

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA**

**EVANDRO OLIVEIRA ONOFRE E SILVA**

**ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁCTICAS COM  
ATIVIDADES ANTIMICROBIANA, PROTEOLÍTICA E LIPOLÍTICA DE  
LEITE DE OVELHA E DERIVADOS**

**ITAQUI-RS  
2016**

**EVANDRO OLIVEIRA ONOFRE E SILVA**

**ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁCTICAS COM  
ATIVIDADES ANTIMICROBIANA, PROTEOLÍTICA E LIPOLÍTICA DE  
LEITE DE OVELHA E DERIVADOS**

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

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Cássia Regina Nespolo

Coorientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Carla Pohl Sehn

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).

S586i SILVA, Evandro Oliveira Onofre  
ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁCTICAS COM  
ATIVIDADES ANTIMICROBIANA, PROTEOLÍTICA E LIPOLÍTICA DE  
LEITE DE OVELHA E DERIVADOS / Evandro Oliveira Onofre SILVA.  
28 p.

Trabalho de Conclusão de Curso(Graduação)-- Universidade Federal  
do Pampa, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2016.  
"Orientação: Cássia Regina Nespolo".

1. BAL. 2. leite ovino. 3. ação antimicrobiana. 4.  
bactérias proteolíticas. 5. bactérias lipolíticas. I. Título.

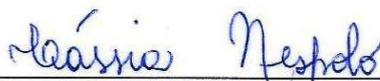
**EVANDRO OLIVEIRA ONOFRE E SILVA**

**ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁCTICAS COM  
ATIVIDADES ANTIMICROBIANA, PROTEOLÍTICA E LIPOLÍTICA DE  
LEITE DE OVELHA E DERIVADOS**

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

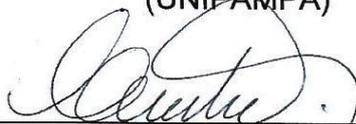
Trabalho de Conclusão de Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos aprovado  
em 21 de novembro de 2016.

Banca examinadora:



---

Profª Drª Cassia Regina Nespolo  
Orientadora  
(UNIPAMPA)



---

Profª Drª Carla Pohl Sehn  
(UNIPAMPA)



---

Bióloga Franciane Cabral Pinheiro  
(UNIPAMPA)

Dedico este trabalho ..... (a Deus).

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cássia Regina Nespolo, pela paciência, dedicação, ensinamento e carinho pela sua profissão.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Carla Pohl Sehn e à Bióloga Franciane Cabral Pinheiro pelo apoio ao artigo e pela colaboração.

A técnica do Laboratório de Biologia Giovana de Magalhães Soares pela paciência.

“Tente uma, duas, três vezes e se possível tente a quarta, a quinta e quantas vezes for necessário. Só não desista nas primeiras tentativas, a persistência é amiga da conquista. Se você quer chegar a onde a maioria não chega, faça o que a maioria não faz”.

Bill Gates

## SUMÁRIO

|  |    |
|--|----|
| ARTIGO.....                                  | 01 |
| RESUMO.....                                  | 02 |
| SUMMARY .....                                | 03 |
| INTRODUÇÃO .....                             | 04 |
| MATERIAIS E MÉTODOS.....                     | 05 |
| Obtenção das Amostras .....                  | 05 |
| Isolamento de Bactérias Ácido Lácticas ..... | 06 |
| Perfil Fermentativo .....                    | 07 |
| Atividade Proteolítica e Lipolítica .....    | 07 |
| Atividade Antimicrobiana .....               | 08 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO.....                  | 08 |
| CONCLUSÃO.....                               | 20 |
| REFERÊNCIAS.....                             | 20 |
| APÊNDICE A.....                              | 27 |
| APÊNDICE B.....                              | 28 |
| ANEXO I.....                                 | 29 |

Este trabalho é apresentado na forma de artigo para publicação na revista científica “*Brazilian Journal of Food Technology*”, sendo que a formatação corresponde às normas constantes no Anexo I.

**ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁCTICAS COM  
ATIVIDADES ANTIMICROBIANA, PROTEOLÍTICA E LIPOLÍTICA DE  
LEITE DE OVELHA E DERIVADOS**

**ISOLAR BACTÉRIAS ÁCIDO LÁCTICAS DO LEITE OVELHA E DERIVADOS.**

**AUTORES/AUTHORS**

Evandro Oliveira Onofre e Silva

Graduando de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 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: eonofre@gmail.com

Franciane Cabral Pinheiro, Bióloga, Laboratório de Biologia, UNIPAMPA, Campus Itaqui - E-mail: francianepinheiro@unipampa.edu.br

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

Cássia Regina Nespolo, Doutora em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Professora Adjunta, Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos, UNIPAMPA, Campus Itaqui - E-mail: cassianespolo@unipampa.edu.br – Autor Correspondente

1 **Isolamento de bactérias ácido lácticas com atividades antimicrobiana, proteolítica e**  
2 **lipolítica de leite de ovelha e derivados**

3

4 Evandro Oliveira Onofre e Silva; Franciane Cabral Pinheiro;

5 Carla Pohl Sehn; Cássia Regina Nespolo

6

7 **RESUMO**

8 Este trabalho teve como objetivo isolar bactérias ácido lácticas, a partir de amostras de leite  
9 de ovelha cru e produtos lácteos ovinos, e caracterizar essa microbiota com enfoque nas  
10 atividades antimicrobiana, proteolítica e lipolítica. As amostras foram provenientes da Serra  
11 Gaúcha, de um laticínio que processa leite ovino e de quatro propriedades leiteiras, e foram  
12 coletados leite cru, leite pasteurizado, creme de leite pasteurizado e manteiga, totalizando  
13 14 amostras. O isolamento foi feito em Ágar Man Rogosa e Sharpe, seguido da coloração  
14 de Gram e teste de catalase. Os isolados Gram positivos e catalase negativos foram  
15 caracterizados como bactérias ácido lácticas, e avaliados o perfil fermentativo e as  
16 atividades proteolítica, lipolítica e antimicrobiana frente a *Listeria monocytogenes*,  
17 *Escherichia coli* O157:H7 e *Staphylococcus aureus*. As contagens de bactérias ácido  
18 lácticas apresentaram-se mais elevadas no leite cru do tanque do laticínio, com  $7,35 \pm 0,11$   
19  $\log_{10}$  UFC/mL, e no leite coletado na propriedade 4  $8,91 \pm 0,05 \log_{10}$  UFC/mL, na qual foram  
20 observadas práticas adequadas nos procedimentos de pré e pós-ordenha. Foram obtidos  
21 253 isolados em Ágar Man Rogosa e Sharpe e, dentre as 37 bactérias ácido lácticas, 19  
22 apresentaram algum tipo de atividade, proteolítica, lipolítica ou antimicrobiana frente à  
23 *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, a maior parte proveniente do leite cru. Dentre os  
24 isolados de bactérias ácido lácticas (n=37), 48,65% (n=18) apresentaram atividade  
25 proteolítica, 13,51% (n=5) atividade lipolítica, 10,81% (n=4) atividades lipolítica e  
26 proteolítica conjuntas, e apenas 2,70% (n=1) apresentaram atividade antimicrobiana. Os

27 resultados demonstraram isolamento de bactérias ácido lácticas potencial tecnológico de  
28 desenvolvimento de culturas com aplicação no processamento de derivados lácteos ovinos  
29 fermentados.

