

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

ANDRESSA DA CONCEIÇÃO ALVES

**CARACTERIZAÇÃO DE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁCTICAS ISOLADAS DE
RÚCULA COMERCIALIZADA NO MUNICÍPIO DE ITAQUI - RS**

**Itaqui
2018**

ANDRESSA DA CONCEIÇÃO ALVES

**CARACTERIZAÇÃO DE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁCTICAS ISOLADAS DE
RÚCULA COMERCIALIZADA NO MUNICÍPIO DE ITAQUI - RS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Nutrição da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Nutrição.

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Carla Pohl Sehn

**Itaqui
2018**

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos pelo(a)
autor(a) através do Módulo de Biblioteca do
Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais) .

A474c Alves, Andressa da Conceição

Caracterização de bactérias ácido lácticas isoladas de
rúculas comercializadas no município de Itaqui-RS / Andressa
da Conceição Alves.

36 p.

Trabalho de Conclusão de Curso(Graduação)-- Universidade
Federal do Pampa, NUTRIÇÃO, 2018.

"Orientação: Carla Pohl Sehn".

1. bactérias ácido lácticas. 2. Culturas iniciadoras. 3.
Eruca sativa. I. Título.

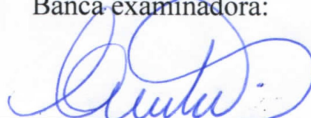
ANDRESSA DA CONCEIÇÃO ALVES

**CARACTERIZAÇÃO DE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁCTICAS ISOLADAS DE
RÚCULA COMERCIALIZADA NO MUNICÍPIO DE ITAQUI - RS**

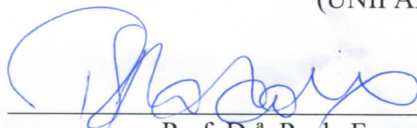
Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Nutrição da
Universidade Federal do Pampa, como
requisito parcial para obtenção do Título de
Bacharel em Nutrição.

Trabalho de Conclusão de Curso de Nutrição defendido e aprovado em: 6 de julho de 2018.

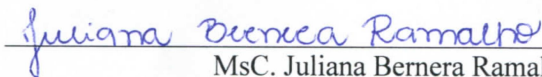
Banca examinadora:



Prof. Dr.ª. Carla Pohl Sehn
Orientador
(UNIPAMPA)



Prof. Dr.ª. Paula Fernanda Pinto da Costa
(UNIPAMPA)



MsC. Juliana Bernera Ramalho
(PPGBioq-UNIPAMPA)

AGRADECIMENTO

À profª Drª Carla Pohl Sehn, por possibilitar a experiência em laboratório, orientando e transmitindo o conhecimento de forma clara, além de toda a atenção e carinho.

À colega de laboratório Bruna, pela parceria e companheirismo durante todo o período de realização do trabalho.

À minha família e amigos por todo o apoio, desde o princípio.

Este trabalho é apresentado na forma de manuscrito a ser submetido para publicação na revista científica “Ciência e Tecnologia de Alimentos”, sendo que a formatação corresponde às normas constantes no Anexo I.

CARACTERIZAÇÃO DE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁCTICAS ISOLADAS DE RÚCULA COMERCIALIZADA NO MUNICÍPIO DE ITAQUI - RS

AUTORES/AUTHORS

Andressa da Conceição Alves, Graduanda de Nutrição, Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), Rua Luiz Joaquim de Sá Britto, s/n - Bairro: Promorar - Itaqui - RS - CEP: 97650-000, Fone: +55 (55) 3432-1850 - E-mail: andressa-125@hotmail.com

Bruna Kelm Teixeira, Graduanda de Nutrição, Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), Rua Luiz Joaquim de Sá Britto, s/n - Bairro: Promorar - Itaqui - RS - CEP: 97650-000, Fone: +55 (55) 3432-1850 - E-mail: brunakelm.t@gmail.com

Carla Pohl Sehn, Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Professora Adjunta, Curso de Nutrição, UNIPAMPA, Campus Itaqui - E-mail: carlasehn@unipampa.edu.br

Relevância do trabalho

As bactérias ácido lácticas (BAL) são consideradas de suma importância às indústrias de produtos alimentícios. São caracterizadas por garantirem segurança higiênica, estabilidade de armazenamento e propriedades sensoriais aos produtos. Diante disso, investigar as características de BAL isoladas de diferentes fontes, entre elas as de origem vegetal, torna-se importante em virtude da capacidade específica que cada bactéria possui, tanto para inibir crescimento de microrganismos indesejáveis quanto para potencializar características desejáveis em produtos.

Characterization of lactic acid bacteria isolated from arugula commercialized in the city of Itaqui-RS.

Caracterização de bactérias ácido lácticas isoladas de rúculas comercializadas no município de Itaqui-RS

Abstract

Acid lact bacteria are of great importance to the food industry, contributing with the sensory substances of the product, such as aroma and taste. In view of this, it was sought to isolate and characterize lactic acid bacteria from arugula marketed in the city of Itaqui-RS. For this, isolation was done in Man Rogosa and Sharpe Agar, followed by staining Gram and catalase test. Antimicrobial activity was analyzed through the agar diffusion method, the fermentation profile by CO₂ production capacity and assess stability of the isolates in NaCl concentration 4, 6 and 10%, pH 2,5 and pH 8,0 and temperature 8 ° C. At the end of the tests, eight isolates of lactic acid bacteria with morphology Gram positive, catalase negative and homofermentative cocci were isolated, highlighting the isolates 2R2 e 4R3 for presenting satisfactory stability in 4, 6 and 10% NaCl concentrations, pH 8 and temperature 8°C.

Keywords: Isolation, *Eruca sativa*, starter culture.

Resumo

As bactérias ácido lácticas são consideradas de grande importância para as indústrias de alimentos, podendo contribuir nas questões sensoriais do produto, como aroma e sabor. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo isolar e caracterizar bactérias ácido lácticas a partir de rúculas comercializadas no município de Itaqui-RS. Para isso, foi realizado isolamento em Ágar Man Rogosa e Sharpe, seguido da coloração de Gram e teste de catalase. Também foram avaliados a atividade antimicrobiana através do método de difusão em ágar, o perfil fermentativo a partir da capacidade de produção de CO₂ e a estabilidade dos isolados em diferentes concentrações de NaCl (4, 6 e 10%), em pH 2,5 e pH 8,0 e à temperatura de 8 °C. Obteve-se ao final dos testes oito isolados de bactérias ácidos lácticas com morfologia de cocos Gram positivos, catalase negativo e homofermentativos, destacando-se os isolados 2R2 e 4R3 por apresentarem estabilidade satisfatória em concentração de NaCl 4, 6 e 10%, pH 8,0 e temperatura de 8 °C.

Palavras-chave: Isolamento, *Eruca sativa*, culturas iniciadoras.

SUMÁRIO

1		
2	1 INTRODUÇÃO	10
3	2 MATERIAL E MÉTODOS	12
4	2.1 Obtenção das amostras	12
5	2.2 Isolamento das bactérias ácido lácticas (BAL), caracterização por coloração de	
6	Gram e teste de catalase	12
7	2.3 Determinação da atividade antimicrobiana das BAL	13
8	2.4 Avaliação da estabilidade sob refrigeração, diferentes concentrações de NaCl e	
9	diferentes condições de pH.....	14
10	2.5 Perfil fermentativo.....	15
11	3 ANÁLISE DE DADOS	15
12	4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
13	4.1 Isolamento das bactérias ácido lácticas (BAL), caracterização por coloração de	
14	Gram e teste de catalase	15
15	4.2 Determinação da atividade antimicrobiana das BAL	17
16	4.3 Avaliação da estabilidade sob refrigeração, diferentes concentrações de NaCl e	
17	diferentes condições de pH.....	18
18	4.4 Perfil fermentativo.....	22
19	5 CONCLUSÕES.....	23
20	REFERÊNCIAS	24
21	ANEXOS	29

22

23

24

25

26

27

28

29 1 Introdução

30 Em 1873, a partir de uma amostra de leite, a primeira cultura de bactéria ácido láctica
31 (BAL) foi obtida por Lister, sendo designada como “*Bacterium lactis*”. A partir de então essas
32 bactérias passaram a ser isoladas de outros tipos de alimentos e também do trato
33 gastrointestinal humano e animal (AXELSSON, 1998).

