

## Caracterização de *Lactobacillus plantarum* BLS29 isolado de linguiça suína colonial, um novo potencial probiótico em embutidos fermentados <sup>(1)</sup>.

Luciana Senter<sup>(2)</sup>; Luana Pereira Camargo<sup>(3)</sup>; Eliana Moreira<sup>(3)</sup>; Eduardo Cesar Tondo<sup>(4)</sup>

### Resumo Expandido

<sup>(1)</sup> Trabalho executado com recursos dos Editais nº 12/2013 e nº 16/2013, da Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação.

<sup>(2)</sup> Professor pesquisador do Instituto Federal de Santa Catarina, Campus Xanxerê, Xanxerê, SC. contato: [luciana.senter@ifsc.edu.br](mailto:luciana.senter@ifsc.edu.br) ;

<sup>(3)</sup> Estudante bolsista do Curso Técnico em Agroindústria; Instituto Federal de Santa Catarina, Campus Xanxerê, Xanxerê, SC;

<sup>(4)</sup> Professor pesquisador do Instituto de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

**RESUMO:** A produção de embutidos fermentados no oeste catarinense tem grande importância econômica para a indústria, consumidores e trabalhadores. A busca por alimentos saudáveis tem impulsionado o desenvolvimento de novos produtos, incluindo os que tenham características funcionais. O objetivo deste estudo foi testar propriedades tecnológicas da cepa *L. plantarum* BLS29, isolado de linguiças suínas coloniais produzidas em uma indústria de embutidos, fermentadas naturalmente, bem como testar seu potencial probiótico para futuro desenvolvimento do produto com uma cepa funcional isolada de carnes. *L. plantarum* BLS29 por ser homoláctica e acidificar medianamente o meio, importantes durante o processo de cura dos embutidos e apresentar melhor crescimento em sais de cura, foi testada quanto ao potencial probiótico mantendo-se viável em pH 2,0, 2,5, 3,0 e 4,0, simulando condições gástricas. Uma alíquota de BLS29 foi submetida paralelamente com a cepa selvagem aos sais biliares, ambas desenvolvendo-se melhor nesta condição do que no experimento controle. Este estudo demonstra que *L. plantarum* BLS29, isolado de linguiça suína colonial apresenta potencial probiótico, devendo ser testado no produto e em animais para confirmar suas propriedades sensoriais e funcionais.

**Palavra Chave:** linguiça suína, salame, Bactérias ácido-lácticas.

### INTRODUÇÃO

A demanda por novos produtos alimentícios influenciou muito o desenvolvimento da área de embutidos, embora ainda se encontre certo preconceito nesse tipo de produto, já que por vezes, tem sido associados como alimentos menos saudáveis, devido ao alto teor de gordura, aditivos e especiárias (DE VUYST *et al.*, 2008; ARIHARA, 2006; MACEDO *et al.*, 2012).

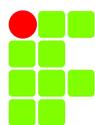
Alimentos probióticos são parte de alimentos funcionais com grande interesse comercial e tendo aumentado seu consumo nos últimos anos.

Os probióticos são definidos como micro-organismos vivos que, quando consumidos em quantidades adequadas como parte dos alimentos, podem desempenhar um papel importante em funções respiratórias, imunológica, digestiva e pode ter um efeito significativo no alívio de doenças infecciosas em crianças e intolerância à lactose (FAO/WHO, 2001).

Probióticos são geralmente administrados em iogurtes e outros derivados lácteos, além disso podem ser usados em outros produtos alimentares, incluindo carne fermentada (DE VUYST *et al.*, 2008; ARIHARA, 2006; ERKKILÄ *et al.*, 2001).

O desenvolvimento de embutido probiótico além de proporcionar benefícios para a saúde, contribui para a segurança do produto uma vez que geralmente as bactérias probióticas do gênero *Lactobacillus*, que são produtoras de ácido láctico e de bacteriocinas, inibem o crescimento de enterobactérias, *Salmonella*, *Staphylococcus* e mesmo *Listeria* (INCZE, 1998).

O objetivo deste estudo foi caracterizar uma cepa isolada de embutidos fermentados naturalmente, de uma indústria de embutidos no oeste de Santa Catarina, sul do Brasil, testando suas propriedades tecnológicas e potencial probiótico para aplicação futura em embutidos cárneos.



## METODOLOGIA

### 1. Propriedades tecnológicas

#### Produção de CO<sub>2</sub> e de exopolissacarídeo

A produção do gás dióxido de carbono foi determinada em caldo MRS com tubos de Durhan invertidos, substituindo citrato de amônio para o sulfato de amônio. Os tubos foram incubados durante 48 horas a 37 ° C e verificada a produção de gás a partir da fermentação de glicose. A produção de exopolissacarídeo foi determinada para o crescimento das cepas em ágar MRS, substituindo a glicose por 5% de sacarose. As placas foram incubadas durante sete dias a 25 ° C e verificada a produção do composto por meio de coloração negativa (Hugas et al., 1993).