30 Palavras-chaves: BAL; leite ovino; ação antimicrobiana; bactérias proteolíticas e lipolíticas.

31

## 32 **SUMMARY**

33 This work aimed to isolate lactic acid bacteria from raw sheep milk and sheep milk products  
34 and to characterize this microbiota with a focus on antimicrobial, proteolytic and lipolytic  
35 activities. The samples were obtained from Serra Gaúcha, in a dairy that processes sheep  
36 milk and four dairy farms, and collected raw milk, pasteurized milk, pasteurized cream and  
37 butter, totaling 14 samples. Isolation was done on Man Rogosa and Sharpe Agar, followed  
38 by Gram stain and catalase test. Gram positive and catalase negative isolates were  
39 characterized as lactic acid bacteria, and evaluated the fermentative profile, proteolytic,  
40 lipolytic and antimicrobial activities against *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:  
41 H7 and *Staphylococcus aureus*. Lactic acid bacteria counts were higher in raw milk in the  
42 dairy tank, with  $7.35 \pm 0.11$  logUFC/mL, and milk collected at property 4  $8.91 \pm 0.05$   
43 logUFC/mL, in which adequate practices were observed in the pre- and post-milking  
44 procedures. 253 isolates were obtained in Man Rogosa and Sharpe Agar, and among the  
45 37 lactic acid bacteria, 19 presented some type of proteolytic, lipolytic or antimicrobial  
46 activity against *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, most of which originated from raw milk.  
47 Among the isolates of lactic acid bacteria ( $n = 37$ ), 48.65% ( $n = 18$ ) presented proteolytic  
48 activity, 13.51% ( $n = 5$ ) lipolytic activity, 10.81% ( $n = 4$ ) Proteolytic activity, and only 2.70%  
49 ( $n = 1$ ) presented antimicrobial activity. The results demonstrated the isolation of lactic acid  
50 bacteria from sheep milk products and derivatives with technological potential for the  
51 development of cultures for application in the processing of fermented sheep dairy products.  
52 Keywords. LAB; ovine milk; antimicrobial action; proteolytic and lipolytic bacterias.

## 53 INTRODUÇÃO

54 O leite é considerado um alimento completo, importante fonte de carboidratos,  
55 proteínas e lipídios, com variação de sua composição em função da espécie animal  
56 (CALLEFE; LANGONI, 2015). O leite de ovelha apresenta maiores teores de sólidos totais,  
57 gordura e proteína do que os leites de vaca e cabra, obtendo maior rendimento na produção  
58 dos derivados queijo e iogurte (FAO, 2016). Os maiores produtores de leite de ovelha no  
59 mundo concentram-se no continente asiático, com 46,9% da produção mundial, sendo a  
60 China o principal país produtor. Em sequência, estão a Europa com 29,4%, a África  
61 apresenta 23,3% e o continente americano apenas 0,4% de participação na produção  
62 mundial. Este percentual equivale a 42.095 toneladas de leite ovino, e o Brasil contribui com  
63 21,72% deste total (FAO, 2013).

64 No Sul e Sudeste do Brasil, há produção de leite de ovelhas e beneficiamento a  
65 queijos diversos e iogurtes, ocorre em laticínios registrados ou mesmo em produções  
66 artesanais (BRITO *et al.*, 2006; SANTOS *et al.*, 2016; TAFFAREL *et al.*, 2015). Esta  
67 atividade vem aumentando sua participação no agronegócio brasileiro, com potencial para  
68 produção de queijos, os quais são muito valorizados no mercado (BRASIL, 2016; SANTOS  
69 *et al.*, 2016). Pode-se considerar que a ovinocultura leiteira ainda não teve seu potencial  
70 completamente explorado no Brasil, ainda que seus derivados apresentem alto valor  
71 agregado, especialmente no mercado voltado aos queijos finos (SANTOS *et al.*, 2016;  
72 NESPOLO; BRANDELLI, 2012).

73 Atualmente, o Rio Grande do Sul possui três núcleos de ovinos de leite, localizados  
74 em Viamão, Bento Gonçalves e Santana do Livramento, com uma boa diversificação na  
75 produção de derivados. A ovinocultura de leite é considerada como um sistema produtivo  
76 bem adaptado a pequenas propriedades, podendo-se constituir em uma alternativa de  
77 renda (ARCOOVINOS, 2016; SILVA *et al.*, 2014).

78 Do ponto de vista microbiológico, o leite cru mantido em temperaturas de refrigeração  
79 pode apresentar diversas bactérias, desde as próprias do leite até patogênicas ou  
80 deteriorantes (JAY, 2005). O leite cru é considerado boa fonte de bactérias ácido lácticas  
81 (BAL), as quais podem compor culturas de bactérias *starter*, que são adicionadas a uma  
82 matéria-prima para produzir um alimento fermentado (LEROY; VUYST, 2004). As BAL são  
83 um grupo de microrganismos Gram-positivos, não formadores de esporos, catalase  
84 negativos, que podem crescer sob condições microaerófilas ou estritamente anaeróbicas  
85 (BRUNO; CARVALHO, 2009).

86 A influência positiva de BAL em queijos é devido ao desenvolvimento de  
87 características sensoriais, por meio de reações bioquímicas como proteólise e lipólise  
88 durante a maturação (BRUNO; CARVALHO, 2009). As enzimas proteolíticas são as  
89 principais encontradas em BAL e a atividade lipolítica também é extensamente relatada  
90 para estas bactérias (BRUNO; CARVALHO, 2009; TRUJILLO *et al.*, 2000). Além dos  
91 produtos finais resultantes do metabolismo, algumas cepas de BAL são capazes de  
92 sintetizar compostos antimicrobianos (FURTADO, 2010). Estas características fazem com  
93 que sejam aplicadas em fermentos lácteos, como culturas iniciadoras primárias ou adjuntas  
94 (BRUNO; CARVALHO, 2009).

95 Considerando a importância e a expansão da ovinocultura leiteira brasileira, este  
96 trabalho teve como objetivo isolar bactérias ácido lácticas, a partir de amostras de leite de  
97 ovelha cru e de produtos lácteos ovinos da região da Serra Gaúcha, e caracterizar essa  
98 microbiota com enfoque nas atividades antimicrobiana, proteolítica e lipolítica.

99

## 100 **MATERIAIS E MÉTODOS**

### 101 **Obtenção das amostras**

102 As amostras foram obtidas de um laticínio localizado na Serra Gaúcha, Sul do Brasil,  
103 especializado no beneficiamento de derivados de leite ovino, bem como dos quatro

104 produtores que fornecem leite ao laticínio. Foram coletados leite cru refrigerado com 6,5%  
105 de gordura, leite pasteurizado a 72-75°C/15-20s e creme de leite pasteurizado. Foi utilizada  
106 ainda manteiga de leite ovino com 1,5% de sal, produzida no Laboratório de Processamento  
107 de Alimentos da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), Campus Itaqui-RS. As  
108 amostras de leite cru foram coletadas no tanque de refrigeração do laticínio e nos quatro  
109 propriedades leiteiras, identificando-as com os números de 1 a 4 por propriedade. No  
110 momento da coleta das amostras de leite cru nas propriedades, foi verificado se os  
111 produtores seguiam boas práticas de ordenha (ROSA *et al.*, 2009), com procedimentos de  
112 *pré-dipping* e secagem posterior dos tetos, descarte dos primeiros jatos antes da ordenha  
113 e o *pós-dipping*. As amostras de leite e creme de leite pasteurizados foram coletadas na  
114 saída do pasteurizador. A manteiga foi coletada imediatamente após o beneficiamento.  
115 Todas as amostras foram acondicionadas em embalagens estéreis, enviadas em condições  
116 de refrigeração para o Laboratório de Biologia, da UNIPAMPA, Campus Itaqui, em até sete  
117 horas após a coleta, totalizando 14 amostras.

118

### 119 **Isolamento das bactérias ácido lácticas**

120 Foram utilizados 25 mL ou 25 g de cada amostra e preparada a diluição inicial em  
121 225mL de água peptonada 0,1%, homogeneizando-se em equipamento tipo *Stomacher*.  
122 Foi efetuada a diluição inicial, ao menos, em duplicata. As diluições seriadas foram feitas  
123 até  $10^{-6}$  e foram inoculados 100  $\mu$ L de cada diluição em Ágar Man Rogosa e Sharpe (MRS,  
124 Merck®). A incubação foi feita em jarra de anaerobiose contendo gerador de anaerobiose,  
125 numa estufa bacteriológica a  $37\pm 1^\circ\text{C}$ , por 48 a 72 horas (APHA, 2004). Após este período,  
126 foi feita a quantificação das colônias presentes nas placas.

