



ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA
INSTITUTO POLITÉCNICO DE CASTELO BRANCO

Identificação e Caracterização de
***Lactobacillus* spp.**

Engenharia Biológica e Alimentar
Relatório do Trabalho de Fim de Curso

João José Popo Lobo Antunes Pereira

—◆—
CASTELO BRANCO

2008

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJECTIVOS	3
2.1. Objectivo geral.....	3
2.2. Objectivos específicos	3
3. BACTÉRIAS LÁCTICAS.....	3
3.1. Caracterização do género <i>Lactobacillus</i>	4
3.1.1. Fermentação láctica	5
3.2. Acção de <i>Lactobacillus</i> spp. em relação aos microrganismos potencialmente patogénicos	7
3.2.1. Inibição do crescimento de microrganismos patogénicos pela produção de peróxido de hidrogénio	8
3.2.2. Inibição do crescimento de microrganismos patogénicos pela produção de ácidos orgânicos	9
3.2.3. Inibição do crescimento de microrganismos patogénicos pela produção de ácido láctico	10
3.2.4. Inibição do crescimento de microrganismos patogénicos pela produção de diacetil	11
3.2.5. Competição por nutrientes	11
3.2.6. Inibição do crescimento de microrganismos patogénicos por outros mecanismos	12
3.2.6.1. Propriedades das bacteriocinas	13
3.2.6.2. Mecanismos de acção das bacteriocinas	13
3.2.7. Inibição dos microrganismos patogénicos pelo mecanismo da adesão	14
4. MATERIAL E MÉTODOS	17
4.1. Material biológico e condições de cultura	17
4.1.2. Composição dos meios de cultura	17
4.2. Preparação das amostras de <i>Lactobacillus</i> spp.....	19
4.3. Actividade da catalase	19

4.4. Provas bioquímicas	20
4.5. Determinação da produção de peróxido de hidrogénio (H ₂ O ₂).....	20
4.6. Determinação da acidez titulável	21
4.7. Adesão bacteriana a hidrocarbonetos (MATH – Microbial Adhesion to Hydrocarbons)	21
4.8. Produção de biofilme	22
4.9. Determinação da concentração mínima inibitória (CMI).....	23
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
5.1. Características morfológicas das estirpes de <i>Lactobacillus</i> estudadas	25
5.2. Produção de ácido láctico.....	26
5.3. Produção de peróxido de hidrogénio (H ₂ O ₂)	28
5.4. Hidrofobicidade.....	29
5.5. Produção de biofilme	30
5.6. Determinação da concentração mínima inibitória (CMI).....	31
6. CONCLUSÃO	32
7. BIBLIOGRAFIA	33
8. ANEXOS	37

RESUMO

Os *Lactobacillus* spp. constituem um grupo importante de bactérias ácido lácticas, estando amplamente difundidos na natureza. Muitas espécies têm aplicações na indústria de alimentos, quer como iniciadores de fermentação quer na manutenção da qualidade dos produtos lácteos processados. Os *Lactobacillus* spp. são ainda descritos, de acordo com a sua importância na saúde humana, como fazendo parte da flora gastrointestinal endógena e actuando como regulador do ecossistema vaginal da mulher em idade reprodutora.

Este trabalho teve como objectivo a caracterização de quatro estirpes de *Lactobacillus* de colecção ATCC, nomeadamente, *Lactobacillus gasseri* ATCC 19992, *Lactobacillus casei* ATCC 393, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 e *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014. A caracterização das culturas foi realizada de acordo com as características de *Lactobacillus* presentes no *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* como a morfologia, coloração de Gram e fermentação dos diferentes açúcares. Com o objectivo de caracterizar as estirpes de Lactobacilos mencionadas, foram aplicadas algumas técnicas, nomeadamente a avaliação da capacidade de produzirem ácido láctico através de uma titulação, peróxido de hidrogénio por um método colorimétrico, a capacidade de adesão a hidrocarbonetos, calculando o índice de hidrofobicidade, a produção de biofilme e ainda foi quantificada a resistência dos Lactobacilos a um antibiótico, a ulifloxacina determinando a Concentração Mínima Inibitória (CMI).

De acordo com os resultados obtidos ao longo deste trabalho, pode-se constatar que as estirpes de *Lactobacillus casei* e *Lactobacillus plantarum* foram as que produziram maior quantidade biomassa, logo obtiveram os melhores resultados na produção de ácido láctico e na capacidade de formar biofilme. As estirpes *Lactobacillus gasseri* e *Lactobacillus acidophilus* possuem maior probabilidade de adesão devido à sua maior hidrofobicidade. Neste estudo e segundo o método utilizado, nenhuma das estirpes demonstrou capacidade para produzirem peróxido de hidrogénio. Ficou também demonstrado, que as estirpes de Lactobacilos utilizadas são resistentes ao antibiótico utilizado neste estudo.

Palavras-chave: *Lactobacillus*, ácido láctico, peróxido de hidrogénio, hidrofobicidade, biofilme.