

Vértices (Campos dos Goitacazes)

ISSN: 1415-2843 ISSN: 1809-2667 essentia@iff.edu.br

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia

Brasil

Caracterização de bactérias ácido láticas autóctones de Bom Jesus do Itabapoana/RJ: ação antagonista contra Listeria monocytogenes e provas bioquímicas

Silva, Layne Gaspayme da; Lopes, Daniel Saraiva; Bastos, Paula Aparecida Martins Borges Caracterização de bactérias ácido láticas autóctones de Bom Jesus do Itabapoana/RJ: ação antagonista contra Listéria monocytogenes e provas bioquímicas

Vértices (Campos dos Goitacazes), vol. 24, núm. 1, 2022

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Fluminense, Brasil

Disponible en: https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=625770384015

DOI: https://doi.org/10.19180/1809-2667.v24n12022p194-208 Este documento é protegido por Copyright © 2022 pelos autores.



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional.



Artigos Originais

Caracterização de bactérias ácido láticas autóctones de Bom Jesus do Itabapoana/RJ: ação antagonista contra Listeria monocytogenes e provas bioquímicas

Characterization of autochthonous lactic acid bacteria in Bom Jesus do Itabapoana (Brazil): antagonist action against Listeria monocytogenes and biochemical evidences

Caracterización de bacterias ácido lácticas autóctonas de Bom Jesus do Itabapoana (Brasil): acción antagonista contra Listeria monocytogenes y evidencias bioquímicas

Layne Gaspayme da Silva ¹ Brasil layne.gaspayme67@gmail.com

https://orcid.org/0000-0003-3581-8710

Daniel Saraiva Lopes ²
Brasil
danielsaraiva15.ds@gmail.com

https://orcid.org/0000-0002-6729-5208

Paula Aparecida Martins Borges Bastos ³ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Fluminense, Brasil pabastos@iff.edu.br

https://orcid.org/0000-0002-3563-4682

DOI: https://doi.org/10.19180/1809-2667.v24n12022p194-208 Redalyc: https://www.redalyc.org/articulo.oa? id=625770384015

> Recepción: 02 Abril 2021 Aprobación: 31 Mayo 2021

RESUMO:

Bactérias Ácido Láticas (BAL) são utilizadas na elaboração de produtos lácteos e fermentados industriais ou artesanais, e apresentam uma vasta diversificação, podendo influenciar na caracterização dos produtos e na garantia da segurança do alimento. O presente trabalho visa isolar e caracterizar BAL autóctones de Bom Jesus do Itabapoana/RJ, oriundas de leite cru e queijo frescal artesanal, verificando seu potencial antagônico frente a *L. monocytogenes*, de produção de diacetil e o perfil de lactofermentação. Para o isolamento foram utilizados os meios MRS e M17, incubados a 37 °C e 30 °C por 48 h, respectivamente. Dez cepas que apresentaram características para BAL foram avaliadas quanto à ação antagônica frente ao patógeno, à produção de diacetil e ao perfil de lactofermentação. Sete delas apresentaram ação antagônista, produção de diacetil e lactofermentação do tipo caseoso, enquanto três não apresentaram ação antagônica e produção de diacetil, porém uma manteve o tipo de lactofermentação caseoso e duas apresentaram o tipo gelatinoso.

PALAVRAS-CHAVE: Antimicrobiano, Segurança Alimentar, Isolamento, Bactérias selvagens, Inibição.

ABSTRACT:

Notas de autor

- 1 Graduada em Ciência e Tecnologia de Alimentos (IFFluminense *Campus* Bom Jesus do Itabapoana). Mestranda em Ciência de Alimentos na Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) Campinas/SP Brasil. E-mail: layne.gaspayme67@gmail.com.
- 2 Graduando em Ciência e Tecnologia de Alimentos no Instituto Federal Fluminense *Campus* Bom Jesus do Itabapoana/RJ Brasil. E-mail: danielsaraiva15.ds@gmail.com.
- 3 Doutora em Medicina Veterinária (UFF). Médica Veterinária do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Fluminense *Campus* Bom Jesus do Itabapoana/RJ Brasil. E-mail: pabastos@iff.edu.br.



Lactic Acid Bacteria (LAB) are used in the elaboration of industrial and artisanal dairy and fermented products, and have a wide diversification, which can influence the characterization of the products and guarantee food safety. The present work aims to isolate and characterize autochthonous LAB from Bom Jesus do Itabapoana (Brazil), from raw milk and artisanal fresh cheese, verifying their antagonistic potential against *L. monocytogenes*, diacetyl production and the profile of lacto-fermentation. For isolation, the MRS and M17 media were used, incubated at 37 °C and 30 °C for 48 h, respectively. Ten strains that showed characteristics for LAB were evaluated for antagonistic action against the pathogen, production of diacetyl and profile of lacto-fermentation. Seven of them showed antagonistic action, diacetyl production and caseous lacto-fermentation, while three did not show antagonistic action and diacetyl production, however one maintained the caseous lacto-fermentation type and two presented gelatinous type. KEYWORDS: Antimicrobial, Food security, Isolation, Wild bacteria, Inhibition.

RESUMEN:

Las bacterias del ácido láctico (BAL) son utilizadas en la elaboración de productos lácteos y fermentados industriales y artesanales, y tienen una amplia diversificación, lo que puede influir en la caracterización de los productos y garantizar la seguridad alimentaria. El presente trabajo tiene como objetivo aislar y caracterizar BAL autóctonas de Bom Jesus do Itabapoana (Brasil), a partir de leche cruda y queso fresco artesanal, verificando su potencial antagonista frente a *L. monocytogenes*, la producción de diacetilo y el perfil de lacto-fermentación. Para el aislamiento se utilizaron los medios MRS y M17, con incubación a 37 °C y 30 °C durante 48 h, respectivamente. Diez cepas que presentaran características para BAL fueran evaluadas para la acción antagonista contra el patógeno, la producción de diacetilo y el perfil de lacto-fermentación. Siete de ellas mostraron acción antagonista, producción de diacetilo y lacto-fermentación caseosa, mientras que tres no mostraron acción antagonista y producción de diacetilo, sin embargo, una de las tres mantuvo el tipo de lacto-fermentación caseosa y dos presentaron tipo gelatinoso.

