

**MARCELO RODRIGUES DE MELO**

**PRODUÇÃO DE ACIDO PROPIONICO EM SORO DE QUEIJO POR  
BACTÉRIA DO RÚMEN BOVINO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

**VIÇOSA**  
**MINAS GERAIS -BRASIL**  
**2007**

## RESUMO

MELO, Marcelo Rodrigues de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2007. **Produção de ácido propiônico em soro de queijo por bactéria do rúmen bovino.** Orientador: Hilário Cuquetto Mantovani. Co-Orientadores: Flávia Maria Lopes Passos e Frederico José Vieira Passos.

O ácido propiônico é um ácido orgânico de três carbonos, e sua principal aplicação é como conservante de rações, grãos e alimentos. Estratégias alternativas de aplicação do ácido propiônico têm sido propostas, entre elas sua utilização na alimentação animal. Dentre as principais limitações para a produção fermentativa deste ácido orgânico estão o baixo rendimento e a baixa produtividade. Neste trabalho, foram isoladas 38 bactérias do rúmen bovino capazes de produzir ácidos orgânicos a partir da lactose do soro de queijo. Dentre estas, apenas o isolado 22A produziu ácido propiônico como principal produto da fermentação, sendo este selecionado para os experimentos Posteriores. O isolado 22A apresentou-se como bacilo Gram-negativo, capaz de metabolizar diversos açúcares (glicose, lactose, maltose, sacarose, celobiose e manose), ácidos orgânicos (lactato, piruvato, malato, fumarato e succinato) e glicerol, produzindo ácido propiônico como principal produto final da fermentação. Os resultados indicaram que glicerol e succinato foram às fontes de carbono que propiciaram maior rendimento os produto e recuperação de carbono. A produção de biomassa e o rendimento de produto em meio mineral foram afetados pela concentração de extrato de levedura no meio de cultivo. Quando 2 g/L de extrato de levedura foram utilizadas, a concentração de biomassa e o rendimento de produto aumentaram cerca de 270 % e 260 %, respectivamente, em relação ao controle sem extrato de levedura. O cultivo do isolado 22A em soro de queijo diluído (14 mM de lactose) indicou que a lactose foi completamente consumida após 16 horas de incubação e que o coeficiente de rendimento de produto para o ácido propiônico e a relação acetato/propionato foram 2,37 mol/mol e 0,51, respectivamente. Quando concentrações crescentes de lactose foram adicionadas ao meio basal sem controle de pH, observou-se a redução no rendimento de ácido propiônico e o aparecimento de outros produtos finais na fermentação. Nestas condições, o pH do meio de cultura decresceu rapidamente, atingindo valores de aproximadamente 4,3 após 24 horas de incubação, para todas as concentrações de lactose testadas. O controle do pH do meio em 6,8 pela adição de NaOH não estimulou a produção de ácido propiônico pelo isolado 22A, mas observou-se consumo de aproximadamente 80% do substrato em concentrações de até 338,70 mM. O isolado 22A cresceu em meio basal com pH inicial de 8,0 e apresentou velocidade específica de crescimento de 0,317 h<sup>-1</sup> e rendimento de ácido propiônico de 2,01 mol/mol. Esses resultados foram superiores aos obtidos com o isolado 22A quando cultivado em pH 7,0. Os resultados deste trabalho indicam que o isolado 22A possui potencial para produção de ácido propiônico em soro de queijo. Entretanto, outros estudos deverão ser realizados para a adequação do sistema de cultivo e a otimização do rendimento de produto.

## ABSTRACT

MELO, Marcelo Rodrigues de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March 2007. Propionic acid production in cheese whey by ruminal bacteria. Adviser: Hilario Cuquetto Mantovani. Co-advisers: Flávia Maria Lopes Passos and Frederico José Vieira Passos.

Propionic acid is an organic acid of three carbons that has been mainly used to preserve rations, grains and foods. Alternative strategies for application of propionic acid have been proposed, including their utilization in animal feeds. In this work, 38 bacteria were isolated from the bovine rumen and showed to produce organic acids using lactose from cheese whey. Only six isolates produced propionic acid, and the isolate named 22A showed the highest propionic acid production, and was selected for further study. The isolate 22A was a Gram-negative rod that utilized several carbon sources, including carbohydrates (glucose, lactose, maltose, saccharose, cellobiose and mannose), organic acids (lactate, pyruvate, malate, fumarate and succinate) and glycerol. Regardless of the carbon source used, propionic acid was always the major fermentation end-product. Our results indicated that glycerol and succinate were the carbon sources that provided highest product yield and carbon recovery. Biomass production and product yield in mineral media were both affected by yeast extract concentration. When yeast extract (2 g/L) was added to the culture medium, the concentration of biomass and product formation increased about 270 % and 260 % respectively, compared to control treatments without yeast extract. The cultivation of the isolate 22A in diluted cheese whey (14 mM lactose) showed that the carbon source was being completely consumed after 16 hours of incubation and that the propionic acid yield and the acetate:propionate ratio were 2,37 mol/mol and 0,51, respectively. When increasing concentrations of lactose were added to the basal medium without pH control, a decrease in propionic acid yield and the appearance of other end-products was observed. Under these conditions, the pH of the culture medium decreased rapidly, reaching values of approximately 4,3 after 24 hours of incubation, for all the lactose concentrations tested. The control of pH in 6,8 using NaOH did not stimulate the production of propionic acid by isolate 22A, but lactose consumption increased to approximately 80 % in concentrations up to 338,70 mM. When isolate 22A was cultivated in basal medium with initial pH of 8,0 the specific growth rate and yield of propionic acid were 0,317 h<sup>-1</sup> and 2,01 mol/mol, respectively. These results were better than those obtained at pH 7,0. These results indicated that isolated 22A has potential for propionic acid production in cheese whey. However, further work is needed to improve the cultivation system and to optimize the propionic acid yield.