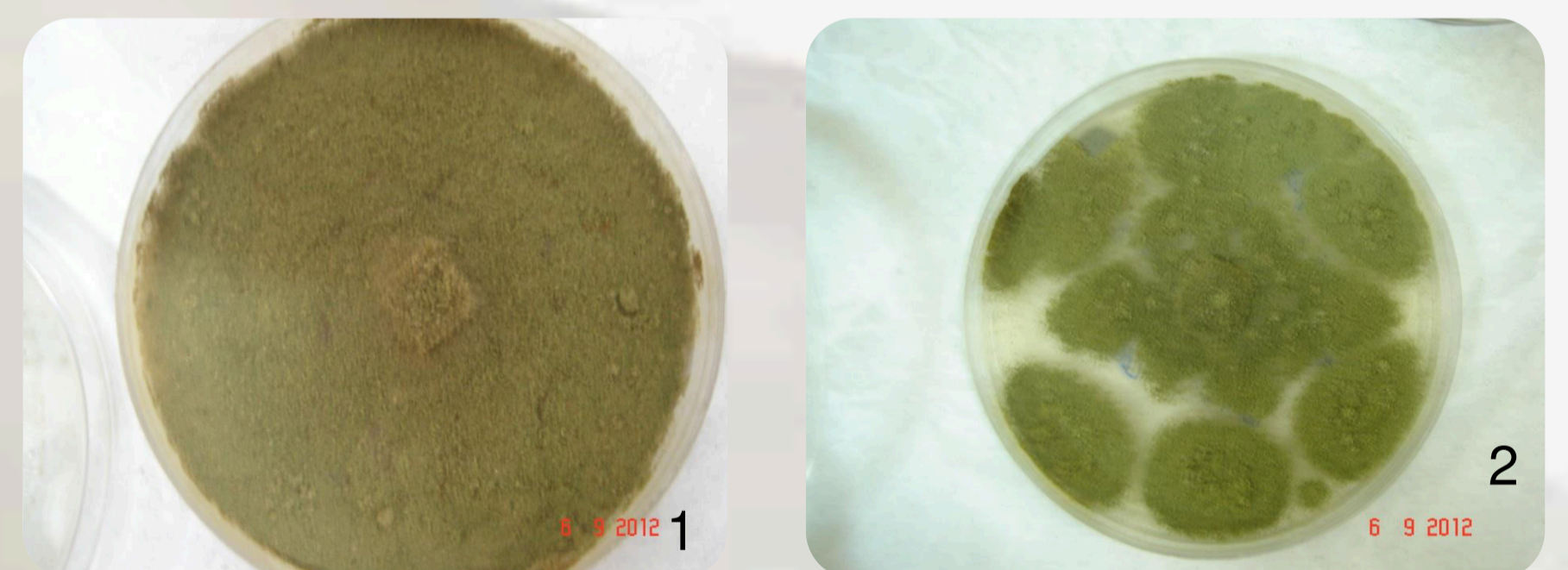


Figura 1 e 2: Cultura de *Aspergillus flavus* controle (1) e sob efeito inibitório por BAL (2)

Tabela 4. Resultados da microencapsulação, contagem realizada após 48 horas de incubação

	Contagem inicial	Contagem pós encapsulação
LB 7.9	1,0775 x 10 ⁷ ufc/ml	7,25 x 10 ³ ufc/ml
LB 8.5	4,15 x 10 ⁶ ufc/ml	7,5 x 10 ³ ufc/ml



Microcápsulas em agar MRS

CONCLUSÕES

A microbiota do leite cru de búfala se mostrou importante para a pesquisa de BAL, pois foi observado uma microbiota láctica com potencial antimicrobiano importante. As culturas que apresentaram maior espectro de ação frente a varias culturas indicadoras foram empregadas para as microencapsulações. A metodologia de encapsulação foi empregada com êxito. Explorar a microbiota láctica do leite de búfala tem sido importante uma vez que não há material disponível na literatura sobre este enfoque, que foi dado neste trabalho.

Agradecimentos: A Fapergs pela bolsa de iniciação científica e ao Laticínio Kronhardt pelo envio das amostras de leite.