PALABRAS CLAVE: Antimicrobiano, Seguridad alimentaria, Aislamiento, Bacterias silvestres, Inhibición.

1 Introdução

Bactérias Ácido Láticas (BAL) constituem um grupo de microrganismos gram-positivos, com morfologia de cocos ou bacilos, não formadores de esporos, catalase e oxidase negativa e produtores de ácido lático por meio da fermentação de açúcares (FUGELSANG; EDWARDS, 2007; MAKAROVA; KOONIN, 2007). De acordo com Mogensen et al. (2003), essas bactérias pertencem aos gêneros: Carnobacterium, Enterococcus, Lactococcus, Lactobacillus, Lactosphaera, Leuconostoc, Oenococcus, Pediococcus, Streptococcus Vagococcus e Weissella.

Esses microrganismos são amplamente encontrados em leite cru e em queijo frescal artesanal. Nesse tipo de queijo, devido ao fato de sua produção ocorrer, geralmente, com leite não pasteurizado, o desenvolvimento da microbiota nativa de BAL é favorecido, sendo sua caracterização diferenciada de acordo com a região produtora (DE SOUZA *et al.*, 2021). Segundo Jay (2013), os gêneros de BAL mais encontrados nesses produtos são: *Enterococcus, Lactococcus, Streptococcus, Leuconostoc* e *Lactobacillus*.

Outra característica é que elas também podem ser encontradas no solo, na água e no trato digestivo de animais, sendo também frequentemente utilizadas em diversos alimentos fermentados, contribuindo para formação de suas características sensoriais (AXELSSON et al., 2003; FORSYTHE, 2013; HOLZAPFEL et al., 2001). São muito utilizadas como fermento lácteo, devido à fermentação da lactose, possibilitando a criação de subprodutos como: iogurtes, queijos, leites fermentados e outros, sendo Lactobacillus, Lactococcus, Leuconostoc, Streptococcus, Leuconostoc e Enterococcus os gêneros mais encontrados (BERESFORD et al., 2001; FOX et al., 2000; RAMOS et al., 2013; ROLIM et al., 2014).

A fermentação realizada pode se dar por duas vias, de acordo com a característica de origem da bactéria fermentadora. O grupo das BAL homofermentativas produzem ácido lático a partir de açúcares simples como a glicose. Já as heterofermentativas, além de produzirem ácido lático, também produzem dióxido de carbono, ácido acético, etanol, aldeído e diacetil (BRUNO, 2009).

Os produtos oriundos dos processos fermentativos possibilitam sua aplicação na indústria de alimentos, pois estes podem desempenhar o papel de aromatizantes, acidulantes, flavorizantes, tamponantes e inibidores



de bactérias deteriorantes em alimentos processados, tais como produtos de panificação, bebidas, lácteos e cerveja (CAPELLARI, 2010; FORSYTHE, 2013).

O emprego das BAL na indústria alimentícia também está diretamente ligado ao seu papel antimicrobiano. Ao fermentar a lactose, esses organismos produzem substâncias (ácido lático e diacetil, compostos metabólitos e bacteriocinas) que atuam como barreiras frente ao desenvolvimento de patógenos, garantindo uma maior segurança nos alimentos (ALEXANDRE *et al.*, 2002; BONOMO; RICCIARDI; SALZANO, 2011; GUERRA; BERNARDO, 2005; JAY, 2013; REIS *et al.*, 2012).

O diacetil, um dos metabólitos produzidos pelas BAL, se destaca por seu potencial aromático, estando sua produção ligada à característica intrínseca de algumas dessas bactérias em metabolizar o citrato. Além de sua capacidade de *flavor*, o composto possui a capacidade de inibir o desenvolvimento de alguns microrganismos, atuando diretamente em suas funções vitais (BARTOWSKY; HENSCHKE, 2004; HOR; LIONG, 2014; PASSERINI *et al.*, 2013).

As bacteriocinas são compostos de origem proteica que podem contribuir com a maior segurança dos produtos fermentados (BALCIUNAS et al., 2013). Dentre as cepas produtoras dessas proteínas destacamse os gêneros Lactobacillus, Lactococcus e Streptococcus (CHEN; HOOVER, 2003). A produção de ácidos orgânicos, sais e bacteriocinas por algumas BAL apresentam alta atividade antagonista frente a Listeria monocytogenes, reconhecidamente patogênica para a saúde humana e veiculada através de certos tipos de alimentos (PELCZAR JR.; CHAN; KRIEG, 1997; VAZQUEZ-BOLAND et al., 2001).

Microrganismos pertencentes ao gênero *Listeria* apresentam como características o formato de bastonetes curtos e são gram-positivo não formadores de esporos. Das oito espécies identificadas, apenas a *L. monocytogenes* é reconhecida como patogênica ao ser humano (GOPAL *et al.*, 2010; SWAMINATHAN, 2001; VÁZQUEZ-BOLAND *et al.*, 2001), provocando a listeriose, doença de baixa incidência (SWAMINATHAN; GERNER-SMIDT, 2007) que pode provocar a morte (SILVA, 2007; ZHANG; JAYARAO; KNABEL, 2004).