127 As colônias com crescimento em Ágar MRS foram transferidas por estriamento para  
128 placas de ágar MRS e, posteriormente, foram realizados testes de catalase e de coloração  
129 de Gram. O teste de catalase foi feito em lâmina, com adição de uma gota de solução de

130 peróxido de hidrogênio 3% a cada uma das colônias coletadas, sendo considerado positivo  
131 pela elevação de bolhas/efervescência (SILVA *et al.*, 2007). A coloração de Gram foi feita  
132 sob esfregaço em lâmina, conforme procedimento padronizado (BRASIL, 2003; BRUNO  
133 2014). Foram observados em microscópio a morfologia e o arranjo dos cocos ou bacilos  
134 Gram-positivos. As BAL isoladas e selecionadas nesta triagem inicial foram transferidas  
135 para Ágar MRS e campo (Apêndice A), e submetidas aos testes para verificar o perfil  
136 fermentativo e as atividades proteolítica, lipolítica e antimicrobiana.

137

### 138 **Perfil Fermentativo**

139 Foi avaliado o perfil fermentativo dos isolados, a fim de determinar a capacidade da  
140 produção de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) a partir da utilização de glicose. Os isolados foram  
141 cultivados em meio MRS a 36°C por 24 horas e, posteriormente, repicados para caldo MRS  
142 (Merck®) suplementado com 3% de glicose (10% v/v), em tubos de ensaio contendo tubo  
143 de Durhan invertido, incubado a 36 °C pelo período de 48 horas (LIMA *et al.*, 2009). Os  
144 isolados que foram constatados produção de dióxido de carbono na forma de gás com  
145 turbidez no meio, foram classificados como heterofermentativos, e aqueles isolados que  
146 apresentaram somente uma turvação devido a presença de ácido láctico, são classificados  
147 com homofermentativos. O teste foi realizado em duplicata.

148

### 149 **Atividades proteolítica e lipolítica**

150 A atividade proteolítica dos isolados foi avaliada em Ágar Leite formulado, com  
151 posterior incubação dos meios a 28 °C, por 24 a 48 horas. Este meio foi suplementado com  
152 10% de leite em pó desnatado (Molico, Nestlé®) (BRASIL, 2003; NESPOLO; BRANDELLI,  
153 2010; TEBALDI *et al.*, 2008). A atividade lipolítica foi avaliada utilizando-se o ágar Tributirina  
154 (Biolog®), com incubação a 28 °C, por cinco dias. A interpretação dos resultados positivos,  
155 em ambos os testes, foi por meio de formação de halos transparentes ao redor das colônias

156 (NESPOLO; BRANDELLI, 2010; TEBALDI *et al.*, 2008), podendo ser visualizados no  
157 Apêndice B.

158

### 159 **Atividade antimicrobiana**

160 A atividade antimicrobiana dos isolados foi avaliada através do método de difusão  
161 em ágar (BISCOLA *et al.*, 2013). Os isolados foram cultivados em caldo MRS, a 37 °C, por  
162 18 horas e, em seguida, 5 µL do cultivo foi adicionado sobre Agar Brain Heart Infusion (BHI,  
163 Himedia®) previamente inoculado com os microrganismos indicadores na concentração de  
164 5 logUFC/mL. Foram utilizados como microrganismos indicadores *Listeria monocytogenes*  
165 ATCC 7644, *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 43895 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.  
166 As placas de Petri foram incubadas a 37 °C por 18 horas. Após esse período, as placas  
167 foram analisadas quanto à presença/ausência de halos de inibição e o diâmetro dos  
168 mesmos quantificados. O ensaio foi realizado em triplicata.

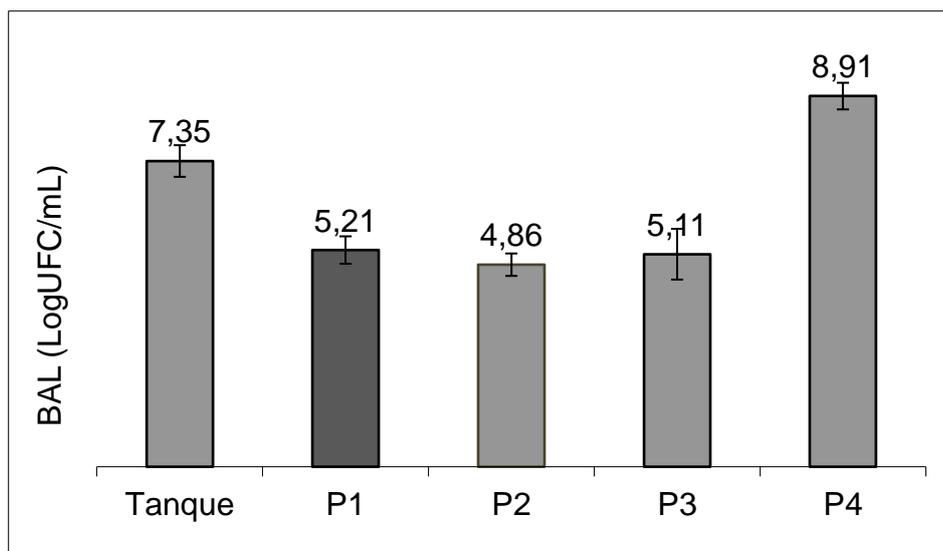
169

### 170 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

171 As contagens médias de BAL para o leite ovino cru no tanque de armazenamento  
172 refrigerado do laticínio e entre os produtores de leite ovino podem ser visualizadas na Figura  
173 1. Observou-se que, após 72 horas de crescimento, o leite do tanque apresentou contagem  
174 de BAL de  $7,35 \pm 0,11$  logUFC/mL, enquanto a média para os quatro produtores foi de  
175  $6,50 \pm 1,56$  logUFC/mL. Estes valores foram maiores do que obtidos em leite ovino cru,  
176 produzido na região metropolitana de Porto Alegre-RS, com valores de  $5,65 \pm 0,53$   
177 logUFC/mL (NESPOLO; BRANDELLI, 2010). Em estudo realizado na Tunísia, com leite  
178 bovino e de camelo, os valores médios foram da ordem de 2 logUFC/mL (ZEINEB *et al.*,  
179 2013). Já em leite de cabra produzido na região Centro-Oeste do Brasil, em 52,5% (n=21)  
180 das amostras não houve contagem de BAL, e os valores mais altos encontrados foram de  
181 3 a 4 logUFC/mL, quantificados em apenas 7,5% (n=3) das amostras (PÁDUA, 2013). As

182 contagens de BAL podem ser afetadas, dentre outros fatores, pelo tratamento do rebanho  
183 com antimicrobianos. Neste caso, devem ser observados os períodos de carência para  
184 evitar o resíduo de antimicrobianos, o que poderia afetar a microbiota do leite e inibir a  
185 presença das bactérias ácido lácticas durante a maturação do queijo, além de causar  
186 alergias a consumidores (YAMAKI *et al.*, 2004).

187



188

189 Figura 1 – Contagem de bactérias ácido lácticas por propriedade e tanque do laticínio de  
190 leite ovino cru da Serra Gaúcha (2016).

