



ESTUDO DO PERFIL BIOQUÍMICO PARA METABOLISMO DE CARBOIDRATOS EXIBIDO POR LINHAGENS DE STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS UTILIZADAS NA PRODUÇÃO DE BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA¹

Ângela Maria Fiorentini², Cristiano Augusto Ballus³, Éverton Berwanger Balbom⁴, Marlon Leonardo de Oliveira⁵, Márcio Ferraz Cunha⁶, Vera Maria Klajn⁷

INTRODUÇÃO: As diferentes linhagens de espécies bacterianas exibem diferentes perfis bioquímicos para o metabolismo dos nutrientes. Algumas linhagens possuem enzimas para metabolizar determinados compostos, as quais podem estar ausentes em outras linhagens, inclusive dentro da mesma espécie. Assim, é possível até mesmo realizar uma pré-identificação da espécie bacteriana através do conhecimento do seu perfil metabólico. No caso das culturas empregadas para a manufatura de produtos lácteos fermentados, é de grande valia conhecer qual o perfil exato de metabolismo dos carboidratos, já que a principal função das culturas starter é metabolizar a lactose do leite, produzindo o ácido láctico. Com base nisso, realizou-se um estudo do perfil de metabolismo de carboidratos para duas linhagens da cultura starter *Streptococcus thermophilus*, sendo uma delas produtora de exopolissacarídeos, de forma a identificar as diferenças entre as mesmas, bem como possíveis aplicações tecnológicas deste conhecimento. **MATERIAL E MÉTODOS:** O estudo do perfil bioquímico para metabolismo de carboidratos, foi realizado utilizando-se um kit comercial, denominado API 50 CHL (BioMérieux). Inicialmente, as linhagens de *S. thermophilus* (simples e produtora de exopolissacarídeos), previamente isoladas, foram cultivadas em caldo MRS, a 37,0°C, por 24 horas. Em seguida, ambas as linhagens foram estriadas em placas de ágar MRS, e incubadas a 37,0°C por 24 horas. Após o desenvolvimento das colônias no ágar MRS, estas foram transferidas para um tubo contendo 5,0 mL de água destilada estéril. As colônias foram transferidas até a obtenção de uma suspensão cuja turbidez se assemelhava ao padrão 5 de McFarland. A partir desta suspensão, foi retirada certa quantidade de gotas, as quais eram transferidas para outro tubo contendo 5,0 mL de água destilada estéril, até que a turbidez desta nova suspensão se aproximasse do padrão 2 de McFarland. A quantidade de gotas necessária para preparar esta nova suspensão foi registrada, sendo que o dobro deste volume foi, então, adicionado à ampola de API 50 CHL Medium. Feito isto, procedia-se com a montagem das galerias na caixa de incubação. O kit possui 5 tiras, cada uma com 10 tubos numerados. Cada tubo corresponde a um teste bioquímico. A suspensão preparada no API 50 CHL Medium foi distribuída em todos os 50 tubos do kit, com a posterior adição de cerca de 0,1 mL de óleo de parafina, para o desenvolvimento de anaerobiose. Após a inoculação de todos os tubos, a caixa contendo as galerias foi incubada a 37,0°C, sendo que a leitura dos resultados foi realizada após 24 h e 48 h. Para a interpretação dos resultados, a coloração amarela indica resultado positivo; a coloração esverdeada, resultado duvidoso; e a coloração azul, resultado negativo. **RESULTADOS:** A linhagem simples de *S. thermophilus* apresentou resultado positivo (após 48 h) para os seguintes testes: D-glicose; esculina/citrato de ferro; D-lactose e D-sacarose. Em oposição, a linhagem de *S. thermophilus* produtora de exopolissacarídeos



apresentou resultado positivo (após 48 h) para grande parte dos testes: D-ribose; D-galactose; D-glicose; D-frutose; D-manose; D-sorbitol; N-acetilglicosamina; amigdalina; arbutina; esculina/citrato de ferro; salicina; D-celobiose; D-maltose; D-lactose; D-melibiose; D-sacarose; D-trealose; D-melezitose; D-rafinose e D-turanose. Conforme manual fornecido com o kit, 100% das linhagens de *S. thermophilus* são capazes de metabolizar a D-glicose, a D-lactose e a D-sacarose. Assim, ambas as linhagens encontram-se de acordo com este postulado, visto que foram capazes de metabolizar estes compostos. Apenas 50% das linhagens de *S. thermophilus* são capazes de metabolizar a frutose, e neste estudo, somente a linhagem produtora de exopolissacarídeo obteve resultado positivo para a frutose. Além disso, a linhagem produtora de exopolissacarídeo foi capaz de metabolizar, no total, 19 carboidratos (além da esculina/citrato de ferro, que foi o 20º teste positivo), demonstrando possuir um sistema enzimático altamente desenvolvido. Este resultado é perfeitamente explicável, pois os exopolissacarídeos, cujas estruturas já foram elucidadas através de estudos científicos, são compostos por carboidratos como glicose e frutose (no caso dos homopolissacarídeos), e por combinações de D-glicose, D-galactose, L-ramnose, N-acetilglicosamina, entre outros (no caso de heteropolissacarídeos). Com base nisto, é evidente que, para sintetizar exopolissacarídeos, a linhagem bacteriana também deverá ser capaz de metabolizar esta variedade de carboidratos, principalmente quando o exopolissacarídeo for do tipo heteropolissacarídeo. A peculiar capacidade de sintetizar exopolissacarídeos deve se originar, portanto, justamente desta maior habilidade para absorver e metabolizar uma gama de diferentes carboidratos, os quais serão usados na construção destes bioespessantes. Também foi interessante verificar que a linhagem produtora de exopolissacarídeo exibiu a capacidade de metabolizar D-rafinose, que é um dos oligossacarídeos presente na soja, e considerado um prebiótico. Assim, a adição de leite de soja em formulações de bebida láctea pode favorecer o desenvolvimento desta linhagem de *S. thermophilus*. **CONCLUSÕES:** Conhecer o perfil bioquímico para o metabolismo de carboidratos é de fundamental importância, pois permite o desenvolvimento de estratégias eficazes para ampliar a viabilidade das linhagens de culturas starter. Estas informações podem até mesmo ser usadas para aumentar a secreção de exopolissacarídeos pelas linhagens produtoras, a partir de testes nos quais se empregariam diferentes quantidades dos carboidratos metabolizados pela linhagem, avaliando-se qual o efeito que estas diferentes quantidades exercem sobre o teor de exopolissacarídeos – os resultados destes testes poderiam, posteriormente, ser aplicados ao processamento industrial de bebidas lácteas contendo linhagens produtoras de exopolissacarídeos, de forma a obter um maior rendimento de bioespessantes, e conseqüentemente, produtos com propriedades reológicas mais adequadas.

¹ Trabalho de Iniciação Científica.

² Profª orientadora, Departamento de Biologia e Química – UNIJUI, Campus Santa Rosa; afiore@unijui.edu.br

³ Acadêmico do Curso de Química Industrial de Alimentos, bolsista BIC/FAPERGS.

⁴ Acadêmico do 8º Semestre do Curso de Química Industrial de Alimentos.

⁵ Acadêmico do 8º Semestre do Curso de Química Industrial de Alimentos.



⁶ Prof^o colaborador, Departamento de Nutrição – UNIUBE.

⁷ Prof^a pesquisadora, Departamento de Biologia e Química – UNIJUÍ, Campus Santa Rosa.