#### Capacidade de acidificação

A capacidade de acidificação pela cepa foi determinada de acordo com Hugas *et al.*, (1993) em tubos de caldo MRS contendo 10 ml (pH 6,6) sem KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, substituindo citrato de amônio por 0,3% de citrato de sódio (Dinamica). O pH foi medido (Tecnal) depois de 37°C à 48 h de incubação.

#### Tolerância para cloreto de sódio e nitrito de sódio

Cepas bacterianas isoladas foram verificados quanto à sua tolerância para 5% e 8% de NaCl (Vetec) e tolerância de 3 % de NaCl associado com NaNO<sub>2</sub> (Vetec) de 200 ppm para a capacidade de crescer em caldo MRS depois de 72 h a 37 ° C de incubação.

### 2. Propriedades probióticas

#### Tolerância ao simulado de suco gástrico e intestinal

A cepa BLS29 foi verificada quanto à sua tolerância ao trato gastrointestinal superior por simulado gástrico e sucos intestinais de acordo com Meira *et al.*, (2012) com modificações. Depois de duas vezes propagadas, as células bacterianas com 24 h de incubação em caldo MRS foram concentradas por centrifugação (12000 g durante 5 min), lavadas duas vezes em tampão fosfato pH 7,0 e suspensas em solução de NaCl 0,5 %. Duzentos microlitros (ou 200µl) da suspensão celular foram incubados a 37 ° C em banho (De Leo) na presença de 1,0 ml de sucos simulados. Contagens de células viáveis foram determinadas no momento inicial e às 3 h para a tolerância de trânsito gástrico e após 4h de tolerância trânsito intestinal. A solução de suco gástrico simulado foi preparado fresco diariamente contendo 3 mg/ml de pepsina (Sigma ), 0,5 % de

NaCl e acidificou-se com HCl até pH 4-0, 3-0, 2-5 e 2-0. As células de BLS29 sobreviventes ao pH 2,0 (ácido-adaptadas) e não ácido-adaptadas foram inoculadas em suco gástrico simulado. O suco intestinal simulado consistiu de 1 mg/ml de pancreatina (Sigma), 0,5 % de NaCl e ajustada a pH 8,0 com ou sem 5g/l de bile suína (Sigma). Ambas as soluções foram filtradas utilizando membrana de filtração de 0,22 µm (Biofil).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Propriedades tecnológicas

A cepa testada apresentou resultados esperados para ser aplicado tecnologicamente, demonstrando ser homofermentativa, acidificando o meio de cultura rapidamente, alcançando pH 3,89 em 48h, quando comparada à outras cepas da mesma espécie isoladas do produto, as quais alcançaram mínimo de pH 4,6 nas mesmas condições de incubação. A cepa também conseguiu multiplicar-se na presença de sais de cura, conforme foi detectado por densidade óptica.

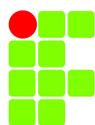
Tais características são importantes para o desenvolvimento de um embutido cárneo de qualidade, já que a presença de CO<sub>2</sub> no produto pode causar defeitos que sejam desagradáveis aos olhos do consumidor. A rápida acidificação é necessária para que o microrganismo consiga competir e manter sua população mais elevada do que a de patógenos e outros competidores que por ventura possam comprometer a qualidade do embutido (TERRA *et al.*, 2004).

### Propriedades probióticas

A cepa BL29, que exibiu desempenho favorável, quando submetidos aos ensaios acima descritos e que mostrou capacidade para inibir o crescimento de diversos agentes patogênicos (SENTER *et al.*, 2014), foi testada quanto ao seu potencial probiótico para resistir ao efeito de sucos simulados gástrico e intestinal (Tabela 1).

**Tabela 1** - Sobrevivência de *Lactobacillus plantarum* BLS29 à diferentes valores de pH, simulando condições gástricas.

Cepa	Tempo (horas)	pH			
		2,0	2,5	3,0	4,0
<i>Lactobacillus plantarum</i> BLS29	0	8,23±0,17	8,48±0,08	8,23±0,17	8,23±0,17
	3	5,44±0,13	6,28±0,25	8,71±0,13	8,31±0,01



Uma alíquota de 100 µl da BLS29 sobrevivente ao pH 2,0 (BLS29aa), foi inoculada em caldo MRS e incubada a 37°C, posteriormente submetida à sobrevivência aos sais biliares (Tabela 2).

**Tabela 2** - Tolerância da cepa *L. plantarum* BLS29 não ácido-adaptada e ácido-adaptada (BLS29aa) em suco intestinal simulado.