191

192 Na Figura 1, é possível observar o crescimento de BAL no leite coletado em cada  
193 uma das propriedades leiteiras que abastecem o laticínio, com destaque à contagem do  
194 leite cru da propriedade 4, com  $8,91 \pm 0,05$  logUFC/mL. Segundo observado na coleta do  
195 leite cru, a propriedade leiteira 4 era a única onde se realizava o procedimento de pré-  
196 *dipping* e pós-*dipping*, com o uso de espuma de ácido láctico e gel de iodo,  
197 respectivamente. Os demais produtores realizavam apenas uma, ou nenhuma destas  
198 etapas. Estes procedimentos levam a uma menor contaminação por microrganismos  
199 patogênicos, sendo considerados como preventivos da mastite ambiental (ROSA *et al.*,  
200 2009). A prevalência de mastite subclínica em pequenos ruminantes pode variar de 5 a

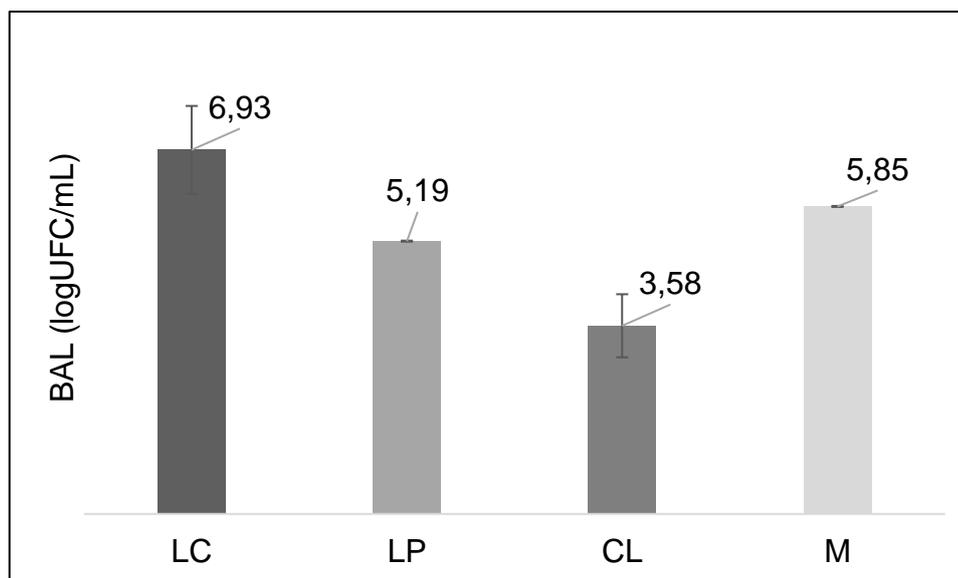
201 30%, mas de mastite clínica é menor que 5%. Vários agentes podem causar a mastite, com  
202 *Staphylococcus* spp. o mais frequentemente diagnosticado em ovelhas e cabras, além de  
203 *Streptococcus* spp., *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus fumigatus*,  
204 *Serratia marcescens*, dentre outros (CONTRERAS *et al.*, 2007). A sanidade do leite de  
205 ovelha é muito importante, pois garante a segurança do consumidor e as características  
206 adequadas ao derivado (RAYNAL-LJUTOVAC *et al.*, 2007), sendo que os microrganismos  
207 patogênicos contaminantes do leite cru podem ter origem fecal ou por excreção direta  
208 através do úbere (JAY, 2005).

209 A contaminação elevada do leite por microrganismos indesejados influencia  
210 negativamente o crescimento das bactérias desejadas, como as ácido lácticas, no processo  
211 de maturação dos queijos, já que haverá competição pelos nutrientes (RAYNAL-  
212 LJUTOVAC *et al.*, 2007). Desta forma, uma maior contagem de BAL nas matérias-primas  
213 poderia estar inversamente relacionada à presença de microrganismos contaminantes  
214 nestas.

215 Uma maior contagem de BAL próprias da matéria-prima leite cru pode indicar,  
216 portanto, uma menor contaminação por microrganismos contaminantes (JAY, 2005) ou que  
217 os animais não se encontram em tratamento para mastite (YAMAKI *et al.*, 2004),  
218 relacionando com maior sanidade dos rebanhos avaliados, especialmente o do produtor 4.

219 A contagem de BAL por alimento lácteo ovino processado pode ser visualizado na  
220 Figura 2.

221



222  
223 Figura 2 – Contagem de bactérias ácido lácticas em leite cru (LC), leite pasteurizado (LP),  
224 creme de leite pasteurizado (CL) e manteiga com sal (M) provenientes da Serra Gaúcha  
225 (2016).

226  
227 Pode-se observar que a manteiga (n=4) apresentou uma contagem de BAL de  
228  $5,85 \pm 0,01$  logUFC/mL, superior à do creme de leite (n=8) com  $3,58 \pm 0,60$  logUFC/mL, o qual  
229 é a matéria-prima para este produto. No processamento da manteiga, ocorre uma etapa de  
230 separação da fase líquida do creme de leite, denominada leitelho (SILVA, 2016), fato que  
231 pode explicar a maior contagem de BAL neste produto. Já no leite pasteurizado (n=3), o  
232 valor médio de BAL foi de  $5,19 \pm 0,01$  logUFC/mL, inferior ao valor para leite cru ( $6,93 \pm 0,84$   
233 logUFC/mL), possivelmente devido ao processo térmico envolvido que provoca destruição  
234 parcial de microrganismos (JAY, 2005). A ausência do tratamento térmico é permitida para  
235 o leite que se destine à elaboração dos queijos submetidos a um processo de maturação  
236 durante um tempo não inferior a 60 dias, a uma temperatura superior aos 5°C (BRASIL,  
237 1996). No laticínio avaliado, o leite utilizado sempre passa pelo processo de pasteurização  
238 prévio ao processamento de derivados.

239 A partir das placas de contagens de colônias em MRS, obtidas das amostras de  
240 leite cru e produtos lácteos ovinos, foram selecionados 253 isolados. A coloração de Gram

241 e teste de catalase indicaram 37 isolados Gram positivos e catalase negativos. Observou-  
242 se que 78,38% (n=29) dos isolados foram cocos, na observação de Gram ao microscópio.  
243 Estes resultados podem ser relacionados a uma maior prevalência de gêneros como  
244 *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* e *Leuconostoc* (BRUNO, 2011)  
245 nos isolados de lácteos ovinos da Serra Gaúcha. Já em amostras de BAL obtidas da  
246 manteiga tradicionalmente consumida na Argélia (n=76), 52,34% dos isolados foram bacilos  
247 e 47,66% foram cocos (BETTACHE *et al.*, 2012).

248 Com o intuito de caracterização dos isolados (n=37), foi avaliado também o perfil  
249 fermentativo. Foi possível verificar o perfil fermentativo em apenas 23 dos isolados de BAL,  
250 porque para alguns isolados não houve crescimento em caldo MRS suplementado com 3%  
251 de glicose. Observou-se que 86,96% (n=20) foram do tipo homofermentativo e 13,04%  
252 (n=3) do tipo heterofermentativo, com o maior número de isolados obtidos a partir do leite  
253 cru refrigerado. As BAL podem ser divididas em dois grupos, com base nos produtos finais  
254 do metabolismo da glicose, em homofermentativos e heterofermentativos. O grupo  
255 homofermentativo produz ácido lático como único ou principal produto da fermentação da  
256 glicose, enquanto o grupo das heterofermentativos são as que produzem a mesma  
257 quantidade molar de lactato, dióxido de carbono e etanol a partir das hexoses (LOPES,  
258 2008). Estas últimas produzem uma série de substâncias antimicrobianas, incluindo ácido  
259 lático, peróxido de hidrogênio, diacetil e outros ácidos orgânicos (FURTADO, 2010). A  
260 prevalência de perfil homofermentativo em isolados de BAL obtidos de produtos lácteos  
261 também foi observado em outros trabalhos. Em amostras de queijo mussarela fatiado,  
262 foram verificados que 91,04% (n=61) eram homofermentativos (SEHN, 2015). Em amostras  
263 de leite e queijos artesanais da região Noroeste do Rio Grande do Sul, obteve 21 isolados  
264 de BAL e todos foram classificados como homofermentativos (HERMANNNS, 2013). Devido  
265 um maior número de BAL são utilizadas na indústria de alimentos são homofermentativas

266 para beneficiamento de produtos fermentados, com vantagens em relação à textura e às  
 267 características sensoriais dos derivados lácteos fabricados (SENH 2015; D´SOUZA, 2002).

268 A Tabela 1 demonstra a seleção de isolados de BAL nos produtos lácteos de origem  
 269 ovina, em cada uma das etapas de isolamento.

