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

Autor(res)

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

Categoria do Trabalho

Iniciação Científica

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 psicrotróficos, 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 4ºC / 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 FPaprI e RFaprI 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 fisico 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., Silvetti, 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.