34 As BAL possuem o metabolismo estritamente fermentativo, são microrganismos Gram
35 positivos, não patogênicos, não esporulados, anaeróbios/aerotolerantes, desprovidos de
36 citocromos, são ácido tolerantes e apresentam reação de catalase negativa (GÓRSKA et al.,
37 2007). Em relação à temperatura, podem ser mesófilas ou termófilas, sendo que entre 30-
38 37 °C e 45-50 °C, respectivamente, são consideradas temperaturas ótimas de multiplicação
39 (CARR et al., 2002).

40 Diversas BAL possuem a capacidade de produzir compostos antimicrobianos como
41 peróxido de hidrogênio, dióxido de carbono, ácido acético, ácido láctico e bacteriocinas, as
42 quais apresentam potencial de inibição contra alguns patógenos entéricos como *Escherichia*
43 *coli*, *Salmonella*, *Typhimurium*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*,
44 *Helicobacter pylori* e rotavírus (ARGYRI et al., 2013; HOU et al., 2015). Sendo que, as
45 bacteriocinas podem servir como uma alternativa tecnológica na solução do aumento da
46 resistência microbiana em função do uso de conservantes convencionais, por interferirem na
47 multiplicação de bactérias deteriorantes e patogênicas presentes nos alimentos (HERMANNNS,
48 2013).

49 Consideradas de grande importância na indústria de alimentos, as BAL são utilizadas
50 como culturas iniciadoras por apresentarem características importantes como a produção de
51 ácido láctico em diferentes meios e em diferentes temperaturas, atividades de proteinase e

52 peptidase, autólise, produção de compostos voláteis, resistência a bacteriófagos e produção de
53 compostos inibidores (ZOTTA et al., 2009).

54 O uso de culturas iniciadoras é uma marca registrada da fermentação de alimentos
55 industriais e sua introdução foi seguida por uma busca contínua para melhorar este processo.
56 Exemplos das propriedades desejadas dessas culturas incluem robustez durante a fabricação,
57 crescimento rápido, alto rendimento de biomassa, rendimento de produto e propriedades
58 organolépticas específicas (SMID; KLEEREBEZEM, 2014).

59 Alguns estudos relatam o isolamento de BAL em vegetais crus, caracterizadas como
60 produtoras de substâncias antimicrobianas (TRIAS et al., 2008). Ponce et al. (2008) isolaram
61 quatro BAL potencialmente bacteriocinogênicas a partir de amostras de vegetais orgânicos de
62 espinafre e acelga na Argentina, porém estas substâncias não foram identificadas ou
63 caracterizadas.

64 Pertencente à família *Brassicaceae*, a rúcula se destaca no cenário mundial, devido as
65 suas propriedades nutricionais e fitoterapêuticas. Apresenta composição química rica em
66 vitaminas, sais minerais e fibras, além da presença de cálcio, compostos sulfurados, enxofre,
67 ferro, fósforo e potássio. É uma hortaliça folhosa herbácea com desenvolvimento rápido e
68 ciclo curto, possuindo um sabor picante e odor agradável, sendo a espécie *Eruca Sativa Miller*
69 a mais consumida no Brasil (EVANGELISTA, 2008; FILGUEIRA, 2008).

70 Investigar BAL isoladas de diferentes fontes, entre elas as de origem vegetal, que
71 apresentem características tecnológicas desejáveis pela indústria de alimentos e atividade
72 antimicrobiana, torna-se importante em virtude da capacidade específica que cada isolado
73 pode apresentar. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo isolar e caracterizar
74 bactérias ácido lácticas a partir de rúculas comercializadas no município de Itaqui-RS.

75

76 2. Material e métodos

77 2.1 Obtenção das amostras

78 As amostras de rúcula, produzidas no município de Itaqui – RS (Brasil), foram
79 coletadas em dois mercados locais no período de fevereiro à maio de 2018. Foram coletadas
80 duas amostras de cada mercado, totalizando 4 amostras.

81

82 2.2 Isolamento das bactérias ácido lácticas (BAL), caracterização por coloração de 83 Gram e teste de catalase

84 Primeiramente foi realizada a higienização da rúcula, sendo as folhas selecionadas,
85 lavadas em água corrente, após colocadas por 10 minutos em água clorada, utilizando
86 hipoclorito de sódio (NEON[®]), na concentração de 200 ppm e posteriormente enxaguadas em
87 água corrente (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

88 Para realizar o isolamento das BAL foram utilizadas 25g de rúcula de cada amostra
89 homogeneizadas em 225 ml de água peptonada (AP) 0,1% (HiMedia[®]) esterilizada, utilizando
90 um homogeneizador de pistões (*Stomacher*, LOGEN). A partir deste homogeneizado foram
91 realizadas diluições decimais seriadas em solução salina 0,1% (PROQUÍMIOS[®]), com
92 posterior inoculação em superfície, em placas contendo ágar Man, Rogosa e Sharpe (MRS,
93 TM MEDIA[®]) (KING et al., 1954). As placas foram incubadas em aerobiose e anaerobiose
94 por até 72 horas a 36 °C.

95 Após a incubação foi realizada a contagem das colônias viáveis e o valor multiplicado
96 pela recíproca da diluição utilizada, obtendo-se como resultado o n° de unidades formadoras
97 de colônia por grama (UFC.g⁻¹) (SILVA et al., 2007). Para seleção das colônias foram
98 observadas características fenotípicas como cor, formato, brilho ou opacidade e rugosidade.
99 Colônias de cada amostra foram retiradas das placas com o uso de alça calibrada e repicadas

100 em caldo MRS (HiMedia[®]), incubadas a 36 °C por 24h e posteriormente purificadas em ágar
101 MRS (TM MEDIA[®]) pelo método de esgotamento (OPLUSTIU; ZOCCOLI, 2010).

102 As colônias isoladas foram submetidas à coloração de Gram e observadas em
103 Microscópio Óptico, usando objetiva de imersão 100x, e teste de avaliação da presença ou
104 ausência da enzima catalase (KUCEROVA et al., 2007). Em seguida, as culturas puras foram
105 armazenadas em caldo MRS suplementado com glicerol (20%, v/v) (PROQUÍMIOS[®]), em
106 freezer a -20 °C.

107 Todos os isolados de BAL, anteriormente à realização dos testes, foram cultivados em
108 meio caldo MRS (HiMedia[®]) a 36 °C por 24 horas para reativação.

109

110 **2.3 Determinação da atividade antimicrobiana das BAL**

111 A atividade antimicrobiana dos isolados foi avaliada através do método de difusão em
112 ágar (BISCOLA et al., 2013), com adaptações, utilizando-se micro-organismos patogênicos
113 Gram positivos e gram negativos, e cepas padrão de BAL como indicadores (Tabela 1). Estes
114 foram mantidos sob refrigeração em tubos contendo ágar Brain Heart Infusion (BHI,
115 HiMedia[®]) e Agar MRS (TM MEDIA[®]), respectivamente.

116 Os micro-organismos (isolados e indicadores) foram cultivados nas condições e meios
117 indicados na tabela 1. Após, foram adicionados 5 µL do microrganismo indicador (na
118 concentração de 10⁵ UFC.mL⁻¹) em um falcon, e adicionado 20 mL de ágar BHI (HiMedia[®]),
119 para o microrganismo indicador patogênico, e em ágar MRS (TM MEDIA[®]) quando utilizado
120 as cepas padrão de BAL, agitado e vertido em placa de Petri. Posteriormente foram
121 inoculados 10µL dos isolados na placa (gota), sendo estas incubadas a 37 °C por 24 horas.
122 Após esse período, as placas foram analisadas quanto à presença/ausência de halos de inibição
123 e o diâmetro dos mesmos quantificados com a utilização de um paquímetro (WORKER).