270  
 271 Tabela 1 – Número de isolados de bactérias ácido lácticas em cada etapa de isolamento, a  
 272 partir de produtos lácteos ovinos da Serra Gaúcha (2016).

| Etapa de Isolamento                           | Número de isolados obtidos<br>por amostra láctea ovina* |    |    |    |     |
|---|---|----|----|----|-----|
|   | Total   | LP | CL | M  | LC  |
| Crescimento em Ágar Man Rogosa e Sharpe       | 253   | 5  | 38 | 14 | 196 |
| Teste da Catalase (Catalase Negativa)         | 210   | 5  | 38 | 8  | 159 |
| Coloração de Gram (Gram Positiva)             | 37  | 2  | 4  | 1  | 30  |
| Atividade Proteolítica (Presença de halo)     | 18  | 2  | 3  | 0  | 13  |
| Atividade Lipolítica (Presença de halo)       | 5   | 2  | 0  | 0  | 3   |
| Atividade Antimicrobiana** (Presença de halo) | 1   | 0  | 0  | 0  | 1   |

273 \*LP: leite pasteurizado; CL: creme de leite; M: manteiga; LC: leite cru; \*\*Atividade contra  
 274 *Listeria monocytogenes* ATCC 7644.

275  
 276 Entre as 253 colônias isoladas, 37 demonstraram características das bactérias ácido  
 277 lácticas e leite cru foi a fonte para seleção do maior número de isolados, com 30 destes  
 278 isolados. Este fato é esperado, em função da coleta de um maior número de amostras desta  
 279 matéria-prima (n=10) e da mesma não passar por pasteurização como as demais.

280 Um estudo realizado na Tunísia obteve 137 isolados a partir de leite de camelo e 214  
 281 de leite bovino, destes, 50 isolados com características de Gram positivo e catalase  
 282 negativa (ZEINEB *et al.*, 2013). Já o estudo realizado em Viamão-RS, a partir de amostras

283 de leite ovino cru e queijo de ovelha, foram isoladas 112 colônias, destas 59 catalase  
284 negativa e Gram positivas (NESPOLO; BRANDELLI, 2010).

285 Nas etapas iniciais, de crescimento em Ágar MRS, teste da catalase e coloração de Gram,  
286 o percentual de positivas para BAL foi de 14,62% nas amostras de origem ovina da Serra  
287 Gaúcha.

288 Na Tabela 1, é possível verificar as atividades proteolítica, lipolítica e  
289 antimicrobiana dos 37 isolados selecionados, sendo que esta última atividade foi observada  
290 contra apenas um dos microrganismos indicadores testados (*Listeria monocytogenes*  
291 ATCC 7644). O leite cru foi a fonte da maior parte dos isolados, com 13 BAL com atividade  
292 proteolítica, três com atividade lipolítica e o isolado com atividade antimicrobiana. No creme  
293 de leite, foram encontrados três isolados e, no leite pasteurizado, dois isolados com  
294 atividade proteolítica. Em estudo que avaliou leite e queijo ovinos coletados na região de  
295 Porto Alegre-RS, foram encontrados doze isolados de BAL com atividades proteolíticas,  
296 lipolíticas e antimicrobiana (NESPOLO; BRANDELLI, 2010). Em isolamento de BAL de  
297 amostras lácteas tradicionais da Argélia, foram encontrados 3,95% (n=3) com atividade  
298 proteolítica e 2,63% (n=2) com atividade lipolítica (BETTACHE et al., 2012), enquanto no  
299 leites fermentados e queijos não se observou nenhum isolado com atividade lipolítica  
300 (MECHAI et al., 2014). Considerando-se os valores da triagem inicial de BAL no presente  
301 estudo (n=37), 48,65% (n=18) apresentaram atividade proteolítica, 13,51% (n=5) lipolítica,  
302 10,81% ambas proteolítica e lipolítica (n=4) e 2,70% (n=1) antimicrobiana.

303 A importância das atividades proteolítica e lipolítica está vinculada a processos  
304 bioquímicos que ocorrem durante a maturação dos queijos. A proteólise é considerada  
305 como um processo essencial em todos os tipos de queijos com maturação interna e  
306 superficial, sendo que os principais agentes responsáveis são as enzimas, como a plasmina  
307 ou as provenientes do coagulante, ou as enzimas proteolíticas de bactérias *starter* ou de  
308 inóculos secundários (TRUJILLO et al., 2000; PEREIRA et al., 2008). Os agentes

309 proteolíticos atuam de forma combinada para hidrolisar caseína a peptídeos e aminoácidos  
310 (TRUJILLO *et al.*, 2000), podendo ser quantificado pelos índices de extensão e de  
311 profundidade da maturação (PEREIRA *et al.*, 2008). A profundidade da maturação tem  
312 relação com a proteólise secundária, proveniente da microbiota nativa do leite ou de  
313 culturas adicionadas durante a produção do queijo, como observado para BAL  
314 homofermentativa *Lactobacillus*, presente em culturas *starter* (MADRAU *et al.*, 2006). Em  
315 um estudo com leites fermentados e queijos tradicionais produzido na Argélia, observou-se  
316 que dois isolados do gênero *Lactococcus* foram os que apresentaram maior atividade  
317 proteolítica (MECHAI *et al.*, 2014). Já a lipólise, é um processo crítico em algumas  
318 variedades de queijos, por promover o abrandamento da massa e tornar a textura mais  
319 macia, como nos queijos azul, o italiano de massa dura e o tipo Suíço (TRUJILLO *et al.*,  
320 2000). Assim, a seleção de BAL com ambas as atividades pode ser de interesse para o  
321 desenvolvimento de culturas *starter* para queijos de leite ovino regionais.

322 A presença de um isolado com atividade antimicrobiana frente à *Listeria*  
323 *monocytogenes* ATCC 7644 (Tabela 1) sinaliza a possibilidade de estudo aprofundado  
324 deste isolado para aplicação em alimentos. A capacidade de inibir a presença desta  
325 bactéria também foi observada para um isolado a partir de queijo mussarela fatiado,  
326 identificado como *Lactobacillus curvatus* (SEHN, 2015). Amostras de leites fermentados e  
327 queijos tradicionais da Argélia apresentaram 25% (n=52) dos isolados de BAL com  
328 atividade *anti-Listeria monocytogenes* (MECHAI *et al.*, 2014), enquanto o isolamento em  
329 manteigas do mesmo local identificou BAL com atividade contra *Listeria innocua*  
330 (BETTACHE *et al.*, 2012). Um estudo testou a utilização de culturas *starter* com atividades  
331 proteolítica, lipolítica e *anti-Listeria monocytogenes* ATCC 7644, isoladas a partir de leite  
332 ovino cru, e observou-se um efeito benéfico na diminuição da microbiota indesejada em  
333 queijos ovinos de leite cru maturados por mais de 60 dias (NESPOLO *et al.*, 2010). Apesar  
334 de haver baixa incidência desta bactéria causando mastite clínica em ovelhas, a presença

335 da *Listeria monocytogenes* em leite ovino cru já foi relatada (CONTRERAS *et al.*, 2007),  
336 bem como sua relação com contaminação em derivados lácteos (JAY, 2005). A verificação  
337 da presença deste microrganismo patogênico é exigida pela legislação brasileira em queijos  
338 com umidade acima de 36% (BRASIL, 1996), porque apesar da listeriose ser uma doença  
339 de baixa incidência, representa importante risco à saúde pública, pelo grau de severidade  
340 e alto índice de mortalidade (CRUZ *et al.*, 2008). Estes dados demonstram a importância  
341 deste patógeno para a indústria de laticínios e a viabilidade de testar a aplicação deste  
342 isolado em um derivado.