A lactofermentação é uma análise simples que consiste na verificação do tipo de coágulo formado, servindo como indicativo da microbiota presente na matéria-prima. Essa prova também pode ser utilizada como verificação do potencial tecnológico da BAL, pois indica o tipo de coágulo formado, podendo servir como indicativo de finalidade à qual a cepa poderá ser destinada (produção de queijos, iogurte e outros). Os tipos de coágulos mais encontrados nesse processo são o gelatinoso e o caseoso, sendo o coágulo gelatinoso oriundo de fermentação lática, indicando predominância de BAL, e o caseoso de uma fermentação proteolítica, indicando predominância de uma microbiota proteolítica (FIGUEIREDO *et al.*, 2016; PINTO; MARTINS; VANETTI, 2006).

Tendo ciência da importância das BAL na segurança alimentar, o trabalho visa conhecer as características de isolados autóctones de BAL do município de Bom Jesus do Itabapoana/RJ (BJI), observando sua capacidade de antagonismo contra *L. monocytogenes*, produção de diacetil e tipo de lactofermentação realizada.

2 Metodologia

2.1 Coleta das amostras

Foram coletadas, em frascos estéreis, seis amostras de leite cru oriundas de tanques de expansão refrigerados comunitários e individuais, localizados no 1º distrito do município de Bom Jesus do Itabapoana/RJ e cinco amostras de queijo frescal artesanal, coletadas em feiras e locais de vendas de produtos dos produtores rurais do mesmo município.



As amostras foram transportadas em caixas isotérmicas com gelo para o Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água do *Campus* Bom Jesus do Itabapoana do Instituto Federal Fluminense para a realização das análises.

2.2 Contagem de BAL

As amostras de leite cru foram homogeneizadas por agitação manual em seus frascos de coleta. Em seguida foram realizadas diluições decimais utilizando como diluente Solução de Citrato de Sódio a 2% (Dinâmica*). A primeira diluição das amostras de queijo frescal artesanal foi realizada com pesagem de 25 g da amostra e adição de 225 mL de Solução de Citrato de Sódio a 2%, seguido de homogeneização em *Stomacher* por 120 segundos. As demais diluições foram realizadas em tubos, utilizando a mesma solução diluente.

A contagem de bactérias ácido láticas foi realizada com as quatro diluições de leite cru e com as diluições de 10^4 a 10^8 das amostras de queijo frescal artesanal, seguindo o método de plaqueamento por profundidade, em duplicata, utilizando os meios Ágar MRS (Man, Rogosa e Sharpe - Acumedia®) e Ágar M17 (Himedia®), em jarra de anaerobiose com atmosfera modificada de CO_2 a temperaturas de 37 °C e 30 °C por 48 horas, respectivamente.

2.3 Isolamento e identificação fenotípica das BAL

A partir da observação de colônias de BAL morfologicamente diferentes, 96 delas foram isoladas em caldo BHI (Brain Heart Infusion - Fluka®) e incubadas a 37 °C por 48 horas, sendo posteriormente feito estriamento em Ágar MRS e M17, seguindo o meio original de crescimento da colônia que deu origem à cepa isolada para se confirmar a pureza. As placas foram incubadas de acordo com o mesmo método descrito no tópico anterior.

Para confirmação de BAL, esfregaço seguido de coloração de Gram e prova de catalase foram realizadas. Observou-se, ainda, o aspecto morfológico buscando-se diferenciar os cocos e bastonetes/bacilos, que são as formas predominantes no grupo de microrganismos pesquisado (ANAL; SINGH, 2007).

As cepas selecionadas para as etapas subsequentes foram as que apresentaram características gram-positiva e catalase negativa, sendo estocadas, sob refrigeração, em caldos BHI (Fluka*) e Ágar Nutriente Inclinado (Himedia*).

2.4 Atividade antimicrobiana in vitro dos isolados de BAL

A detecção da atividade antimicrobiana dos isolados de BAL seguiu a metodologia descrita por Silva (2019), com adaptações. Em placas de petri contendo ágar MRS, foram adicionados três discos de papel estéril, com aproximadamente seis mm de diâmetro e com distanciamento entre eles. Em cada um dos discos, inoculou-se aproximadamente 10 μ l de cepas de BAL previamente ativadas em caldo BHI enriquecido com 5% de extrato de levedura (Acumedia®) (incubação a 37 °C/72 h). A análise foi realizada em duplicata e a incubação em atmosfera modificada de CO2 a 37 °C por 48 horas.

Após ativação de *L. monocytogenes* INCQS 00673 (Lote: 0615673 - Instituto Nacional de Controle de Qualidade da Fundação Oswaldo Cruz - INCQS – Fiocruz), em Ágar Nutriente, foi realizada sua diluição em solução salina a 0,85% até a concentração de 0,5% de acordo com a escala Mc Farland, sendo em seguida, inoculado 1,0 mL dessa solução em 9,0 mL do meio TSA (Tryptic Soy Agar - Prodimol®) semissólido.

O meio TSA contendo o patógeno foi utilizado para fazer uma sobrecamada nas placas previamente incubadas com os discos contendo BAL, realizando-se nova incubação em jarras de anaerobiose com



atmosfera modificada de CO₂ a 37 °C por 48 h. Após este período, foi realizada a leitura de presença de formação de halos ao redor dos discos.

2.5 Prova de produção de diacetil

Para a prova de produção de diacetil foi utilizada a metodologia de Almeida Júnior (2015), com adaptações. Em tubos de ensaio esterilizados foram adicionados 10 mL de leite integral UHT, em seguida, foi adicionado 1,0 mL da cultura de BAL a ser analisada e foi direcionado para incubação a 24 °C por 24 h. Após a incubação foi retirado 1,0 mL da cultura e adicionado em um tubo contendo 0,5 ml de hidróxido de potássio (KOH) 16% e 0,5 mL de α-naftol 1%, o qual foi incubado a 30 °C por 30 min. Em seguida foi realizada a leitura, sendo consideradas positivas para produção de diacetil as cepas em que os tubos apresentaram coloração rósea na superfície, enquanto aqueles sem alteração de cor são considerados negativos.