124 Tabela 1. Micro-organismos indicadores, origem e condições de cultivo.

Micro-organismos	Origem	Condições de cultivo
Gram negativos		
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 ATCC 43895	American Type Culture Collection	BHI, 36 °C, aerobiose
<i>Proteus mirabilis</i> CCBH17721	Oswaldo Cruz Foundation – FIOCRUZ	BHI, 36 °C, aerobiose
<i>Enterobacter cloacae</i> CCBH18002	Oswaldo Cruz Foundation – FIOCRUZ	BHI, 36 °C, aerobiose
<i>Klebsiella pneumoniae</i> CCBH6603	Oswaldo Cruz Foundation – FIOCRUZ	BHI, 36 °C, aerobiose
Gram-positivos		
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644	American Type Culture Collection	BHI, 36 °C, aerobiose
<i>Listeria monocytogenes</i> multirresistente 13	Laboratório de Microbiologia de Alimentos – DCTAFAEM-UFPEL	BHI, 36°C, aerobiose
<i>Listeria monocytogenes</i> multirresistente 14	Laboratório de Microbiologia de Alimentos – DCTAFAEM-UFPEL	BHI, 36°C, aerobiose
<i>Listeria monocytogenes</i> multirresistente 16	Laboratório de Microbiologia de Alimentos – DCTAFAEM-UFPEL	BHI, 36°C, aerobiose
<i>Listeria monocytogenes</i> multirresistente 30	Laboratório de Microbiologia de Alimentos – DCTAFAEM-UFPEL	BHI, 36°C, aerobiose
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	American Type Culture Collection	BHI, 36 °C, aerobiose
Cepas padrão de Bactérias Ácido Lácticas		
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	American Type Culture Collection	MRS, 36 °C, aerobiose
<i>Lactobacillus delbruekii</i> ATCC 3744	American Type Culture Collection	MRS, 36 °C, aerobiose
<i>Lactobacillus fermentum</i> ATCC 9338	American Type Culture Collection	MRS, 36 °C, aerobiose
<i>Lactobacillus plantarum</i> ATCC 8014	American Type Culture Collection	MRS, 36 °C, aerobiose
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> CG	American Type Culture Collection	MRS, 36 °C, aerobiose
<i>Latobacillus sakei</i> subesp. <i>sakei</i> ATCC 15521	American Type Culture Collection	MRS, 36 °C, aerobiose

125 BHI: Caldo Brain Heart Infusion (TM MEDIA®); MRS: Caldo de Man Rogosa & Sharpe (HiMedia®).

126

127 2.4 Avaliação da estabilidade sob refrigeração, diferentes concentrações de NaCl e

128 diferentes condições de pH

129 Para avaliar a estabilidade das BAL em diferentes concentrações de NaCl (4, 6 e

130 10%), pH 2,5 e pH 8,0 foram preparados meios de MRS caldo ajustando pH e concentração

131 de NaCl, sendo o MRS caldo utilizado como controle positivo.

132 A estabilidade dos isolados a 8 °C e em diferentes concentrações de NaCl e pH foram

133 avaliadas segundo Drosinos et al. (2005) nos dias 2, 4, 6 e 8 de armazenamento. Para tanto,

134 foram inoculados 10 µL dos isolados (gota), em placa de MRS ágar (TM MEDIA®),

135 incubado à 37°C e observado se houve desenvolvimento dos isolados em 24h.

136

137

138

139 **2.5 Perfil Fermentativo**

140 A fim de avaliar o perfil fermentativo dos isolados, foi determinada a capacidade da
141 produção de dióxido de carbono (CO₂) a partir da utilização de glicose. Os isolados foram
142 repicados (10% v/v) para caldo MRS (HiMedia®) suplementado com 3% de glicose
143 (PROQUÍMIOS®), em tubos de ensaio contendo tubo de Durhan invertido, com posterior
144 incubação a 36 °C pelo período de 48 horas (LIMA et al., 2009). Os isolados foram
145 classificados como heterofermentativos quando constatado a produção de dióxido de carbono
146 na forma de gás com turbidez no meio, e classificados como homofermentativos aqueles
147 isolados que apresentaram somente uma turvação devido à presença de ácido lático. O teste
148 foi realizado em duplicata.

149

150 **3. Análise dos dados**

151 O processamento dos dados foi realizado com auxílio do programa computacional
152 Microsoft Excel 2010 e expressos a partir de análise descritiva.

153

154 **4. Resultados e discussão**

155 **4.1 Isolamento das bactérias ácido lácticas (BAL), caracterização por coloração de** 156 **Gram e teste de catalase**

157 Foram isoladas 42 colônias com características de BAL, das quais 85,7% (n= 36)
158 foram isoladas em condições de anaerobiose e 14,3% (n= 6) em aerobiose (tabela 2). O que
159 demonstra que apesar de apresentarem crescimento em aerobiose, este se dá em número
160 reduzido quando comparado à anaerobiose, em virtude de suas características de crescimento
161 serem favorecidos na ausência de oxigênio (GÓRSKA et al., 2007).

162 As colônias apresentavam tamanho pequeno, cor branca e superfície e borda lisas. Na
 163 sequência foram selecionadas dos meio anaeróbio e aeróbio, aleatoriamente, 21 dessas
 164 colônias para futuros testes, sendo identificadas como 1R (1R1, 1R2, 1R3, 1R4, 1R5 e 1R6),
 165 2R (2R1, 2R2, 2R3, 2R4, 2R5 e 2R6), 3R (3R1, 3R2, 3R3 e 3R4) e 4R (4R1, 4R2, 4R3, 4R4 e
 166 4R5).

167

168 Tabela 2. Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por grama de alimento de bactérias ácido lácticas isoladas de
 169 amostras de rúculas comercializadas no município de Itaqui, RS (2018).

Amostra	Aeróbio	Anaeróbio
1	2 UFC.g ⁻¹	15 UFC.g ⁻¹
2	1 UFC.g ⁻¹	9 UFC.g ⁻¹
3	3 UFC.g ⁻¹	4 UFC.g ⁻¹
4	0	8 UFC.g ⁻¹
Total	6 UFC.g ⁻¹	36 UFC.g ⁻¹

170

171 Todos os isolados apresentaram morfologia de cocos Gram positivos, quando
 172 observados ao microscópio após coloração de Gram e catalase negativo. Diferentes gêneros
 173 de BAL apresentam característica morfológica de cocos, podendo os isolados pertencerem à
 174 um dos seguintes gêneros de BAL: *Aerococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Vagococcus*,
 175 *Pediococcus*, *Streptococcus* e *Tetragenococcus* (SALMINEN et al., 2004).

176

177 Este resultado relaciona-se com uma maior prevalência de BAL em formato de cocos
 178 pertencentes aos gêneros *Lactococcus* e *Enterococcus* em isolados de origem vegetal
 179 observado em outros estudos (PONCE; MOREIRA; ROURA, 2008; TRIAS et al., 2008).
 180 Ponce et al. (2008) isolaram duas cepas de BAL a partir de amostras de espinafre, sendo
 181 *Lactococcus lactis* e *Enterococcus canis* e duas cepas de amostras de acelga, *Enterococcus*
 182 *hirae* e *Enterococcus faecium*. Enquanto, Trias et al. (2008) isolaram 496 cepas de BAL a
 183 partir de vegetais orgânicos, saladas prontas para consumo, frutas frescas e sementes, e entre
 os isolados caracterizados estavam cepas de *Lactococcus lactis* e *Enterococcus mundtii*.

184

185 4.2 Determinação da atividade antimicrobiana das BAL

186 Dos 21 isolados de BAL selecionados, não foi observada formação de halo de
 187 inibição, indicando que nenhum foi capaz de inibir a multiplicação dos micro-organismos
 188 patogênicos avaliados pelo método de difusão em ágar (BISCOLA et al., 2013). Entretanto,
 189 quando realizado contra as cepas padrão de BAL, alguns isolados das amostras 1R, 2R e 4R
 190 apresentaram atividade antimicrobiana, conforme pode ser observado na tabela 3.

191

192 Tabela 3. Atividade antimicrobiana de bactérias ácido lácticas isoladas de amostras de rúculas comercializadas
 193 no município de Itaqui, RS, contra cepas padrão de bactérias ácido lácticas (2018).