343 A Tabela 2 apresenta a quantificação dos halos de atividade para cada um dos  
344 isolados obtidos. Do total de 37 BAL isoladas do leite cru, leite pasteurizado, creme de leite  
345 pasteurizado e manteiga, somente 51,35% BAL (n=19) tiveram algum tipo de atividade  
346 proteolítica, lipolítica e/ou antimicrobiana contra *Listeria monocytogenes* ATCC 7644. Os  
347 halos de atividade proteolítica variaram entre 1,5 e 23 mm, representado 48,65% (n=18), já  
348 na atividade lipolítica, a variação foi de 1 a 23 mm com um percentual de 13,51% (n=5),  
349 dos isolados de BAL. Em leite fermentado espontaneamente, produzido em Gana partir de  
350 leite bovino, foram isoladas 373 BAL, obtendo-se um percentual de atividade proteolítica de  
351 80% e de 76,41% de atividade lipolítica (AKABANDA *et al.*, 2014). Em Viamão-RS, 112 BAL  
352 foram isoladas de amostras de leite ovino e derivados, destas 51% (n=30) com atividade  
353 proteolítica e 32% (n=19) com atividade lipolítica (NESPOLO; BRANDELLI, 2010). Dentre  
354 as BAL obtidas no presente estudo com ambas as atividades proteolítica e lipolítica,  
355 destacam-se a BAL LSE 05\_21, obtida do leite cru da propriedade 4, e a BAL LSE 01\_1  
356 isolada do leite pasteurizado, ambas com as duas atividades com halos médios acima de  
357 10 mm e com morfologia de cocos. A maior parte dos isolados apresentou perfil proteolítico  
358 e lipolítico, o que demonstra possibilidade de utilização no beneficiamento de queijos que  
359 passem por processos de proteólise e lipólise durante a maturação.

360

361 Tabela 2 – Quantificação das atividades proteolítica, lipolítica e antimicrobiana nos isolados  
 362 de bactérias ácido lácticas da Serra Gaúcha (2016).

| Fonte de Isolamento | Isolado   | Zona de atividade (mm)* |           |           |
|---------------------|-----------|-------------------------|-----------|-----------|
|                     |           | AP                      | AL        | AA        |
| Leite Cru           | LSE 01_15 | 23,7±3,20               | -         | -         |
| Leite Cru           | LSE 01_17 | 8,60±2,80               | -         | -         |
| Leite Cru           | LSE 01_18 | 22,6±1,00               | -         | -         |
| Leite Cru           | LSE 01_22 | 12,1±6,70               | -         | -         |
| Leite Cru           | LSE 01_23 | 22,6±1,10               | -         | -         |
| Leite Cru           | LSE 01_29 | 17,3±0,50               | -         | -         |
| Leite Cru           | LSE 01_30 | 17,4±3,60               | -         | -         |
| Leite Cru           | LSE 05_21 | 16,6±0,50               | 14,1±3,40 | -         |
| Leite Cru           | LSE 07_21 | 17,8±8,00               | -         | -         |
| Leite Cru           | LSE 07_24 | 14,0±6,20               | -         | -         |
| Leite Cru           | LSE 08_15 | 18,0±1,20               | -         | -         |
| Leite Cru           | LSE 08_23 | 23,3±4,30               | 8,30±1,80 | 13,2±0,90 |
| Leite Cru           | LSE 08_5  | 17,2±0,40               | 7,30±1,30 | -         |
| Pasteurizado        | LSE 01_3  | -                       | 15,4±2,60 | -         |
| Pasteurizado        | LSE 01_5  | 14,2±2,20               | -         | -         |
| Pasteurizado        | LSE 01_1  | 16,5±1,20               | 12,1±2,10 | -         |
| Creme de Leite      | LSE 06_28 | 1,70±0,50               | -         | -         |
| Creme de Leite      | LSE 06_27 | 1,50±0,50               | -         | -         |
| Creme de Leite      | LSE 06_18 | 3,00±0,00               | -         | -         |

363 \*AP (Atividade Proteolítica) – AL (Atividade Lipolítica) – AA (Atividade Antimicrobiana)

364

365 Somente a BAL LSE 08\_23 apresentou atividade antimicrobiana contra *Listeria*  
366 *monocytogenes* ATCC 7644, com tamanho médio do halo de 13,2mm, além das ações  
367 lipolítica e proteolítica. Esta BAL foi isolada do leite de ovelhas do produtor 4, que  
368 apresentou maior contagem inicial para estas bactérias, salientando a importância do  
369 manejo adequado do rebanho ovino para manutenção da microbiota desejada no leite cru.  
370 Este isolado foi caracterizado como um coco e apresentou perfil homofermentativo. A zona  
371 de inibição contra *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, gerada por BAL de produtos lácteos  
372 ovinos de Viamão-RS, variou de 6,5 a 10,5mm (NESPOLO; BRANDELLI, 2010). Em um  
373 trabalho em Gana, com leite bovino fermentado espontaneamente, foram isoladas 373  
374 BAL e para 56 isolados foi observado algum halo de inibição contra *Listeria monocytogenes*,  
375 metade destes com halos de 1 a 4 cm (AKABANDA *et al.*, 2014). A BAL LSE 08\_23 foi  
376 caracterizada como Gram-positiva, tipo cocos, com perfil fermentativo homofermentativo,  
377 que pode ter potencial para conservação de alimentos e/ou produção de derivados lácteos  
378 ovinos. No entanto, mais estudos são necessários para verificar a viabilidade e a eficiência  
379 deste isolado durante do processamento do produto alimentício, bem como durante sua  
380 vida de prateleira.

381

## 382 **CONCLUSÃO**

383 O leite de ovelha cru foi a fonte do maior número de isolados de BAL e que  
384 apresentaram atividades lipolítica e proteolítica, especialmente o coletado na propriedade  
385 4. A BAL LSE 08\_23, um coco com perfil homofermentativo, teve destaque por possuir  
386 conjuntamente as atividades proteolítica, lipolítica e anti-*Listeria monocytogenes* ATCC  
387 7644. Desta forma, as amostras lácteas ovinas da Serra Gaúcha mostraram-se como fontes  
388 viáveis para isolamento de bactérias ácido lácticas com potencial para pesquisa e  
389 desenvolvimento de culturas iniciadoras de derivados lácteos fermentados.

390

391 **REFERÊNCIAS**

392 AKABANDA, F., OWUSU-KWARTENG, J., TANO-DEBRAH, K., PARKOUDA, C.;  
393 JESPERSEN, L. The Use of Lactic Acid Bacteria Starter Culture in the Production of Nunu,  
394 a Spontaneously Fermented Milk Product in Ghana. **International Journal of Food**  
395 **Science**, Ghana, v.2014, n.11, 2014. Disponível em:  
396 <<https://www.hindawi.com/journals/ijfs/2014/721067/>>. Acesso em: 10 novembro 2014.

397  
398 APHA. American Public Health Association. Standard methods for the microbiological  
399 examination of foods. Washington: **American Public Health Association**, 2004.

400  
401 ARCOOVINOS, Ovinocultura leiteira será estimulada no RS. **Associação brasileira**  
402 **criadores de ovelha**, 2014. Disponível em: <<http://www.arcoovinos.com.br/sitenew/index.a>  
403 [sp?pag=1&codi=751](http://www.arcoovinos.com.br/sitenew/index.asp?pag=1&codi=751)>. Acesso em: 24 ago. 2016

404  
405 BISCOLA, V.; TODOROV, S. D.; CAPUANO, V. S. C.; ABRIOUEL, H.; GÁLVEZ, A.;  
406 FRANCO, B. D. G. M. Isolation and characterization of a nisin-like bacteriocin produced by  
407 a *Lactococcus lactis* strain isolated from charqui, a Brazilian fermented, salted and dried  
408 meat product. **US National Library of Medicine National Institutes of Health**, São Paulo,  
409 v. 93, n.3, p.607–613, 2013.

410  
411 BRASIL, Caprinos e Ovinos. **Ministério da Agricultura e Pecuária e Abastecimento**.  
412 Brasília, DF. Disponível em:< <http://www.agricultura.gov.br/animal/>  
413 [especies/caprinos-e---ovinos](http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/caprinos-e---ovinos)>. Acesso em: 24 agosto 2016.

414  
415 BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº.**  
416 **62**, de 26 de agosto de 2003. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas

417 para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. D Diário Oficial da República  
418 Federativa do Brasil, Brasília, 18/09/2003.

419

420 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Portaria Nº. 146**, de 07 de  
421 março de 1996. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos.  
422 Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 11/03/1996. p. 3977.

423

424 BETTACHE, G., FATMA, A., MILOUD, H., MEBROUK, K. Isolation and Identification of  
425 Lactic Acid Bacteria from Dhan, a Traditional Butter and Their Major Technological Traits.  
426 **World Applied Sciences Journal**, Oran, v 17, n.9 p. 480-488, 2012.

