

BRUNO MEIRELES XAVIER

**Fermentação de soro de queijo por bactérias produtoras de ácido propiônico  
isoladas do rúmen de bovinos e efeitos nos parâmetros de fermentação  
ruminal *in vitro*.**

Tese 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  
2004

## RESUMO

XAVIER, Bruno Meireles, M.S., Universidade Federal de Viçosa, Agosto de 2004. **Fermentação de soro de queijo por bactérias produtoras de ácido propiônico isoladas do rúmen de bovinos e efeitos nos parâmetros de fermentação ruminal *in vitro*.** Orientador: Hilário Cuquetto Mantovani. Conselheiros: Célia Alencar de Moraes e Flávia Maria Lopes Passos.

Métodos alternativos ao uso de ionóforos têm sido sugeridos para a manipulação da fermentação ruminal. Ácidos orgânicos têm sido utilizados com sucesso para esse objetivo, mas a baixa disponibilidade destes compostos pode inviabilizar a sua aplicação *in vivo*. Entretanto, o uso de substratos baratos e de alta disponibilidade para a produção de ácido propiônico e outros produtos fermentativos usados como substratos gliconeogênicos pode reduzir este problema. O objetivo deste trabalho foi isolar e caracterizar bactérias produtoras de ácido propiônico do rúmen de bovinos que fossem capazes de usar soro de queijo como substrato para a fermentação. Dezenove bactérias foram isoladas do rúmen de bovinos capazes de fermentar lactose e converter lactato em ácido propiônico. Um dos dezenove isolados, isolado P01, apresentou elevada produção de biomassa e alto rendimento de propionato, sendo selecionado para posterior caracterização. O isolado P01 foi caracterizado como bactéria Gram-positiva, de forma esférica e que apresenta arranjos em diplococos ou cadeias longas. O isolado P01 apresentou velocidade específica de crescimento em lactato de aproximadamente 0,300 h<sup>-1</sup>, utilizou vários substratos (lactose, sacarose, celobiose, maltose, xilose e glicose)

como fonte de carbono e mostrou-se resistente a altas concentrações de lactose, lactato e ácido propiônico. Esse microrganismo foi capaz de crescer mesmo em concentrações de até 160  $\mu\text{mol/L}$  de monensina ou lasalocida. O isolado P01 produziu até 17,8 g/L de ácido propiônico e 11,2 g/L de acético a partir de soro de queijo ultrafiltrado contendo cerca de 4,0 % de sólidos (36 g/L de lactose). A incorporação de soro fermentado ao líquido de rúmen aumentou a digestibilidade de forrageiras em até 11 %, elevou a concentração de ácidos orgânicos totais em até 15 % e reduziu a relação acetato/propionato em cerca de 23 %. A presença do soro fermentado não teve efeito significativo sobre a concentração de proteína microbiana, mas promoveu o aumento da produção de amônia *in vitro*.

## ABSTRACT

XAVIER, Bruno Meireles, M.S., Universidade Federal de Viçosa, August 2004.  
**Cheese whey fermentation by propionic acid producing bacteria from the bovine rumen and effects on ruminal fermentation *in vitro*.** Adviser: Hilário Cuquetto Mantovani. Committee members: Célia Alencar de Moraes and Flávia Maria Lopes Passos

Organic acids have been used as an alternative to ionophores to manipulate ruminal fermentation, but some organic acids tested as feed additives are not readily available and their application *in vivo* may be limited. However, the use of abundant, low-cost substrates to produce propionic acid and other fermentation products that are used as gluconeogenic substrates by the ruminant could lessen this problem. This work aimed to isolate and characterize propionic acid-producing bacteria from the rumen of cattle that used cheese whey as substrate for fermentation. Nineteen bacteria were isolated from the bovine rumen that could convert lactose and lactate to propionic acid as their major fermentation product. The isolate showing the greatest biomass and propionate production (isolate P01) was selected for further characterization. The isolate P01 was Gram-positive cocci, arranged as diplococcus or in long chains. The isolate P01 had a growth rate in lactate and lactose around  $0,300\text{ h}^{-1}$ , could use several sugars as carbon source (sucrose, cellobiose, maltose, xylose e glucose), and was not severely affected by high concentrations of substrates (lactose and lactate) or propionic acid. The isolate P01 grew at concentrations of monensin and lasalocid that inhibited other Gram-positive ruminal bacteria, and even concentrations as high as  $160\text{ }\mu\text{mol/L}$  did not prevent cell

growth. The isolate P01 fermented cheese whey containing approximately 36 g/L of lactose and produced up to 17,8 g and 11,2 g per liter of propionate and acetic acid, respectively. Addition of fermented cheese whey (10% ratio) to ruminal fluid increased forage digestibility by 11 %, decreased the acetate to propionate ratio up to 23 % and increased total volatile fatty acids approximately 15 %. The fermented cheese whey had no significant impact on microbial protein concentration, but increased ammonia production *in vitro*. These results indicate that isolate P01 can ferment cheese whey lactose and the fermented product generated might improve ruminal fermentation *in vitro*.