Isolado	Halo de inibição em cm					
	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ATCC 3744	<i>Lactobacillus fermentum</i> ATCC 9338	<i>Lactobacillus plantarum</i> ATCC 8014	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> CG	<i>Lactobacillus sakei</i> ATCC 15521
1R1	0.3 ± 0.14	0.8 ± 0.28	0.45 ± 0.07	*	0.2 ± 0	0.5 ± 0
1R2	0.5 ± 0.28	0.85 ± 0.07	0.4 ± 0.14	*	1.13 ± 0.80	0.45 ± 0.07
1R3	0.4 ± 0	0.75 ± 0.49	0.5 ± 0	*	0.65 ± 0.07	0.3 ± 0.28
1R4	0.35 ± 0.07	0.35 ± 0.21	0.4 ± 0.14	*	0.2 ± 0	0.4 ± 0.14
1R5	0.4 ± 0	0.55 ± 0.35	0.4 ± 0.14	*	0.4 ± 0	0.5 ± 0
1R6	0.35 ± 0.07	0.6 ± 0.28	0.4 ± 0	*	0.55 ± 0.35	0.4 ± 0.14
2R4	*	0.25±0.35	*	*	*	*
4R2	*	*	*	*	*	0.5±0

194 *Não houve formação de halo

195

196 Dos 21 isolados, 13 não apresentaram atividade antimicrobiana contra nenhuma cepa
 197 padrão de BAL, correspondentes às amostras 2R (2R1, 2R2, 2R3 e 2R5), 3R (3R1, 3R2, 3R3,
 198 3R4 e 3R5) e 4R (4R1, 4R3, 4R4 e 4R5). Resultado positivo, pois se torna possível o uso
 199 destes isolados em combinação à diferentes bactérias ácido lácticas e iniciadoras, a fim de
 200 garantir um produto com as características tecnológicas desejáveis, com potencial nutricional
 201 e benéfico à saúde (CANDY et al., 2008).

202 Os isolados da amostra 1R de rúcula apresentaram atividade antimicrobiana contra
203 quase todas as cepas padrão de BAL, , cujos halos de inibição variaram de 0,2 à 1,2 cm. Nas
204 amostras 2R e 4R, apenas um isolado de cada apresentou atividade contra *Lactobacillus*
205 *delbrueckii* ATCC 3744 e *Lactobacillus sakei* ATCC 15521, respectivamente.

206 *L. plantarum* ATCC 8014 foi a única cepa padrão de BAL que nenhum isolado
207 apresentou atividade antagonista. De acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e
208 Abastecimento (2007) os bacilos são beneficiados quando combinados com cepas em formato
209 de cocos, como ocorre no processo de fermentação do iogurte em que cultivos
210 protossimbóticos de *Streptococcus salivarius* sub sp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii*
211 sub sp. *Bulgarius* são associados, ocorrendo maior produção de ácido láctico, dióxido de
212 carbono e ácido fórmico, com posterior produção de acetaldeído e ácidos graxos, o que
213 contribui para as características do produto final.

214 Esta espécie também é muito comum em produtos cárneos, que aos ser combinada à
215 cepas com morfologia de cocos, como *Pediococcus*, podem vir a promover a qualidade e
216 segurança de um produto (LEROY; VERLUYTEN; VUYST, 2006). No salame, por exemplo,
217 os cultivos iniciadores de BAL promovem a redução de pH, garantindo a estabilidade
218 microbiana e as propriedades tecnológicas desejáveis no produto final (DROSINOS et al.,
219 2007).

220

221 **4.3 Avaliação da estabilidade sob refrigeração, diferentes concentrações de NaCl e** 222 **diferentes condições de pH**

223 Para realização dos testes foram reativados os 21 isolados que estavam armazenados
224 em freezer, entretanto apenas 12 deles apresentaram desenvolvimento em MRS caldo após
225 incubação (1R1, 1R2, 1R3, 1R4, 1R5, 1R6, 2R1, 2R2, 2R4, 2R6, 4R2 e 4R3), os quais foram

226 testados quanto a estabilidade em temperatura de 8 °C, concentração de NaCl 4, 6 e 10% e pH
227 2,5 e 8,0. Foram realizadas novas tentativas de reativação dos demais isolados, porém
228 mantiveram ausência de desenvolvimento em MRS caldo. É importante ressaltar que a taxa de
229 resfriamento para o armazenamento das BAL, exercem forte influência sobre a
230 estabilidade celular, apesar da utilização de agentes crioprotetores (como o glicerol), que
231 reduzem o estresse físico e químico derivado do congelamento e do degelo das células
232 (DUMONT et al., 2004; AGUIAR et al., 2012).

233 Quando avaliado a estabilidade em relação à temperatura, todos os isolados
234 apresentaram desenvolvimento em MRS caldo até pelo menos 8 dias, suportando o
235 armazenamento a 8°C (Tabela 4). Esse resultado é importante devido a possibilidade de
236 aplicação em produtos refrigerados, como o iogurte, que é produzido através da fermentação
237 do leite por bactérias e um produto que exige temperatura de armazenamento de 2 °C a 10 °C
238 (FERREIRA, 2001).

239 Os isolados 2R2 e 4R3 apresentaram resultados satisfatórios, pois mostram-se estáveis
240 até o oitavo dia em todas as concentrações de NaCl testadas. Um dos fatores de avaliação para
241 o emprego de culturas de bactérias ácido lácticas no processamento de produtos é a tolerância
242 ao NaCl, como por exemplo em produtos cárneos, que exige adaptação dessas culturas à um
243 ambiente heterogêneo (ERKKILÄ; PETÄJÄ, 2000).

244 Em relação à estabilidade dos isolados ao pH 8,0, com exceção do isolado 1R3, todos
245 os demais apresentaram-se estáveis até oitavo dia. Considerando que as BAL constituem a
246 microbiota dominante do intestino delgado, o qual possui um pH alcalino (pH 8,0 - 9,0), este
247 resultado se mostra satisfatório. O trato gastrointestinal (TGI) humano compreende um
248 complexo ecossistema, no qual bactérias residentes e em trânsito coexistem. Estas exercem

249 um papel importante nas funções fisiológicas e metabólicas, que incluem a manutenção do
250 TGI, apresentando associação direta ao sistema imune (BARBERI et al., 2015).

251 Já em pH 2,5, correspondente ao pH do estômago, os isolados da amostra 1R
252 apresentaram-se estáveis até o segundo dia. Resultado interessante quando comparado ao
253 tempo médio de permanência dos alimentos no estômago, o qual fica em torno de 3
254 horas, período este que os micro-organismos ficam expostos à acidez estomacal (MAHAN e
255 ESCOTT-STUMP, 2002).

256 Também é necessário considerar que o pH ácido do estômago é uma condição severa
257 para a sobrevivência do microrganismo. Porém, durante a ingestão de alimentos, considera-se
258 que o pH do estômago pode aumentar para 4,5, o que melhora a condição de exposição para a
259 bactéria (TULUMOĞLU, KAYA; ŞİMŞEK, 2014).

260 A influência do pH é relevante na estabilidade das células, a resistência das bactérias
261 frente a esse parâmetro é dependente tanto da cepa, quanto ao pH considerado, sendo que a
262 sensibilidade dos mesmos é aumentada com valores de pH inferiores a 3 (SAITO et al., 2014).
263 Ainda, é necessário considerar que a quantidade e o estado fisiológico do micro-organismo
264 podem contribuir para a sua sobrevivência, já que são inseridos, principalmente em produtos
265 lácteos fermentados e, dessa forma, as proteínas do leite podem reforçar a proteção ao
266 microrganismo dando suporte à tolerância ao suco gástrico (DARDIR, 2012; TUO et al.,
267 2013).

Tabela 4. Estabilidade de bactérias ácido lácticas isoladas de amostras de rúculas comercializadas no município de Itaqui, RS à diferentes concentrações de Cloreto de Sódio (NaCl 4, 6 e 10%), pH 2,5 e 8,0 e temperatura de armazenamento de 8°C ao longo de 8 dias (2018).

