



FREQUÊNCIA DO GENE *aprX* ASSOCIADO AO POTENCIAL DETERIORANTE PROTEOLÍTICO DE *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* EM LEITE CRU CAPRINO (4°C)

Autor(res)

Elsa Helena Walter De Santana
Ana Paula Carvalho Gomes Dos Santos
Nathalia Thalitha Bernardes Dos Santos
Isabelle Trannin Vieira
Samera Rafaela Bruzaroski

Categoria do Trabalho

2

Instituição

CENTRO UNIVERSITÁRIO ANHANGUERA

Introdução

O leite de cabra é uma excelente matriz para produção de derivados lácteos diferenciados, devido a riqueza dos constituintes, como queijos e iogurtes, de alta qualidade e valor agregado, representando uma maior remuneração aos produtores e a cadeia produtiva, devido aos seus constituintes.¹

Dentre os psicrotrofos, o gênero *Pseudomonas* spp. é o deteriorante mais frequentemente isolado e pode apresentar o gene *aprX* em seu DNA, que é responsável pela síntese de metaloprotease *aprX*, ligado a produção de protease caseinolítica. Esta enzima termoresistente degrada micelas de caseína, liberando produtos solúveis, como polipeptídeos e aminoácidos, podendo causar defeitos sensoriais em lácteos e reduzir o rendimento industrial.²

Dentro das espécies de *Pseudomonas* spp., a *Pseudomonas fluorescens* é a espécie mais comum no leite cru refrigerado e na ordenha ambiente de ambos os bovinos,³ por isso a importância de pesquisas ao potencial deteriorante dessa espécie no leite cru caprino.

Objetivo

O objetivo do presente trabalho foi identificar a presença do gene *aprX* e o potencial proteolítico dos isolados de *Pseudomonas fluorescens* obtidos de amostras de leite cru caprino refrigerado a 4 °C.

Material e Métodos

Amostras representativas (500ml) do leite de conjunto de 3 propriedades caprinas (norte do Paraná) foram coletadas, armazenadas a 4°C / 72h e plaqueadas em *Pseudomonas* Agar Base suplementado com CFC (25°C / 48h) para obtenção de isolados de *Pseudomonas* spp. Após a incubação, selecionou-se uma placa por amostra e todas as colônias tiveram DNAs extraídos por lise térmica. A PCR foi realizada utilizando-se os primers PA-GS-F e PA-GS-R para confirmação do gênero *Pseudomonas* ssp., os primers 16SPSEflu-F e 16SPSE-R para confirmação da espécie de *Pseudomonas fluorescens* e os primers FPaprl e RFaprl para confirmação do gene *aprX*. A



capacidade (presença ou ausência de halos de proteólise) e o potencial (mensuração dos halos em cm) proteolítico dos isolados de *Pseudomonas* spp. foi avaliado em Milk Agar (10%) (21°C / 72h). Halos 2 cm foram considerados como baixo potencial proteolítico e > 2 cm foram considerados de alto potencial.

Resultados e Discussão

Dos 100 isolados obtidos das amostras, 92 foram confirmados como *Pseudomonas* spp. e 71 dos confirmados eram *Pseudomonas fluorescens*. Do total de isolados de *Pseudomonas fluorescens*, 98,30% tiveram o gene *aprX* amplificado. Quanto à capacidade proteolítica, 87,2% (62) dos isolados apresentaram capacidade proteolítica, sendo 15,49% (11) classificados como alto potencial proteolítico (halos > 2cm) e 71,83% (51) como baixo potencial. A ausência da expressão da capacidade proteolítica foi observada em 12,67% (9) dos isolados testados.

Devido a presença do gene *aprX* e ao potencial proteolítico presente na maioria dos isolados, deve-se enfatizar a necessidade do controle da população de *Pseudomonas fluorescens* no leite cru caprino para obtenção de derivados lácteos de melhor qualidade com maior vida útil, pois a presença desses microrganismos afeta o rendimento industrial e compromete suas características e qualidade físico químicas, nutricionais e sensoriais.⁴

Conclusão

Os resultados obtidos enfatizam a importância da higiene na obtenção da matéria prima, para assim obter leite cru caprino com baixas contagens iniciais de *Pseudomonas fluorescens* no leite utilizado principalmente a produção de derivados.

Agência de Fomento

FUNADESP-Fundação Nacional de Desenvolvimento do Ensino Superior Particular

Referências

1. Pandya, AJ., Ghodke, KM. 2007. Goat and sheep milk products other than cheeses and yoghurt. *Small Ruminant Research*; 68, 193–206.
2. Zhang, C., Bijl, E., Svensson, B., Hettinga, K., 2019. The Extracellular Protease *AprX* from *Pseudomonas* and its Spoilage Potential for UHT Milk: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 18, 834-852. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12452>.
3. Longhi, R., Bruzaroski, SR., Eleodoro, JI., Poli-Frederico, RC., Fagnani, R., Ludovico, A., Santana, EHW., 2020. Presence of *aprX* gene in *Pseudomonas* spp. from refrigerated raw milk and their proteolytic ability. *Semina: Ciências Agrárias*. 41 (4),1421-1426. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2020v41n4p1421>.
4. Decimo, M., Morandi, S., Silveti, T., Brasca, M., 2014. Characterization of gramnegative psychrotrophic bacteria isolated from Italian bulk tank milk. *Journal of Food Science*. 79 (10), 2081-2090. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12645>.