Cepa	Tempo (h)	Log10 (UFC/ml <sup>-1</sup> )		
		CN	PC	PC+SB
BLS29	0	8,78± 0,09	7,99 ± 0,14	8,21 ± 0,05
BLS29aa	0	8,03± 0,25	8,18± 0,07	8,07± 0,01
BLS29	4	7,92± 0,11	8,17 ± 0,10	8,5 ± 0,08
BLS29aa	4	8,02± 0,06	8,27± 0,11	8,49± 0,03

CN (controle negativo), PC (suco intestinal contendo pancreatina), PC+SB (suco intestinal contendo pancreatina e sais biliares).

Para que o microrganismo consiga chegar ao intestino e colonizá-lo, ele deve sobreviver às condições ácidas dos fluídos gástricos e aos sais biliares no intestino, resultado que foi obtido com sucesso por *L. plantarum* BLS29. É possível perceber que BLS29 tem um aumento populacional na presença de pancreatina com ou sem sais biliares, concordando com resultados obtidos por Pennacchia *et al.* (2004).

Alguns fatores que pode impactar negativamente no desenvolvimento de culturas funcionais em ambiente cárneo, como a concentração de sais de cura, baixo pH e atividade de água (DE VUYST *et al.*, 2008), por isso é mais indicado utilizar cepas isoladas desse tipo de ambiente, já que estão melhor adaptadas à estas condições (HUGAS *et al.*, 1993; PENNACCHIA *et al.*, 2006). Por esse motivo, a cepa BLS29 foi escolhida para dar sequência ao estudo, já que sobrevive bem à esse tipo de condições.

## CONCLUSÕES

Este estudo demonstra que *L. plantarum* BLS29, isolado de linguiça suína colonial apresenta potencial probiótico, devendo ser testado no produto e em animais para confirmar suas propriedades sensoriais e funcionais.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem pelo fomento recebido

da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Santa Catarina (FAPESC – Universal nº 04/2012) e da Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação (PRPPGI – Editais nº12/2013 e nº16/2013) do Instituto Federal de Santa Catarina – IFSC.

## REFERÊNCIAS

ARIHARA, K. Strategies for designing novel functional meat products. **Meat Science**. 74:219-229, 2006.

DE VUYST, L.; FALONY, G.; LEROY, F. Probiotics in fermented sausages. **Meat Science**. 80:75-78, 2008.

ERKKILÄ, S.; SUIHKO, M.L.; EEROLA, S.; PESTÄJÄ, E.; MATTILA-SHANDHOLM, T. Dry sausage fermented by *Lactobacillus rhamnosus* strains. **Int J Food Microbiol**. 64:205-210, 2001.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION – FAO/WHO (2001). Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Report of a joint FAO/WHO expert consultation, Córdoba, Argentina. <[http://ftp.fao.org/es/esn/food/probioreport\\_en.pdf](http://ftp.fao.org/es/esn/food/probioreport_en.pdf)>.

HUGAS, M.; GARRIGA, M.; AIMERICH, T.; MONFORT, J.M. Biochemical characterization of lactobacilli from dry fermented sausages. **Int J Food Microbiol** 18:107-113, 1993.

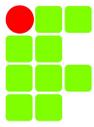
INCZE, K. Dry fermented sausage. **Meat Science** 49:169 -177, 1998.

MACEDO, R.E.F.; PFLANZER, P.S.; GOMES, C.L. Probiotic Meat Products. In: Rigobelo IC, (Org.) **Probiotic in animals**. 2012. <http://www.intechopen.com/books/probiotic-in-animals>

MEIRA, S.M.M.; HELFER, V.E.; VELHO, R.V.; LOPES, F.C. BRANDELLI, A. Probiotic potential of *Lactobacillus* spp. isolated from Brazilian regional ovine cheese. **Journal of Dairy Research** 79:119-127, 2012.

PENNACCHIA, C.; ERCOLINI, D.; BLAIOTTA, G.; PEPE, O.; MAURIELLO, G.; VILLANI, F. Selection of *Lactobacillus* strains from fermented sausages for their potential use as probiotics. **Meat science** 67:309-317, 2004.

PENNACCHIA, C.; VAUGHAN, E.E.; VILLANI, F. Potential probiotic *Lactobacillus* strains from



fermented sausages: Further investigations on their probiotic properties. **Meat Science** 73:90-101, 2006.

SETER, L.; BUSATTA, L.L.; CAMARGO, L.P.; MARTINI, M. de L.; TONDO, E.C. Atividade antimicrobiana contra patógenos alimentares por bactérias ácido-lácticas isoladas de fermentação natural de linguiças suínas. In: **VII Simpósio Brasileiro de Microbiologia Aplicada**. 2014. Anais. Porto Alegre: UFRGS, 2014. CD-ROM.

Terra, N.; Terra, A.B. de M.; Terra, L. de M. **Defeitos nos produtos cárneos: origens e soluções**. Varela, São Paulo. 2004.