Isolados	DIA 2						DIA 4						DIA 6						DIA 8					
	NaCl 4%	NaCl 6%	NaCl 10%	pH 2,5	pH 8,0	8°C	NaCl 4%	NaCl 6%	NaCl 10%	pH 2,5	pH 8,0	8°C	NaCl 4%	NaCl 6%	NaCl 10%	pH 2,5	pH 8,0	8°C	NaCl 4%	NaCl 6%	NaCl 10%	pH 2,5	pH 8,0	8°C
1R1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+
1R2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+
1R3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+
1R4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+
1R5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+
1R6	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+
2R1	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+
2R2	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+
2R4	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+
2R6	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+
4R2	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+
4R3	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+

+ apresentou desenvolvimento microbiano; - não apresentou desenvolvimento microbiano.

238 4.4 Perfil Fermentativo

239 Os 12 isolados que haviam apresentado multiplicação para os testes anteriores foram
240 reativados, entretanto apenas oito apresentaram multiplicação em MRS caldo, sendo 1R1,
241 1R2, 1R3, 1R4, 1R5, 1R6, 4R2 e 4R3.

242 Todos os isolados testados apresentaram apenas turvação do meio, sem formação de
243 gás, caracterizando os isolados como homofermentativos (LOPES, 2008). Tanganurat et al.
244 (2009) observaram resultado semelhante, no qual foram isoladas 81 colônias de BAL a partir
245 de amostras de couve chinesa, gengibre, alho, pepino e manga, sendo todos caracterizados
246 como homofermentativos.

247 Considerando também, a característica morfológica dos isolados, assemelha-se à todos
248 os membros dos gêneros *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus* e *Enterococcus*, os quais
249 também são caracterizados como homofermentativos (MOZZY et al., 2010).

250 A principal característica do metabolismo de BAL é a fermentação eficiente de
251 substratos, associados à fosforilação ao nível do substrato (MOZZY et al., 2010). A rota na
252 qual as hexoses são metabolizadas por bactérias à ácido láctico são divididas em dois grupos:
253 homofermentativo e heterofermentativo (RIBEIRO et al., 2014).

254 As BAL homofermentativas apresentam como características a produção de ácido
255 láctico como único ou o principal produto da fermentação da glicose (LOPES, 2008).
256 Enquanto as heterofermentativas tem produção da mesma quantidade molar de lactato,
257 dióxido de carbono e etanol a partir das hexoses, produzindo uma série de substâncias
258 antimicrobianas, incluindo ácido láctico, peróxido de hidrogênio, diacetil e outros ácidos
259 orgânicos (FURTADO, 2010).

260 Bactérias homofermentativas metabolizam carboidratos através da rota Embden-
261 Meyerhof- Parnas, gerando duas moléculas de lactato por molécula de glicose, sendo

262 considerada principal rota de glicólise anaeróbica utilizada na fermentação (HUERTAS,
263 2010).

264

265 **5 Conclusões**

266 Além de ser uma hortaliça rica em micronutrientes, a rúcula demonstrou-se uma
267 possível fonte para isolamento de bactérias ácido lácticas. Apesar de nenhum dos isolados
268 apresentarem atividade antimicrobiana, foi possível caracterizar oito isolados com morfologia
269 de cocos Gram positivos, catalase negativos e homofermentativos, dos quais, os isolados 2R2
270 e 4R3 destacaram-se por apresentarem estabilidade satisfatória em concentração de NaCl 4, 6
271 e 10%, pH 8,0 e temperatura de 8 °C por até 8 dias. Da mesma forma que, os seis isolados da
272 amostra 1R, apresentaram-se estáveis em pH 2,5 por período de dois dias. Diante disso,
273 demonstram potencial à pesquisas visando a aplicação em alimentos.

274

275

276

277

278

279

280

281

282

283

284

285

286

287 **Referências bibliográficas**

288

289 AGUIAR, T.A.F.; TEIXEIRA, M.F.S.; TELES, C.H.A.; MARTINS, G.R; BEZERRA, R.Q.J;
290 COSTA, E.C. Princípios básicos da criomicrobiologia: Enfoque nos tipos de micro-
291 organismos e nos principais agentes crioprotetores. **Acta Veterinária Brasilica**, v.6, n.2,
292 p.80-92, 2012.

293

294

295 ARGYRI, A. A.; ZOUMPOPOULOU, G.; KARATZAS, K.A.; TSAKALIDOU,
296 E.; NYCHAS, G.J.; PANAGOU, E.Z.; TASSOU, C.C. Selection of potential probiotic lactic
297 acid bacteria from fermented olives by in vitro tests. **Food Microbiology**, v.33, p. 282–291,
298 2013.

299

300

301 AXELSSON, L. Lactic acid bacteria: Classification and physiology In S. SALMINEN, A.
302 Von Wright. Inc. **Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects**, New York:
303 Marcel Dekker, 1998, p.01-72.

304

305

306 BARBERI, C.; CAMPANA, S.; DE PASQUALE, C.; RABBANI, K. M.; FERLAZZO,
307 G.; BONACCORSI, I. T cell polarizing properties of probiotic bacteria. **Immunology letters**,
308 v.168, n.2, p.337-342, 2015. doi: 10.1016/j.imlet.2015.11.005

309

310

311 BISCOLA, V.; TODOROV, S.D.; CAPUANO, V.S.; ABRIOUEL,H.; FRANCO, B.D.
312 Isolation and characterization of a nisin-like bacteriocin produced by a *Lactococcus lactis*
313 strain isolated from charqui, a Brazilian fermented, salted and dried meat product. **Meat**
314 **Science**, v.93, n.3, p.607–613, 2013.doi: 10.1016/j.meatsci.2012.11.021

315

316

317 BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Coordenação-Geral da Política
318 de Alimentação e Nutrição. **Guia alimentar para a população brasileira** : promovendo a
319 alimentação saudável / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Coordenação-
320 Geral da Política de Alimentação e Nutrição. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

321

322

323 _____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 46, de
324 23 de outubro de 2007. Regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados.
325 **Diário Oficial da União**: Brasília, DF, 24 de outubro de 2007.

326

327

328 CANDY, D.C.A.; HEAT, S.J.; LEWIS, J.D.N.; THOMAS, L.V. Probiotics for
329 theyoungandthenotsoyoung. **International Journal of Dairy Technology**, v.61, p.215–221,
330 2008. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2008.00419.x>

331

332

333 CARR, F.J.; CHILL, D.; MAIDA, N. The lactic acid bacteria: a literature survey. **Critical**
334 **Reviews in Microbiology**, v.28, n.4, p. 281-370, 2002. doi:[http://dx.doi.org/10.1080/1040-](http://dx.doi.org/10.1080/1040-840291046759)
335 [840291046759](http://dx.doi.org/10.1080/1040-840291046759)

- 336 DARDIR, H.A. In vitro Evaluation of Probiotic Activities of Lactic Acid Bacteria Strains
337 Isolated From Novel Probiotic Dairy Products. **Global Veterinaria**, v.8, n.2, p. 190-196,
338 2012.
339
340
- 341 DROSINOS, E.H.; MATARAGAS, M.; XIRAPHI, N.; MOSCHONAS, G.; GAITIS,
342 F.; METAXOPOULOS, J. Characterization of the microbial flora from a traditional Greek
343 fermented sausage. **Meat Science**, v. 69, p.307-317, 2005.
344
345
- 346 DROSINOS, E. H.; PARAMITHIOTIS, S.; KOLOVOS, G.; TSIKOURAS,
347 I.; METAXOPOULOS, I. Phenotypic and technological diversity of lactic acid bacteria and
348 staphylococci isolated from traditionally fermented sausages in Southern Greece. **Food**
349 **Microbiology**, v. 24, p. 260-270, 2007.
350
351
- 352 DUMONT, F.; MARECHAL, P.A.; GERVAIS, P. Cell size and water permeability as
353 determining factors for cell viability after freezing at different cooling rates. **Applied and**
354 **Environmental Microbiology**, Washington, v. 3, p. 268-272, 2004.
355
356
- 357 ERKKILA, S.; PETÄJÄ, E. Screening of comercial meat starter culture at low pH and in the
358 presence of bile salts for potential probiotic use. **Meat Science**, v.55, p. 297-300, 2000.
359
360
- 361 EVANGELISTA, J. Tecnologia de alimentos. 2. ed. São Paulo: **Atheneu**, 2008. p. 27.
362
363
- 364 FERREIRA, C. L. **Produtos Lácteos e Fermentados** (aspectos bioquímicos e tecnológicos).
365 Viçosa: UFV, 2001. 112 p.
366
367
- 368 FILGUEIRA, F. A. R. Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e
369 comercialização de hortaliças. 3. ed. **Viçosa**: UFV, 2008. FURTADO, D.N. **Isolamento de**
370 **bactérias lácticas produtoras de bacteriocinas e sua aplicação no controle de *Listeria***
371 ***monocytogenes* em queijo frescal de leite de cabra** [Dissertação]. São Paulo: Universidade
372 de São Paulo; 2010.
373
374
- 375 GÓRSKA, S.; GRYCKO, P.; RYBKA, J.; GAMIAN, A. Exopolysaccharides of lactic acid
376 bacteria: structure and biosynthesis. **Postepy Higieny Medycyny Doswiadczalnej**, v.4 n.61,
377 p. 805-18, 2007.
378
379
- 380 HERMANN, G. **Potencial bacteriocinogênico e probiótico de Bactérias ácido lácticas**
381 **isoladas de Leite e queijos artesanais – Rio Grande do Sul**. 2013. 101 f. Tese (Doutorado)
382 - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.
383
384

