

Engenharia de Alimentos

## **POTENCIAL DE APLICAÇÃO DA TÉCNICA DE CITOMETRIA DE FLUXO PARA ESTUDOS PROBIÓTICOS**

Thainá Oliveira Alves - 9º PERÍODO DE ENGENHARIA QUÍMICA, INICIAÇÃO CIENTÍFICA PIBIC-CNPq / UFLA, DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DOS ALIMENTOS/UFLA.

Elaine Maria Seles Dorneles - DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA/UFLA

Filipe Almendagna Rodrigues - ENGENHEIRO AGRÔNOMO, DEPARTAMENTO DE AGRICULTURA/UFLA

Olga Lucía Mondragón-Bernal - ORIENTADORA, DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DOS ALIMENTOS/UFLA - Orientador(a)

José Guilherme Lembi Ferreira Alves - COORIENTADOR, DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DOS ALIMENTOS/UFLA.

### **Resumo**

O método de quantificação microbiológica padrão por plaqueamento para probióticos é lento e não fornece informações sobre injúria celular e não viáveis, sendo estas características também relevantes para o estudo dos para-probióticos e pós-probióticos. Outras técnicas moleculares são caras e de difícil acesso para as indústrias. A técnica de citometria de fluxo tem uma análise mais completa no controle dos mesmos. O objetivo deste estudo foi adaptar a metodologia de citometria de fluxo e contagem padrão em placa com o intuito de reduzir os tempos de obtenção de resultados e maior precisão nas análises de probióticos por meio de otimização das variáveis de detecção. Foi realizado cultivo de células puras em meio MRS e quantificadas pelos métodos: contagem padrão em placa e citometria de fluxo. Foi efetuado o plaqueamento em profundidade das células, obtendo a média de  $4,45 \times 10^9$  UFC/mL de células. Para análise no citômetro foi realizado o preparo da amostra com 50% células frescas e 50% células mortas de *Bifidobacterium longum* sp. Os reagentes utilizados foram: Corantes Carboxifluoresceína diacetato (CFDA), Iodeto de propídio (PI) e fixador Mac's Fac's Fix (MFF). Para cada amostra foi realizado o pré tratamento e a coloração das amostras. Além disso foram estudadas 7 variáveis dependentes: tempo de centrifugação, quantidade de fixador, tempo de leitura e parâmetros de ajustes do citômetro: FL2 (PI), FL1 (CFDA), SSC (granulosidade) e número de eventos para ajuste da metodologia de citometria de fluxo utilizando delineamento experimental Plackett e Burman de 12 ensaios e 4 pontos centrais. Neste trabalho serão apresentados os resultados obtidos nos pontos centrais. Houve boa reproduzibilidade dos resultados nas três repetições do ponto central. Devido ao procedimento de 50% de células frescas e 50% de células mortas, o esperado seria obter um valor aproximado dessas porcentagens, mas foi observado que a maioria (48,18%) das células estão injuriadas, 20,87% estão vivas e 30,95% das células estão mortas indicando que o tratamento térmico realizado (100 °C x 30 min) não eliminou parte das células mas que as injuriou, mostrando certa resistência da *B. Longum* ao calor, e também que existem células injuriadas na cultura pura.

Palavras-Chave: Citômetro, Probióticos, Viabilidade.

Instituição de Fomento: Ao CNPq pela concessão da bolsa de Iniciação Científica e a FAPEMIG pelo apoio financeiro ao projeto

Link do pitch: <https://www.youtube.com/watch?v=ukhAr2UxdzI&feature=youtu.be>