2.6 Prova de lactofermentação

Em tubos contendo 10 mL de leite em pó desnatado reconstituído a 10% (m/v), previamente esterilizado, foi adicionado alíquota de 20 μL das cepas analisadas, sendo incubadas a 30 °C por 24 h. Após a incubação foi realizada a leitura do tipo de coágulo formado nos tubos. Os resultados foram determinados a partir do tipo de coágulo formado como: gelatinoso/uniforme; caseoso/esponjoso (BRAMLEY; MCKINNON, 1990).

3 Resultados e Discussão

Neste estudo as amostras de leite cru apresentaram contagem de BAL entre 10^2 e 10^4 UFC/mL. As BAL representam cerca de 20 a 30% da microbiota do leite e sua contagem pode sofrer variações, as quais podem estar relacionadas a fatores como a região geográfica de origem, o clima, o tipo de ordenha, a higienização dos manipuladores e utensílios ligados ao processamento; além disso, as características autóctones de cada localidade podem influenciar na diversidade da microbiota (DELAVENNE *et al.*, 2012; FREIRE, 2017; HERMANNS *et al.*, 2013; MORAES *et al.*, 2010; OLIVEIRA, 2015; RONCATTI, 2016; SILVEIRA *et al.*, 2019).

Silveira *et al.* (2019), ao analisarem amostras de leite cru do 1º e 4º distritos de Bom Jesus do Itabapoana/RJ, encontraram contagens de BAL variando entre 10³ e 106 UFC/mL. Presume-se que essa maior amplitude e diferença nos valores máximos de UFC/mL, quando comparadas ao presente estudo, podem estar relacionadas aos fatores de variação anteriormente mencionados, necessitando de mais estudos para detectar suas origens.

Para a contagem de BAL presentes nas amostras de queijo frescal artesanal, foi observado um padrão de contagem de 10³ a 10⁹ UFC/g. Foi verificada uma ampla variação, sendo que tal fato pode estar relacionado ao processamento do queijo, ao tempo e condições de estocagem, à qualidade higiênico-sanitária do leite e dos manipuladores, entre outros fatores, pois podem propiciar condições para o crescimento de outros microrganismos, criando um ambiente de competição. Em estudos realizados por Santos (2010); Resende *et al.* (2011); Castro (2015) e Oliveira (2018), analisando queijos oriundos da Serra de MG, foram obtidas contagens acima de 10⁷ UFC/g.

A alta contagem de BAL em queijo frescal artesanal está associada à microbiota endógena do leite ligado ao processamento na produção de queijo, onde a retirada do soro condensa a parte sólida do leite, o que favorece a multiplicação das bactérias láticas e consequente continuação do processo de fermentação (RESENDE, 2010; SOUZA; ROSA; AYUB, 2003).



Das 96 cepas obtidas a partir das amostras de leite cru e queijo frescal artesanal, 25 apresentaram características para BAL, das quais 52% expressaram morfologia de cocos e 48% de bacilos, não se detectando, assim, predominância entre um tipo morfológico e o outro. Nos estudos realizados por Neves (2017) e Giazzi (2017), nos estados de MG e PR, respectivamente, foi observado que os isolados analisados oriundos de queijo frescal artesanal e leite *in natura* apresentaram baixa variação no que se refere a morfologia (cocos e bacilos). Uecker (2017), ao analisar isolados obtidos de leite *in natura* e de outros produtos lácteos, localizados no RS, observou que havia mais cocos do que bacilos, sendo que 65% deles apresentaram morfologia de cocos e 35% de bacilos. Acredita-se que a morfologia de BAL pode variar de uma região para outra, podendo ser determinada pelas características autóctones de uma região, por seu clima, pelo tipo de processamento e outros.

Para o estudo das características antimicrobianas, produção de diacetil e perfil de lactofermentação foram utilizadas 10 cepas escolhidas aleatoriamente (Quadro 1).

QUADRO 1. Verificação da ação antagonista em *"in vitro"* frente a *L. monocytogenes*, produção de Diacetil e Tipo de Lactofermentação de BAL oriundas de leite cru e queijo frescal

Isolado	Característica Morfológica	Ação Antagonista	Diacetil	Lactofermentação
L1	Cocos	Sim	Sim	Caseoso
L2	Bastonete	Sim	Sim	Caseoso
L3	Cocos	Sim	Sim	Caseoso
L4	Bastonete	Não	Não	Caseoso
L5	Cocos	sim	sim	Caseoso
L6	Bastonete	Sim	Sim	Caseoso
Q1	Bastonete	Sim	Sim	Caseoso
Q2	Cocos	Não	Não	Gelatinoso
Q3	Cocos	Sim	Sim	Caseoso
Q4	Bastonete	Não	Não	Gelatinoso

Fonte: Autores

Nota: L1-L6: isolados oriundos de leite cru; Q1-Q4: isolados oriundos de queijo frescal artesanal.

Buscando caracterizar as cepas isoladas, foi possível agrupá-las em sete grupos, de forma a perceber suas similaridades e diferenças:

- Quatro cepas (L1, L3, L5 e Q3) com morfologia tipo cocos apresentaram ação antagonista contra *L. monocytogenes*, produção de diacetil e lactofermentação tipo caseosa.
- Uma cepa (Q2) com morfologia tipo cocos não apresentou ação antagonista contra L. monocytogenes, não produziu diacetil e a lactofermentação foi caseosa.
- Três cepas (L2, L6 e Q1) com morfologia tipo bastonete apresentaram ação antagonista contra *L. monocytogenes*, produção de diacetil e lactofermentação tipo caseosa.
- Uma cepa (Q4) com morfologia tipo bastonete não apresentou ação antagonista contra L. monocytogenes, não produziu diacetil e apresentou lactofermentação gelatinosa.
- Uma cepa (L4) com morfologia tipo bastonete não apresentou ação antagonista contra L. monocytogenes, não produziu diacetil e apresentou lactofermentação do tipo caseosa.