- 385 HOU, C.; ZENG, X.; YANG, F.; LIU, H.; QIAO, S. Study and use of the probiotic
386 *Lactobacillus reuteri* in pigs: a review. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, p. 6-
387 1, 2013.
388
389
- 390 HUERTAS, R. A. P. Bacterias Acido Lácticas: Papel funcional en los alimentos. **Revista**
391 **Biología En El Sector Agropecuario Y Agroindustrial**, v. 8, n. 1, p. 93-105, 2010.
392
393
- 394 KING, E. O.; WARD, M. K.; RANEY, D. E. Two simple media for the demonstration of
395 pyocyanin and fluorescin. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v.44, p.301-307,
396 1954.
397
398
- 399 KUCEROVÁ, K.; CHUMCHALOVÁ, J.; MIKOVÁ, K.; CUPÁKOVÁ, S.; KARPÍSKOVÁ,
400 R.; HO, L. Screening of lactic acid bacteria for antimicrobial properties from mayonnaise-
401 based products and raw materials. **Europea Food Research Technology**. v.226, n.1-2, p.
402 265-272, 2007.
403
404
- 405 LEROY, F.; VERLUYTEN, J.; VUYST, L. D. Functional meat starter cultures for improved
406 sausage fermentation. **International Journal of Food Microbiology**, v.106, p. 270 285,
407 2006.
408
409
- 410 LIMA, C.D.L.C.; LIMA, L.A.; CERQUEIRA, M.M.O.P.; FERREIRA, E.G.; ROSA, C.A.
411 Bactérias do ácido láctico e leveduras associadas com o queijo-de-minas artesanal produzido
412 na região da Serra do Salitre. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**,
413 v.61, n.1, p. 266–272, 2009. doi:<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352009000100037>
414
415
- 416 LOPES, A.R. **Produção de ácido láctico por *Lactobacilos* em diferentes meios de cultivo**
417 [dissertação].Rio Claro: Instituto de Biociências – Rio Claro, Universidade Estadual Paulista;
418 2008. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/94976>>
419
420
- 421 MAHAN, K. L.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause: alimentos, nutrição & dietoterapia**. 10 ed.
422 São Paulo: Roca, 2002.
423
424
- 425 MOZZY, F. F.; RAYA, R. R.; VIGNOLO, G. M. **Biotechnology of lactic acid bacteria**
426 **novel applications**. 1.ed. Ames: WileyBlackwell, 2010. 408p.
427
428
- 429 OPLUSTIL, C.P.; ZOCCOLI, C.M. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica**, 3.ed.
430 São Paulo: **Sarvier**, 2010.
431
432

- 433 PONCE, A.G.; MOREIRA, M.R.; ROURA, S.I. Preliminary characterization of bacteriocin-
434 like substances from lactic acid bacteria isolated from organic leafy vegetables. **LWT – Food**
435 **Science and Technology**, v.41, n.3, p.432-441, 2008. doi:
436 <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2007.03.021>
437
438
439
440 RIBEIRO, S. C.; COELHO, M.C.; TODOROV, S.D.; FRANCO, B.D.; DAPKEVICIUS,
441 M.L.; SILVA, C.C. Technological properties of bacteriocin-producing lactic acid bacteria
442 isolated from Pico cheese an artisanal cow's milk cheese. **Journal of Applied Microbiology**,
443 v. 116, n. 3, p. 573-585, 2014.
444
445
446 SAITO, V. S. T.; DOS SANTOS, T.F.; VINDEROLA, C.G.; ROMANO, C.; NICOLI,
447 J.R.; ARAÚJO, L.S.; COSTA, M.M.; ANDRIOLI, J.L.; UETANABARO, A.P. Viability and
448 Resistance of Lactobacilli Isolated from Cocoa Fermentation to Simulated Gastrointestinal
449 Digestive Steps in Soy Yogurt. **Journal of Food Science**. v. 79, n 2, 2014.
450
451
452 SALMINEN, S.; WRIGHT, A.V.; OUWEHAND, A.C. Latic acid bacteria: microbiology and
453 functional aspects. 3 ed. New York: Mercel Dekker; 2004.
454
455
456 SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS,
457 R.F.S.; GOMES, R.A.R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São
458 Paulo: Varela, 3^a. ed. P. 552, 2007
459
460
461 SMID, E. J.; KLEEREBEZEM, M. Production of aroma compounds in lactic fermentations.
462 **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 5, p. 313-326, feb.2014.
463
464
465 TANGANURAT, W.; QUINQUIS, B.; LEELAWATCHARAMAS, V.; BOLOTIN, A.
466 Genotypic and phenotypic characterization of Lactobacillus plantarum strains isolated from
467 Thai fermented fruits and vegetables. **Journal of Basic Microbiology**, v. 49, p.377–385,
468 2009. doi: <https://doi.org/10.1002/jobm.200800185>
469
470
471 TRIAS, R.; BAÑERAS, L.; MONTESINOS, E.; BADOSA, E. Lactic acid bacteria from fresh
472 fruit and vegetables as biocontrol agents of phytopathogenic bacteria and fungi. **International**
473 **Microbiology**, v.11, n.4, p. 231-36, 2008. doi: [10.2436/20.1501.01.66](https://doi.org/10.2436/20.1501.01.66)
474
475
476 TULUMOĞLU, S.; KAYA, H. I.; ŞİMŞEK, O. Probiotic characteristics of Lactobacillus
477 fermentum strains isolated from tulum cheese. **Anaerobe**, v.30, p.120-125, 2014.
478
479
480 TUO, Y.; ZHANG, W.; ZHANG, L.; AI, L.; ZHANG, I.; HAN, X.; YI, H. Study of probiotic
481 potential of four wild Lactobacillus rhamnosus strains. **Anaerobe**, v.21, p. 22 – 27, 2013.

482 ZOTTA, T.; PARENTE, E.; RICCIARDI, A. Viability staining and detection of metabolic
483 activity of sourdough lactic acid bacteria under stress conditions. **World Journal of**
484 **Microbiology and Biotechnology**, v. 25, n. 6, p. 1119-1124, 2009.

ANEXO I

• INSTRUÇÕES AOS AUTORES

- [Objetivo e política editorial](#)
- [Normas para a apresentação de trabalhos](#)

Objetivo e política editorial

A Revista **Ciência e Tecnologia de Alimentos** publica artigos científicos na área. Os trabalhos devem ser apresentados em inglês, escritos com texto claro e conciso, devendo observar as disposições normativas relacionadas neste documento.

