

Atividade proteolítica de cepas de *Lactobacillus mucosae* isoladas de leite de cabra

Georgia Dias de Moraes^{1,2}, Terezinha Fernandes Duarte², Liana Maria Ferreira da Silva², Hévila Oliveira Salles², Antônio Silvio do Egito², Karina M. Olbrich dos Santos².

¹ IFCE/RENORBIO

² Embrapa Caprinos e Ovinos

A seleção de cepas bacterianas para a formulação de fermentos utilizados na produção de queijos deve levar em conta a obtenção de características sensoriais desejáveis. As bactérias lácticas tem papel fundamental para a textura, sabor e aroma do queijo e obter estas características depende da formulação de fermentos lácticos adequados. A proteólise que ocorre durante a maturação e estocagem de queijos está diretamente associada a essas características e, portanto, a atividade proteolítica é um dos critérios na seleção de cepas para produção de fermentos. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade proteolítica de três cepas de *Lactobacillus mucosae* isoladas de leite de cabra. As cepas de *L. mucosae* foram previamente avaliadas como potencialmente probióticas por sua habilidade de sobreviver a condições simuladas do trato gastrointestinal, capacidade de desconjugar sais biliares e atividade antimicrobiana frente a enteropatógenos. Para adeterminar a atividade proteolítica, as cepas foram cultivadas em caldo MRS a 37 °C por 24 h. O *pellet* da cultura obtido após centrifugação e três lavagens com solução salina, foi redissolvido em leite desnatado reconstituído a 10% (LDR 10%) até atingir o volume de 10 mL, seguindo incubação a 37 °C por 24 h. Três amostras de LDR 10% sem bactéria foram também incubadas como controle. As culturas foram centrifugadas a 10,000 x g, por 30 min, a 4 °C para obtenção do sobrenadante. A atividade proteolítica foi determinada no sobrenadante usando o método de o-phthaldialdehyde (OPA), onde a 250 µL de sobrenadante foram adicionados de 50 µL de água miliQ e 500 µL de ácido tricloracético a 0,75N. Após 15min as amostras foram centrifugadas a 13,000 x g por 15 min e 100 µL do sobrenadante foi misturado com 2 mL de solução OPA. Após 2 min, efetuou-se a leitura em espectrofotômetro a 340 nm. A análise foi realizada em triplicata, com três repetições independentes. Após obter a diferença entre a absorbância a 340 nm do LDR 10% e o LDR 10% incubado, uma unidade de atividade (U) proteolítica foi definida como a quantidade de enzima requerida para produzir um aumento de 0,001 na densidade óptica. A atividade específica das cepas em leite fermentado foi calculada dividindo em cada amostra a unidade de atividade pela concentração de proteína (mg/mL) determinada pelo método de Bradford. Os resultados de atividade específica encontrados para as cepas *L. mucosae* CNPC006, CNPC007 e CNPC009 foram, respectivamente: 544,52, 1.478,60 e 394,99 U/mg de proteína. De acordo com os resultados, a cepa *L. mucosae* CNPC007 apresenta atividade proteolítica específica cerca de três vezes superior que as demais cepas avaliadas. Embora sejam necessários testes adicionais, os resultados sugerem que a cepa CNPC007 pode contribuir para a proteólise quando aplicada a produtos lácteos fermentados.