Observou-se que 70% dos isolados apresentaram inibição contra *L. monocytogenes*, esses resultados são condizentes com os encontrados por Tamanini & Gerner-Smidt.2012), Giazzi (2017), Brumano (2016), Schittler (2012) e Costa *et al.* (2013), que verificaram que a maior parte dos isolados de BAL oriundos de leite cru e queijo frescal foram capazes de inibir o desenvolvimento de *L. monocytogenes*. Resultados semelhantes também foram obtidos em outros trabalhos utilizando BAL oriundas de outras matrizes



alimentares (COSTA, 2016; COSTA, 2019; FONTANA et al., 2015; LIMA, 2016). O presente estudo não verificou a natureza do mecanismo de inibição frente a *L. monocytogenes*, porém foi possível observar que todos os isolados que apresentaram antagonismo bacteriano também apresentaram produção de diacetil.

Diversas pesquisas apontam o diacetil como uma das substâncias relacionadas com a capacidade de ação antimicrobiana exercida pelas BAL. Essa ação antimicrobiana está relacionada à produção de ácidos orgânicos (ácido lático), peróxido de hidrogênio, diacetil e outros (DUARTE *et al.*, 2016; PEREIRA; GOMÉZ, 2012).

Observou-se que todas as cepas que sintetizaram diacetil também apresentaram inibição ao patógeno, o que sugere a tendência de relação da produção deste composto com a capacidade de inibição do patógeno pelas cepas de BAL. Essa ação do diacetil provavelmente está relacionada com sua capacidade de bloquear a produção de proteínas essenciais à célula bacteriana patogênica. (LANCIOTTI et al., 2003; OUWEHAND; VESTERLUND, 2004).

As cepas de lactofermentação gelatinosa não apresentaram ação antagonista e produção de diacetil. Além disso, foi verificado que 80% dos isolados formaram coágulos caseosos (oriundo da fermentação proteolítica) e 20% gelatinosos (fermentação lática), sendo esta uma característica tecnológica considerada normal e desejável à indústria de laticínio, visto que é uma prova de caracterização do tipo de lactofermentação das BAL (SABEDOT *et al.*, 2011). Martins (2018), ao avaliar o perfil de lactofermentação de cepas oriundas de queijo e leite, verificou que as BAL apresentaram coagulação caseosa. Em nossa pesquisa, todos os isolados oriundos de leite cru apresentaram o mesmo tipo de lactofermentação, do tipo caseoso.

4 Conclusão

Com os resultados deste estudo pode-se pressupor que a partir das características apresentadas pelos isolados frente às análises realizadas, os isolados são diferentes, podendo-se pressupor um mínimo de sete cepas. As cepas que apresentaram lactofermentação gelatinosa não produziram diacetil e não apresentaram ação antagônica contra *L. monocytogenes*, sendo ambas procedentes de queijo. Devido ao possível potencial das cepas para uso em alimentos, pretende-se continuar os estudos com os isolados que apresentaram potencial antimicrobiano contra *L. monocytogenes*, de forma a obter maior caracterização dos mesmos.

REFERÊNCIAS

- ALEXANDRE, D. P. *et al.* Atividade antimicrobiana de bactérias lácticas isoladas de queijo-de-minas artesanal do Serro (MG) frente a microrganismos indicadores. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 54, n. 4, 2002. DOI: http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352002000400014.
- ALMEIDA JÚNIOR, W. L. G. Seleção de Bactérias do Ácido Lático (BAL) autóctones de leite caprino com potencial probiótico e avaliação funcional em queijo caprino artesanal. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina, 2015. Disponível em: http://www.univasf.edu.br/~cpgcvs/Dissertacao_Washington_Almeida.pdf. Acesso em: 23 set. 2020.
- ANAL, A. K.; SINGH, H. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. **Trends in Foods Science & Technology**, v. 18, n. 5, p. 240-251, 2007. DOI: https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.01.004.
- AXELSSON, L. *et al.* Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects. 4. ed. New York: Marcel Dekker Inc., 2003.
- BALCIUNAS, E. M. *et al.* Novel biotechnological applications of bacteriocins: A review. **Food Control**, v. 32, n. 1, p. 134-142, 2013. DOI: https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.11.025.
- BARTOWSKY, E. J.; HENSCHKE, P. A. The 'buttery' attribute of wine-diacetyl-desirability, spoilage and beyond. International Journal of Food Microbiology, v. 96, p. 235-252, 2004. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ijfood micro.2004.05.013.