POLÍTICA EDITORIAL

A **Ciência e Tecnologia de Alimentos** aceita submissões de artigos que contenham resultados de pesquisa original e adota a política de revisão por pares, anônima. O aceite dos trabalhos depende do parecer de pelo menos dois revisores indicados pela Comissão Editorial. Os pareceres dos revisores serão encaminhados aos autores para que verifiquem as sugestões e procedam às modificações que se fizerem necessárias. Em caso de discordância, a decisão final caberá ao Editor responsável pelo artigo ou, se este considerar necessário, outro revisor será consultado e os três pareceres serão analisados pela Diretoria de Publicações da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia – sbCTA, que tomará a decisão final. Os trabalhos aceitos serão publicados na versão on-line da Revista e no SciELO, dentro um prazo médio de doze meses.

AUTORIA

A autoria deve ser limitada a aqueles que participaram e contribuíram substancialmente para o desenvolvimento do trabalho. O autor para correspondência deve ter obtido permissão de todos os autores para realizar a submissão do artigo e para realizar qualquer alteração na autoria do mesmo.

DOCUMENTAÇÃO EXIGIDA

Termo de Concordância e Cessão de Direitos de Reprodução Gráfica

O autor para correspondência deverá assinar e encaminhar à Diretoria de Publicações da sbCTA o Termo de Concordância e Cessão de Direitos de Reprodução Gráfica em nome de todos os autores. Assinando o Termo de Concordância e Cessão de Direitos de Reprodução Gráfica, os autores concordam com o seguinte, descrito no Termo:

- Que o trabalho não foi submetido para avaliação por outra publicação de mesma finalidade;
- A submissão do trabalho e a nomeação do autor para correspondência indicado;
- A cessão do direito de reprodução gráfica para a sbCTA, caso o trabalho seja aceito para publicação.

Normas para a apresentação de trabalhos

CONTEÚDO DA PUBLICAÇÃO

Artigos originais

O trabalho deve apresentar o resultado claro e sucinto de pesquisa realizada com respaldo do método científico.

Artigos originais não podem exceder 5.000 palavras (excluindo resumo, abstract, tabelas, figuras, legendas e referências) e, preferencialmente, não devem ultrapassar o limite conjunto de sete figuras e tabelas. Cada manuscrito deve fornecer três palavras-chave, resumo de no máximo 200 palavras que delineie as principais conclusões da pesquisa, e ser acompanhado por uma folha de rosto e página de autoria.

Trabalhos envolvendo humanos

Quando houver apresentação de resultados de pesquisas envolvendo seres humanos, citar o número do processo de aprovação do projeto por um Comitê de Ética em Pesquisa, conforme Resolução nº 196/96, de 10 de outubro de 1996 do Conselho Nacional de Saúde.

FORMATAÇÃO DOS MANUSCRITOS

Primeira página

A primeira página do manuscrito submetido deve conter obrigatoriamente as seguintes informações nesta ordem:

- **relevância do trabalho:** breve texto de no máximo 100 palavras que descreva sucintamente a relevância do trabalho;
- **títulos do trabalho:** em inglês e português, e título para cabeçalho;
- título para cabeçalho de página, com no máximo 15 palavras.

Página de autoria

A página de autoria do manuscrito deverá conter as seguintes informações:

- Informação para correspondência do Autor para correspondência (endereço postal completo, números de telefone e FAX, e endereço de e-mail).
- Nome completo de todos os autores;
- Nomes das instituições onde o trabalho foi desenvolvido.

Página do Resumo e palavras-chave

Todos os artigos devem ser acompanhados de um resumo em inglês e português. O resumo de sempre:

- Estar em um único parágrafo de no máximo 200 palavras;
- Explicitar claramente o objetivo principal do trabalho;
- Se aplicável, indicar materiais, métodos e resultados;
- Sumarizar as conclusões;
- Não usar abreviações e siglas

O resumo não deve conter:

- Notas de rodapé;
- Dados e valores estatísticos significativos;
- Referências bibliográficas.

Palavras chave:

- Incluir três palavras-chave, evitando-se a utilização de termos já utilizados no título e resumo.

Texto

O trabalho deverá ser dividido nas seguintes partes, quando apropriado, numeradas nessa ordem:

- 1. Introdução;
- 2. Material e métodos, que deve incluir delineamento experimental e forma de análise estatística dos dados;
- 3. Resultados e discussão (podendo ser separados, se necessário);
- 4. Conclusões;
- 5. Referências bibliográficas;
- Agradecimentos;
- Tabelas;
- Figuras;
- Quadros.

No texto:

- Abreviações, siglas e símbolos devem ser claramente definidos na primeira ocorrência;
- Notas de rodapé não são permitidas;
- Tabelas, figuras e quadros devem ser numerados com numerais arábicos seguindo a ordem em que são citados, porém devem ser enviadas, com suas respectivas legendas, em arquivos separados;
- Títulos e subtítulos são recomendados, sempre que necessários, mas devem ser utilizados com critério, sem prejudicar a clareza do texto;
- Equações devem ser geradas por programas apropriados e identificadas no texto com algarismos arábicos entre parêntesis na ordem que aparecem;
- As referências devem ser numeradas em ordem alfabética;

O manuscrito deve ser digitado em espaçamento duplo, em uma única coluna justificada, com margens de 2,5 cm. Linhas e páginas devem estar numeradas seqüencialmente.

Nomes proprietários

Matérias-primas, equipamentos especializados e programas de computador utilizados deverão ter sua origem (marca, modelo, cidade, país) especificada.

Unidades de medida

- todas as unidades devem estar de acordo com o Sistema Internacional de Unidades (SI);
- temperaturas devem ser descritas em graus Celcius.

Referências Bibliográficas

Citações no texto

As citações bibliográficas inseridas no texto devem ser indicadas pelo(s) sobrenome(s) do(s) autor(es) em letra maiúscula, seguido(s) pelo ano da publicação (ex.: SILVA et al, 2005), sendo que:

- Artigos com até três autores, citam-se os três sobrenomes;
- Artigos com mais de três autores, cita-se o sobrenome do primeiro autor, seguido da expressão "et al.";
- Se o nome do autor não é conhecido, cita-se a primeira palavra do título.

Lista de referências

Toda a literatura citada no texto deverá ser listada em ordem alfabética. Artigos em preparação ou submetidos a avaliação não devem ser incluídos nas referências. A formatação das referências deve seguir o padrão estabelecido pela Associação Brasileira de Normas

Técnicas (ABNT) em "Regras Gerais de Apresentação" - NBR-6023, de agosto, 2002.

Segundo determinação da diretoria de publicações da SBCTA artigos aceitos cujas referências bibliográficas estejam fora do padrão determinado ou com informações incompletas **NÃO SERÃO PUBLICADOS** até que os autores tenham as referências totalmente adequadas às normas.

Exemplos de referências:

Livros

BACCAN, N.; ALEIXO, L. M.; STEIN, E.; GODINHO, O. E. S. **Introdução à semimicroanálise qualitativa**, 6ª. edição. Campinas: EDUCAMP, 1995.

Capítulos de livro

SGARBIERI, V. C. Composição e valor nutritivo do feijão *Phaseolus vulgaris* L. In: BULISANI, E. A (Ed.) **Feijão: fatores de produção e qualidade**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. Cap. 5, p. 257-326.

Artigo de periódico

KINTER, P. K.; van BUREN, J. P. Carbohydrate interference and its correction in pectin analysis using the m-hydroxydiphenyl method. **Journal Food Science**, v. 47, n. 3, p. 756-764, 1982.

Artigos apresentados em encontros científicos

JENSEN, G. K.; STAPELFELDT, H. Incorporation of whey proteins in cheese. Including the use of ultrafiltration. In: INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Factors Affecting the Yield of Cheese**. 1993, Brussels: International Dairy Federation Special Issue, n. 9301, chap. 9, p. 88-105.

Tese e Dissertação

CAMPOS, A C. **Efeito do uso combinado de ácido láctico com diferentes proporções de fermento láctico mesófilo no rendimento, proteólise, qualidade microbiológica e propriedades mecânicas do queijo minas frescal**. Campinas, 2000, 80p. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

Trabalhos em meio-eletrônico

SÃO PAULO (Estado). Secretaria do Meio Ambiente. Tratados e organizações ambientais em matéria de meio ambiente. In: _____. **Entendendo o meio ambiente**. São Paulo, 1999. v. 1. Disponível em: <<http://www.bdt.org.br/sma/entendendo/atual.htm>>. Acesso em: 8 mar. 1999.