427 BRITO, M. A.; GONZÁLEZ, F. D.; RIBEIRO, L.A.; CAMPOS, R.; LACERDA, L.;  
428 BARBOSA, P. R.; BERGMANN, G., Composição do sangue e do leite em ovinos leiteiros  
429 do sul do Brasil: variações na gestação e na lactação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36,  
430 n.7, p.942-948, 2006.

431

432 BRUNO, L.M. **Manual de Curadores de Germoplasma – Micro-organismos: Bactérias**  
433 **Ácido-Lácticas**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2011. 15p.

434

435 BRUNO, L.M.; CARVALHO, J.D.C. **Microbiota láctica de queijos artesanais**. Fortaleza:  
436 Embrapa Agroindústria Tropical, 2009.

437

438 CALLEFE, J.L.R.; LANGONI, H. Qualidade do leite: uma meta a ser atingida, **Veterinária e**  
439 **Zootecnia**, Botucatu, v.22, n.2, p.151-162, 2015.

440

441 CONTRERAS, A.; SIERRA, D.; SÁNCHEZ, A.; CORRALES, J. C.; MARCO, J. C.; PAAPE,  
442 M.J.; GONZALO, C. Mastitis in small ruminants. **Small Ruminant Research**, London, v. 68,  
443 n.8, p. 145-153, 2007.

444  
445 CRUZ, C. D.; MARTINEZ, M.B., DESTRO, M. T. *Listeria monocytogenes*: um agente  
446 infeccioso ainda pouco conhecido no Brasil. Departamento de Alimentos e Nutrição  
447 Experimental, Araraquara, v19, n.2, p. 195-206, 2008. Disponível em: < [http://serv-](http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/download/247/241)  
448 [bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/download/247/241](http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/download/247/241) > Acesso em: 10  
449 novembro de 2016.

450  
451 D'SOUZA A. L.; RAJKUMAR, C.; COOKE, J.; BULPITT, C. J. Probiotics in prevention of  
452 antibiotic associated diarrhea: meta-analysis. **British Medical Journal**, London, v. 324, n.  
453 6, 2002. Disponível em: <<http://www.bmj.com/content/bmj/324/7350/1361.full.pdf>>. Acesso  
454 em: 20 agosto de 2016.

455  
456 FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization  
457 (FAO/WHO). **Importance, technology and economics of traditional milk products. i**  
458 **milk as a raw material animal species and milk composition**, 1989, Disponível em:  
459 <<http://www.fao.org/docrep/003/t0251e/T0251E01.htm>>. Acesso em: 30 de agosto 2016.

460  
461 FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization  
462 (FAO/WHO). **Milk composition, 2016**. Disponível em:<[http://www.fao.org/agriculture/dairy-](http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/milk-and-milk-products/milk-ccomposition/en/#.V8WkvVQrLIU)  
463 [gateway/milk-and-milk-products/milk-ccomposition/en/#.V8WkvVQrLIU](http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/milk-and-milk-products/milk-ccomposition/en/#.V8WkvVQrLIU)>. Acesso em: 30 de  
464 agosto 2016.

465

- 466 FAOSTAT. **Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health**  
467 **Organization (FAO/WHO), 2013.** Disponível em:<<http://faostat3.fao.org/browse/Q/QL/E.>>  
468 Acesso em: 24 de agosto 2016.  
469
- 470 FURTADO, D.N. **Isolamento de bactérias lácticas produtoras de bacteriocinas e sua**  
471 **aplicação no controle de *Listeria monocytogenes* em queijo fresco de leite de cabra.**  
472 2010. 92 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Ciências  
473 Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.  
474
- 475 HENG, N.C.K.; WESCOMBRE, P.A.; BURTON, J.P.; JACK, R.W.; TAGG, J.R. The diversity  
476 of bacteriocins in Gram positive bacteria. In: RILEY, M.A.; CHAVAN, M.A. **Bacteriocins:**  
477 **ecology and evolution.** Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2007. p. 45-83.  
478
- 479 HERMANNNS, G. **Potencial bacteriocinogênico e probiótico de bactérias ácido lácticas**  
480 **isoladas de leite e queijos artesanais.** 2013. 100 f. Tese (Doutorado em Ciência e  
481 Tecnologia dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.  
482
- 483 JAY, J.M. **Microbiologia de Alimentos.** 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- 484 LEROY, F.; VUYST, L. D. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food  
485 fermentation industry. **Trends in Food Science & Technology**, Brussels, v.15, n.15, p. 67–  
486 78, 2004.  
487
- 488 LIMA, C.D.L.C.; LIMA, L. A.; CERQUEIRA, M.M.O.P.; FERREIRA, E.G.; ROSA, C. A.  
489 Bactérias do ácido láctico e leveduras associadas com o queijo-de-minas artesanal  
490 produzido na região da Serra do Salitre. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e**  
491 **Zootecnia**, Minas Gerais, v. 61, n. 1, p. 266–272, 2009.

- 492 LOPES, A.R. **Produção de ácido láctico por lactobacilos em diferentes meios de**  
493 **cultivo**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências,  
494 Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2013.
- 495
- 496 KARPIŃSKI, T. M. & ANNA K. SZKARADKIEWICZ, A. K.. Characteristic of Bacteriocines  
497 and their Application. **Polish Journal of Microbiology**, Polish, v.62, n.3, p. 223–235, 2013.
- 498
- 499 MADRAU, M.A.; MANGIA, N.P.; MURGIA, M.A.; SANNA, M.G.; GARAU, G.; LECCIS, L.;
- 500 CAREDDA, M.; DEIANA, P. Employment of autochthonous microflora in Pecorino Sardo  
501 cheese manufacturing and evolution of physicochemical parameters during ripening.  
502 **International Dairy Journal**, Sassari, v.16, p.876-885, 2006.
- 503
- 504 MECHAI, A., DEBABZA, M., KIRANE, D. Screening of technological and probiotic properties  
505 of lactic acid bacteria isolated from Algerian traditional fermented milk products.  
506 **International Food Research Journal**, Annaba, v. 21, p. 2451-2457, 2014.
- 507
- 508 NESPOLO, C.R.; BRANDELLI, A. Characterization of cheeses produced with ovine and  
509 caprine milk and microbiological evaluation of processing areas in the dairy plant in Brazil.  
510 **International Food Research Journal**, Serdang, v.19, n.4, p.1713-1721, 2012.
- 511
- 512 NESPOLO, C.R.; BRANDELLI, A. Production of bacteriocin-like substances by lactic acid  
513 bacteria isolated from regional ovine cheese. **Brazilian Journal of Microbiology**, São  
514 Paulo, v.41, n.4, p.1009-1018, 2010.
- 515

516 NESPOLO, C.R.; CORREA, A.P.F.; RITTER, A.C.; BRANDELLI, A. Comparison of Fascal  
517 cheese produced with natural, commercial or autochthonous cultures. **International**  
518 **Journal of Dairy Technology**, Oxford, v.63, n.3, p.387-395, 2010.

519  
520 PÁDUA, F.S. **Qualidade, segurança microbiológica e enumeração da microbiota lática**  
521 **autóctone do leite de cabra produzido na região centro-oeste**. 2013. 58 f. Dissertação  
522 (Mestrado em Ciências Animais) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária,  
523 Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

524  
525 PEREIRA, C.I.; GOMES, E.O.; GOMES, A.M.P.; MALCATA, F.X. Proteolysis in model  
526 Portuguese cheeses: Effects of rennet and starter culture. **Food Chemistry**, Amsterdam, v.  
527 108, p. 862-868, 2008.

528  
529 RAYNAL-LJUTOVAC, K.; PIRISI, A.; CRÉMOUX, R.; GONZALO, C. Somatic cells of goat  
530 and sheep milk: Analytical, sanitary, productive and technological aspects. **Small Ruminant**  
531 **Research**, London, v. 68, p. 126-144, 2007

532  
533 ROSA, M. S.; COSTA, M. J. R. P.; ANNA, A. C.A.; MADUREIRA, A. P. Boas Práticas de  
534 Manejo Ordenha, **FUNEP**, Jaboticabal, 2009. Disponível em:  
535 <[http://www.agricultura.gov.br/arg\\_editor/file/Aniamal/Bemestar-aanimal/manual\\_ordenha.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arg_editor/file/Aniamal/Bemestar-aanimal/manual_ordenha.pdf)>. Acesso em: 08 de novembro de 2016.