- BERESFORD, T. P.et al. Recents advances in cheese microbiology. International Dairy Journal, v. 11, n. 4-7, p. 259-274, 2001. DOI: https://doi.org/10.1016/s0958-6946(01)00056-5.
- BONOMO, M. G.; RICCIARDI, A.; SALZANO, G. Influence of autochthonous starter cultures on microbial dynamics and chemical-physical features of traditional fermented sausages of Basilicata region. **World Journal Microbiology Biotechnology**, v. 27, p. 137-146, 2011. DOI: https://doi.org/10.1007/s11274-010-0439-y.
- BRAMLEY, A. J.; MCKINNON, C. H. The microbiology of raw milk. *In*: ROBINSON, R. K. (ed.) **Dairy Microbiology.** New York: Elsevier Science Publishers, 1990. v 1. p. 163-208.
- BRUMANO, E. C. C. Impacto do tipo de fermento endógeno na qualidade e tempo de maturação de queijo Minas artesanal produzido em propriedades cadastradas pelo IMA (Instituto Mineiro de Agropecuária) na região do Serro MG. 2016. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2016.
- BRUNO, L. M. Microbiota lática de queijos artesanais. São Paulo: Embrapa Agroindústria Tropical, 2009. Disponível em: https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/748514/1/Doc124.pd f. Acesso em: 6 out. 2020.
- BURNS, P. *et al.* Technological and probiotic role of adjunct cultures of non-starter lactobacilli in soft cheeses. **Food Microbiol.**, v. 30, n. 1, p. 45-50, 2012. DOI: https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.09.015.
- CAPELLARI, J. В. Biossíntese de ácido láctico por Lactobacillus amylovorus partir de resíduos agroindustriais. 2010. Dissertação (Mestrado Engenharia de Processos) Universidade Região de Joinville, Joinville, 2010. Disponível em: https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwj22LHUke_ vAhUwGrkGHdqzBKUQFjAAegQIAhAD&url=https%3A%2F%2Fwww.univille.edu.br%2Fcommunity% 2Fmestrado_ep%2FVirtualDisk.html%2FdownloadFile%2F315644%2FDissertacao_Jaqueline_Boldt_Capell ari.pdf&usg=AOvVaw1g72z6OT_y-d5oGh-2_Rnj. Acesso em: 23 out. 2020.
- CASTRO, R. D. Queijo Minas artesanal fresco de produtores não cadastrados da mesorregião de Campo das Vertentes MG: qualidade microbiológica e físico química em diferentes épocas do ano. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015. Disponível em: https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/SMOC-9VUJ9C/1/disserta_o_final__renata_dias_de_cas tro_corrigida.pdf. Acesso em: 5 out. 2020.
- CAVALCANTE, J. F. M. *et al.* Processamento do queijo coalho regional empregando leite pasteurizado e cultura lática endógena. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 27, p. 205-214, 2007. Disponível em: https://www.scielo.br/pdf/cta/v27n1/35.pdf. Acesso em: 23 nov. 2020.
- CHEN, H.; HOOVER, D. G. Bacteriocins and their food applications. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, v. 2, p. 82, 2003. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1541-4 337.2003.tb00016.x. Acesso em: 13 ago. 2020.
- COSTA, A. C. C. Isolamento de Bactérias Láticas Produtoras de Bacteriocinas e Avaliação de sua Atividade Frente a Patógenos Alimentares em Sistema de Bioconservação de Produto Lácteo. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2016. Disponível em: https://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/6628. Acesso em: 15 out. 2020.
- COSTA, H. H. S. *et al.* Potencial probiótico in vitro de bactérias ácido-láticas isoladas de queijo-de-minas artesanal da Serra da Canastra, MG. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 65, n. 6, p. 1858-1866, 2013. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S0102-09352013000600038. Acesso em: 3 out. 2020.
- COSTA, R. J. Isolamento e caracterização de bactérias ácido láticas obtidas de carne ovina e aplicação de substâncias antimicrobianas em linguiça ovina frescal no controle de *Listeria monocytogenes* Scott A. 2019. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2019.
- DELAVENNE, E. *et al.* Biodiversity of antifungal lactic acid bacteria isolated from raw milk samples from cow, ewe and goat over one-year period. **International Journal of Food Microbiology**, v. 155, n. 3, p. 185-190, 2012. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.02.003.



- DE SOUZA, T. P. *et al.* Mycrobiota of Minas artisanal cheese: Safety and quality. **International Dairy Journal**, v. 120, 2021. DOI: https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105085.
- DUARTE, M. C. K. H.*et al.* Ação antagonista de Lactobacillus acidophilus frente a estirpes patogênicas inoculadas em leite fermentado. **Journal of Bioenergy and Food Science**, v. 3, n. 1, p. 1-10, 2016. DOI: https://doi.org/10.18067/jbfs.v3i1.79.
- FIGUEIREDO, E. L. et al. Caracterização do Potencial Tecnológico e Identificação Genética de Bactérias Ácido Láticas Isoladas de Queijo do Marajó, Tipo Creme, de Leite de Búfala. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v. 18, n. 3, p. 293-303, 2016. Disponível em: http://www.deag.ufcg.edu.br/rbpa/rev183/rev1838.pdf. Acesso em: 24 maio 2021.
- FONTANA, C. *et al.* Occurrence of antilisterial structural bacteriocins genes in meat borne lactic acid bacteria. **Food Control**, v. 47, p. 53-59, 2015. DOI: https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.06.021.
- FORSYTHE, S. J. Microbiologia da Segurança dos Alimentos. 2. ed. Porto Alegre, 2013.
- FOX, P. F. et al. Fundamentals of cheese science. Gaithersburg: Aspen Publishers, 2000.
- FUGELSANG, K. C.; EDWARDS, C. G. Wine microbiology: practical applications and procedures. 2. ed. New York: Springer, 2007.
- GIAZZI, A. Caracterização e estudo do perfil tecnológico de bactérias ácido láticas isoladas de queijos tipo Minas artesanais e leite cru. 2017. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2017. Disponível em: http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/3049. Acesso em: 23 out. 2020.
- GOPAL, S. *et al.* Maltose and maltodextrin utilization by Listeria monocytogenes depend on an inducible ABC transporter which is repressed by glucose. **PLoSone**, v. 5, n. 4, 2010. DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010349.
- GUARCELLO, R. *et al.* A large factory-scale application of selected autochthonous lactic acid bacteria for PDO Pecorino Siciliano cheese production. **Food Microbiology**, v. 59, p. 66-75, 2016. DOI: https://doi.org/10.10 16/j.fm.2016.05.011.
- GUERRA, M. M; BERNARDO, F. M. A. Influência da microflora de cura na ocorrência de Listeria spp. em queijos tradicionais. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinária**, Lisboa, v. 100, n. 555-556, p. 185-188, 2005. DOI: http://dx.doi.org/10.18067/jbfs.v3i1.79.
- HERMANNS, G. *et al.* Isolamento e identificação de bactérias láticas supostamente bacteriocinogênicas em leite e queijo. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 11, n. 2, p. 191-196, 2013. DOI: http://dx.doi.org/10.7213/academica.11.002.AO10
- HOLZAPFEL, H. W. *et al.* Taxonomy and important features of probiotic microrganisms in food in nutrition. The American Journal of Clinical Nutrition, v. 73, n. 2, p. 365S-373S, 2001. DOI: https://doi.org/10.1093/ajcn/73.2.365s.
- HOR, Y. Y.; LIONG, M. T. Use of extracellular extracts of lactic acid bacteria and bifidobacteria for the inhibition of dermatological pathogen Staphylococcus aureus. **Dermatologica Sinica**, v. 32, p. 141-147, 2014. DOI: https://doi.org/10.1016/j.dsi.2014.03.001.
- JAY, J. Modern Food Microbiology. 6. ed. New York: Springer, 2013.
- LANCIOTTI, R. et al. Evaluation of diacetyl antimicrobial activity against Escherichia coli, Listeria monocytogenes and Staphylococcus aureus. Food Microbiology, v. 20, n. 5, p. 537-543, 2003. DOI: https://doi.org/10.1016/S074 0-0020(02)00159-4.
- LIMA, R. C. Atividade antagonista e perfil de resistência a antibióticos de bactérias ácido láticas isoladas de frutas tropicais. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Alimentos) Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2016.
- MAKAROVA, K. S.; KOONIN, E. V. Evolutionary genomics of lactic acid bacteria. **Journal Bacteriology**, v. 189, p. 1199-1208, 2007. DOI: https://dx.doi.org/10.1128%2FJB.01351-06.