Legislação

BRASIL. Portaria n. 451, de 19 de setembro de 1997. Regulamento técnico princípios gerais para o estabelecimento de critérios e padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 22 set. 1997, Seção 1, n. 182, p. 21005-21011.

Tabelas

As tabelas devem ser citadas no texto com numerais arábicos e devem ser enviadas em arquivos separados, nomeando-as de maneira clara (ex. tabela1.doc etc). As tabelas devem ser elaboradas utilizando-se o recurso de tabelas do programa Microsoft® Word, e devem:

- Ser auto-explicativa
- Ter o número de algarismos significativos definidos com critério estatístico que leve em conta o algarismo significativo do desvio padrão;
- Ser em número reduzido para criar um texto consistente, de leitura fácil e contínua;

- Apresentar dados que não sejam apresentados na forma de gráfico;
- Utilizar o formato mais simples possível, não sendo permitido uso de sombreamento, cores ou linhas verticais e diagonais;
- Utilizar somente letras minúsculas sobrescritas para denotar notas de rodapé que informem abreviações, unidades etc. Demarcar primeiramente as colunas e depois as linhas e seguir esta mesma ordem no rodapé.

Figuras e quadros

Devem ser citados e numerados em ordem numérica utilizando-se numerais arábicos. Enviar em arquivos separados, com a máxima qualidade possível. Enviar os arquivos preferencialmente no formato original em que foram gerados (TIF, XLS, EPS, BMP, JPG ou DOC). Os arquivos devem ser adequadamente identificados com o número citado na legenda (ex.: figura1.tif, figura2.eps, figura3.doc etc). Ao enviar figuras com fotos ou micrografias certifique-se que estas sejam escaneadas em alta resolução para que cada foto fique com no mínimo 1.000 *pixels* de largura. Todas as fotos devem ser acompanhadas do nome do autor, pessoa física. Para representar fichas, esquemas ou fluxogramas devem ser utilizados quadros.

INSTRUÇÕES GERAIS PARA SUBMISSÃO ON-LINE

Taxa de submissão

A Revista **Ciência e Tecnologia de Alimentos** cobra uma taxa de submissão de R\$ 160 por artigo. Para autores sócios da sbCTA a taxa é de R\$ 60 em função do número de sócios na autoria do trabalho, da seguinte forma:

- Até dois autores: pelo menos um deve ser sócio quite com a anuidade para ser considerado o valor com desconto;
- De três a cinco autores: pelo menos dois devem ser sócios quites com a anuidade para ser considerado o valor com desconto;
- De cinco a sete autores: pelo menos quatro devem ser sócios quites com a anuidade para ser considerado o valor com desconto;

A avaliação do artigo só terá início após o pagamento da taxa de submissão que se dará de duas formas e sempre para o e-mail do autor que realizou a submissão:

- Autor no Brasil: através de boleto bancário enviado por e-mail.
- Autor no exterior: através do site de pagamentos PayPal enviado por e-mail.

Revisão do inglês

Os trabalhos cuja redação em inglês esteja ruim, dificultando o entendimento e a revisão dos mesmos, serão devolvidos pelo Editor e a sua resubmissão estará condicionada ao recebimento de um certificado de revisão do inglês. **Recomenda-se fortemente que o manuscrito seja submetido à revisão de inglês por especialista na língua antes da sua submissão.**

Formatos de arquivo

Durante a submissão são aceitos os arquivos do tipo DOC, TIF, XLS, EPS, BMP ou JPG, independente da plataforma Windows® ou Macintosh®, onde forem gerados. O texto principal do manuscrito deve ser submetido da seguinte forma:

Manuscrito.doc: versão para produção

- Formato Microsoft® Word (.doc);
- Fonte Times New Roman, tamanho 12
- Texto completo do manuscrito
- Figuras e tabelas devem ser submetidas em arquivos separados;
- Linhas e páginas devem ser numeradas seqüencialmente;
- Deve ter a folha de rosto em arquivo separado

- Deve ter os nomes dos autores e instituições na primeira página
- Deve ser nomeado manuscritoproducao.doc

Manuscrito.pdf: versão para avaliação

- Formato pdf
- Fonte Times New Roman, tamanho 12
- Texto completo do manuscrito, sem tabelas e figuras;
- Figuras e tabelas devem ser submetidas em arquivos separados;
- Linhas e páginas devem ser numeradas seqüencialmente;
- Deve ter a folha de rosto excluída;
- Deve ter os nomes dos autores e instituições removidos da página de título;
- Deve ser nomeado manuscritoavaliacao.pdf

Antes de realizar a submissão on-line o Autor para Correspondência deverá preencher e assinar o Termo de Concordância e Cessão de Direitos de Reprodução Gráfica. Esse formulário pode ser abaixado on-line no endereço http://cta.submitcentral.com.br/terms_sbcta_br.pdf. Encaminhar o formulário por e-mail ou FAX à Diretoria de Publicações da sbCTA para +55 19 32410527 ou revista@sbcta.org.br. O processo de avaliação não será iniciado até que o Termo de Concordância e Cessão de Direitos de Reprodução Gráfica seja recebido.

O programa Submitcentral para submissão dos artigos está otimizado para os seguintes navegadores e versões: Internet Explorer 6, Internet Explorer 7, Firefox 1.5+, Opera 9.2+, Safari 3+

Os Autores devem acessar o programa Submitcentral no endereço <http://cta.submitcentral.com.br> e no "Painel do Autor" clicar em "Iniciar uma nova submissão >>".

Passo 1: Título, Resumo e Palavras-chave

Preencha o campo 'Título'.

Cole ou digite o Resumo no campo 'Resumo'.

Adicione no mínimo três palavras-chave preenchendo o campo 'Palavras-chave' e clicando no botão 'adicionar'.

Clique no botão 'continuar'.

Passo 2: Autores e Instituições

Preencha as informações de cada Autor do trabalho. É necessário preencher todos os campos e clicar em 'adicionar', antes de passar ao próximo Autor. Para acertar a ordem utilize as setas na coluna 'Ordem'. Marque o Autor para Correspondência clicando no botão 'Autor para Correspondência (troca)'.

Informe pelo menos uma (01) instituição para cada Autor. Se necessário clique no botão 'Editar Instituições'.

Clique no botão 'continuar'.

Passo 3: Referees

Informe Revisores 'preferidos' e 'não-preferidos' para avaliar seu trabalho. Esta etapa pode ajudar muito a agilizar o início do processo de avaliação.

Clique no botão 'Mudar Preferência' para alternar entre 'preferido' e 'não-preferido'.

Clique no botão 'continuar'.

Passo 4: Envio de Arquivos

Envie todos os arquivos do seu trabalho utilizando o botão 'procurar' ou 'browse'.

Escolha o tipo de arquivo: Manuscrito em DOC sem os autores (para revisores), Manuscrito em DOC< completo (para produção), Folha de Rosto, Figura, Tabela ou Arquivo Suplementar.

Clique no botão 'enviar'. Repita a operação até ter enviado todos os arquivos.

Clique no botão 'continuar'.

Passo 5: Informações Gerais

Informe se o manuscrito é convidado e caso afirmativo quem fez o convite.

Escolha o Tipo de Contribuição da caixa de seleção. Escolha a Área do Trabalho da caixa de seleção.

Confirme que assinou e enviou o Termo de Concordância e respostas às outras perguntas.

Escreva

sua

Carta ao

Editor.

Clique

no

botão

'continuar'.

Passo 6: Checar e Submeter

Verifique todas as informações e corrija se necessário clicando no botão

'editar'.

Abaixe todos os arquivos e abra-os para certificar-se de que não estejam corrompidos.

Marque a caixa informando que abaixou e

abriu todos os arquivos. Clique no botão

'Finalizar Submissão' para concluir o processo de submissão.

Uma confirmação será exibida para ser impressa, e você também receberá uma confirmação por e-mail.

[\[Home\]](#) [\[Sobre esta revista\]](#) [\[Corpo editorial\]](#) [\[Assinaturas\]](#)



Todo o conteúdo do periódico, exceto onde está identificado, está licenciado sob uma [Licença Creative Commons](#)