- MARTINS, M. C. F. Diversidade de bactérias láticas e identificação molecular de lactococcus isolados de ambientes lácteos e não lácteos. 2018. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2018.
- MOGENSEN, G. *et al.* Food microorganisms health benefits, safety evaluation and strains with documented history of use in foods. **Bulletin of the International Dairy Federation**, Montreal, n. 377, p. 4-9, 2003.
- MORAES, P. M. *et al.* Protocols for the isolation and detection of lactic acid bacteria with bacteriocinogenic potential. LWT Food Science and Technology, v. 43, n. 9, p. 1320-1324, 2010. DOI: https://dx.doi.org/10.1016/j.lw t.2010.05.005.
- NEVES, L. F. Propriedades probióticas in vitro de bactérias ácido-láticas isoladas de queijos artesanais do Norte de Minas Gerais e qualidade físico-química dos queijos. 2017. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, 2017.
- NIETO-ARRIBAS, P. *et al.* Technological characterization of Lactobacillus isolates from traditional Manchego cheese Caracterização Tecnológica de Bactérias Láticas Visando à sua Aplicação na Produção de Fermentos Láticos for potential use as adjunct starter cultures. **Food Control**, v. 20, p. 1092-1098, 2009. DOI: https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.03.001.
- OLIVEIRA, S. P. P. Características Físico-Químicas e Microbiológicas do Queijo Minas Artesanal do Serro Fabricados com Pingo e com Rala. 2018. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais *Campus* Rio Pomba-MG, 2018. Disponível em: https://mpcta.riopomba.ifsudestemg.edu.br/pdf/dissertacoes/2019/DISSERTA%C3%87%C 3%83O_ALM_S%C3%82MYA_PETRINA_PESSOA_OLIVEIRA.pdf. Acesso em: 22 out. 2020.
- OUWEHAND, A. C.; VESTERLUND, S. Antimicrobial components from lactic bacteria. Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects. 3. ed. New York: Marcel Dekker, 2004.
- PASSERINI, D. *et al.* New insights into Lactococcus lactis diacetyl- and acetoin-producing strains isolated from diverse origins. Food Microbiology, v. 160, p. 329-336, 2013. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.20 12.10.023.
- PELCZAR JR., M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. K. Microbiologia: conceitos e aplicações. 2. ed. São Paulo, SP: Makron Books do Brasil, Pearson Education do Brasil, 1997.
- PEREIRA, V. G.; GOMÉZ, R. J. H. Atividade antimicrobiana de Lactobacillus acidophilus, contra microrganismos patogênicos veiculados por alimentos. Semina: Ciências Agrárias. Londrina, v. 28, n. 2, p. 229-240, 2012. DOI: https://doi.org/10.5433/1679-0359.2012v33n5p1839.
- PINTO, C. L. O.; MARTINS, M. L.; VANETTI, C. D. Microbial quality of raw refrigerated milk and isolation of psychrotrophic proteolytic bacteria. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, v. 26, n. 3, 2006. DOI: https://doi.org/10.1590/S0101-20612006000300025.
- RAMOS, A. C. S. M. *et al.* Elaboração de Bebidas Lácteas Fermentadas: Aceitabilidade e Viabilidade de Culturas Probióticas. **Semina: Ciências Agrárias,** v. 34, n. 6, p. 2817-2828, 2013. DOI: http://dx.doi.org/10.5433/167 9-0359.2013v34n6p2817.
- REIS, J. A. *et al.* Lactic Acid Bacteria Antimicrobial compounds: characteristics and applications. **Food Engineering Reviews**, v. 4, n. 2, p. 124-140, 2012. DOI: https://doi.org/10.1007/s12393-012-9051-2.
- RESENDE, M. F. S. Queijo Minas artesanal da Serra da Canastra: influência da altitude e do nível de cadastramento das queijarias nas características físico-químicas e microbiológicas. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) Universidade de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010. Disponível em: https://repositorio.ufmg.br/b itstream/1843/SSLA-87MJQY/1/dissert_mariadefatimasilvaderesende.pdf. Acesso em: 13 nov. 2020.
- RESENDE, M. F. S. *et al.* Queijo de minas artesanal da Serra da Canastra: influência da altitude das queijarias nas populações de bactérias ácido lácticas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia,** v. 63, n. 6, p. 1567-1573, 2011. DOI: https://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352011000600039.
- ROLIM, F. R. L. *et al.* Avaliação in Vitro do Potencial Probiótico de Queijo Coalho Caprino Adicionado de *Lactobacillus rhamnosus*. **Blucher Food Science Proceedings**, v. 1, p. 431-432, 2014. DOI: http://dx.doi.org/10.5151/foodsci-microal-220. Acesso em: 27 ago. 2020.



- RONCATTI, R. Desenvolvimento e caracterização do queijo Santo Giorno, típico do sudoeste do Paraná, produzido com leite cru e fermento endógeno. 2016. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2016. Disponível em: h ttps://portaldeinformacao.utfpr.edu.br/Record/riut-1-1773/Similar. Acesso em: 11 set. 2020.
- SABEDOT, M. A. *et al.* Correlação entre contagem de células somáticas, parâmetros microbiológicos e componentes do leite em amostras de leite *in natura.* **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 14, n. 2, 2011. Disponível em: https://www.revistas.unipar.br/index.php/veterinaria/article/view/4142/2585. Acesso em 18 ago. 2020.
- SANTOS, A. S. Queijo Minas artesanal da microrregião do Serro-MG: efeito da sazonalidade sobre a microbiota do leite cru e comportamento microbiológico 73 durante a maturação. 2010. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2010. Disponível em: http://acervo.ufvjm.edu.br:8080/jspui/handle/1/721. Acesso em: 18 ago. 2020.
- SCHITTLER, L. Isolamento e caracterização fenotípica e molecular de bactérias ácido lácticas bacteriocinogênicas em leite in natura da Região oeste de Santa Catarina. 2012. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2012.
- SILVA, J. B. Ação antagonista de bactérias ácido láticas isoladas de queijos de coalho artesanal produzidos no agreste de Pernambuco. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina Veterinária) Universidade Federal Rural de Pernambuco, Garanhus, 2019.
- SILVA, N. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. 3. ed. São Paulo: Varela, 2007.
- SILVEIRA, L. P. M. et al. Antagonismo de bactérias ácido láticas autóctones de leite cru contra Staphylococcus aureus ATCC 12600 e Escherichia coli ATTC 25922. Revista Vértices, v. 21, n. 3, p. 443-451, 2019. DOI: https://doi.org/10.19180/1809-2667.v21n32019p443-451.
- SOUZA, C. F.V.; ROSA, T. D.; AYUB, M. A. Z. Change in the microbiogical and physicochemical characteristics of serrano cheese during manufacture and repening. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 34, p. 260-266, 2003. DOI: https://doi.org/10.1590/S1517-83822003000300016.
- SWAMINATHAN, B. *Listeria monocytogenes. In:* SWAMINATHAN, B. Food microbiology: fundamentals and frontiers. 2. ed. Washington D. C.: ASM, 2001.
- SWAMINATHAN, B.; GERNER-SMIDT, P. The epidemiology of human listeriosis. **Microbes and Infection**, v. 9, p. 1236-1243, 2007. DOI: https://doi.org/10.1016/j.micinf.2007.05.011.
- TAMANINI, R.; GERNER-SMIDT, P. Antagonistic activity against Listeria monocytogenes and Escherichia coli from lactic acid bacteria isolated from raw milk. **Semina: Ciencias Agrarias**, v. 33, n. 5, p. 1877-1886, 2012. DOI: https://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2012v33n5p1877.
- UECKER, J. N. Screening de bactérias ácido lácticas isoladas de leite e derivados com potencial probiótico. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017. Disponível em: https://www.dctaufpel.com.br/ppgcta/manager/uploads/thesis/dissertacao_final_-_julia_uec ker.pdf. Acesso em: 14 ago. 2020.
- VÁZQUEZ-BOLAND, J. A., et al. Listeria pathogenesis and molecular virulence determinants. Clinical Microbiology Review, v. 14, p. 584-640, 2001. DOI: https://dx.doi.org/10.1128%2FCMR.14.3.584-640.
- ZHANG, W.; JAYARAO, B. D. M.; KNABEL, S. J. Multi-Virulence-Locus Sequence Typing of Listeria monocytogenes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, n. 2, p. 913-920, 2004. DOI: https://doi.org/10.1128/aem.70.2.913-920.2004.

Información adicional

COMO CITAR (ABNT): SILVA, L. G.; LOPES, D. S.; BASTOS, P. A. M. B. Caracterização de bactérias ácido láticas autóctones de Bom Jesus do Itabapoana/RJ: ação antagonista contra *Listeria monocytogenes* e provas bioquímicas. *Vértices (Campos dos Goitacazes)*, v. 24, n. 1, p. 194-208, 2022. DOI: https://doi.org/10



.19180/1809-2667.v24n12022p194-208. Disponível em: https://www.essentiaeditora.iff.edu.br/index.php/vertices/article/view/15990.

COMO CITAR (APA): Silva, L. G., Lopes, D. S. & Bastos, P. A. M. B. (2022). Caracterização de bactérias ácido láticas autóctones de Bom Jesus do Itabapoana/RJ: ação antagonista contra *Listeria monocytogenes* e provas bioquímicas. *Vértices (Campos dos Goitacazes)*, 24(1), 194-208. https://doi.org/10.19180/1809-266 7.v24n12022p194-208.