537  
538 SILVA, F.T. Manteiga – **AGEITEC EMBRAPA**, Brasília. Disponível em:  
539 <[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/tecnologia\\_de\\_alimentos/arvore/CONT000girl7f3902wx5ok05vadr1ty2i4zd.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/tecnologia_de_alimentos/arvore/CONT000girl7f3902wx5ok05vadr1ty2i4zd.html)>. Acesso em: 8 de novembro 2016

541

542 SILVA, M.F.C. **Caracterização do leite e do queijo de ovelhas da raça bergamácia**  
543 **suplementadas com óleo ou farelo de linhaça (Linum usitatissimum L.)**. 2014. 71 f.  
544 Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia,  
545 Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2014.

546  
547 SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.D.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS,  
548 R.F.S.D.; GOMES, R.A.R. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**.  
549 3 ed. São Paulo: Livraria Varela, 2007.

550  
551 SANTOS, F. F., **Transações no Sistema Agroindustrial (SAG) do leite de ovelhas no**  
552 **Brasil**, 98 ed., Pirassununga, São Paulo: Departamento de Nutrição e Produção Animal,  
553 2016. Disponível em: <[http://biblioteca.fmvz.usp.br/wp-content/uploads/2016/06/](http://biblioteca.fmvz.usp.br/wp-content/uploads/2016/06/Socioeconomia_Ciencia_Animal_Edicao_098.pdf)  
554 [Socioeconomia\\_Ciencia\\_Animal\\_Edicao\\_098.pdf](http://biblioteca.fmvz.usp.br/wp-content/uploads/2016/06/Socioeconomia_Ciencia_Animal_Edicao_098.pdf)> Acesso em: 30 de agosto 2016.

555  
556 TAFFAREL, L.E.; COSTA, P.B.; TSUTSUMI, C.Y.; KLOSOWOSKI, E.S.; PORTUGAL, E.F.;  
557 LINS, A.C. Variação da composição e qualidade do leite em função do volume de produção,  
558 período do ano e sistema de ordenha e de resfriamento. **Semina: Ciências Agrárias**,  
559 Londrina, v. 36, n. 3, p. 2287-2300, 2015.

560  
561 TEBALDI, V. M. R., BOARI, C. A., PICCOLI, R. H., Isolamento de coliformes, estafilococos  
562 e enterococos de leite cru provenientes de tanques de refrigeração por expansão  
563 comunitários: identificação, ação lipolítica e proteolítica, **Ciência e Tecnologia de**  
564 **Alimentos**, Campinas, v. 29, n.3, p. 753-760, 2008.

565

566 TRUJILLO, A.J.; GUAMIS, B.; LAENCINA, J.; LÓPEZ, M.B. Proteolytic activities of some  
567 milk clotting enzymes on ovine casein. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 71, n.4, p. 449-  
568 457, 2000.

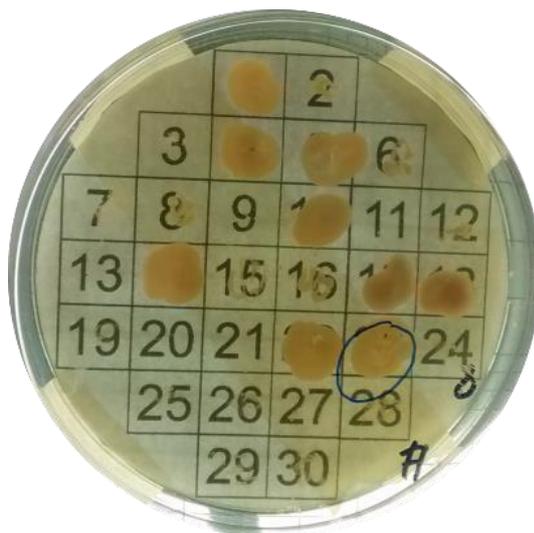
569  
570 VENUGOPAL H., EDWARDS P.J.B., SCHWALBE M., CLARIDGE J.K., LIBICH D.S.,  
571 STEPPER J., LOO T., PATCHETT M.L., NORRIS G.E., PASCAL S.M.. Structural, dynamic,  
572 and chemical characterization of a novel S-glycosylated bacteriocin. **Biochemistry**, New  
573 Haven, v.50, n.14, p. 2748–2755, 2011.

574  
575 VIEIRA, A. P., **Aplicação de bacteriocinas de bactérias lácticas para controle de**  
576 ***Listeria monocytogenes* em queijo Minas Frescal processado pelo método de**  
577 **acidificação direta**. 2011, 106 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Tecnologia de  
578 Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo,  
579 Piracicaba, 2011.

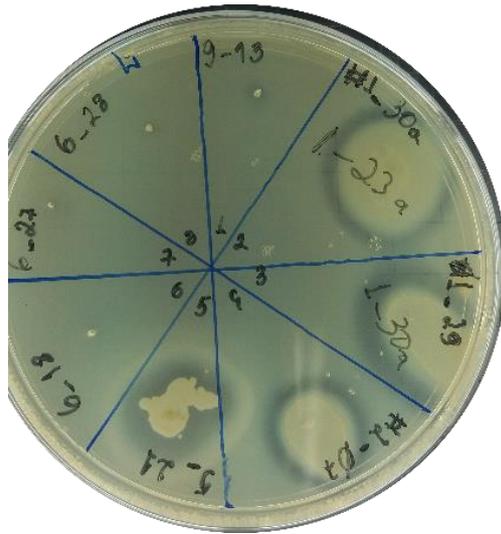
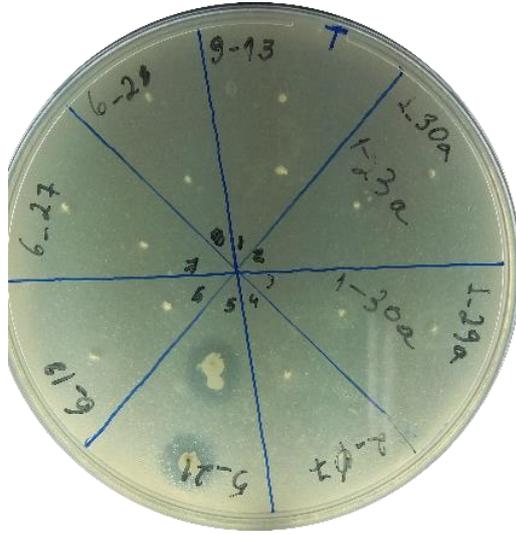
580  
581 YAMAKI, M., BERRUGA, M.I.; ALTHAUS, R.L.; MOLINA, M.P.; MOLINA, A. Occurrence of  
582 Antibiotic Residues in Milk from Manchega Ewe Dairy Farms. **Journal of Dairy Science**,  
583 Savoy, v. 87, n. 10, p. 3132-3137, 2004.

584 ZAPATA, S., MUÑOZ, J., RUIZ, O. S., MONTOYA, O. I., GUTIÉRREZ, P. A.. Isolation of  
585 *Lactobacillus plantarum* LPBM10 and partial characterization of its bacteriocin. **Revista de**  
586 **la Facultad de Química Farmacéutica**, Medellin, v.16, n.1, p. 75-82, 2009.

587  
588 ZEINEB, J., HALIMA, E., IMEN, F. SAMIRA, A., MOUNA, A., TOUHAMI, K. Antibacterial  
589 activity of Lactic acid bacteria isolated from Tunisian camel milk. **African Journal of**  
590 **Microbiology Research**, Nairobi, v. 7, n.12, p. 1002-1008, 2013.

**APÊNDICE A** - Isolamento das bactérias ácido lácticas em campos sobre Ágar MRS.

**APÊNDICE B** - Formação de halos de atividade lipolítica em Ágar Tributirina e Formação de halos de atividade proteolítica em Ágar Leite.



## ANEXO I

### NORMAS PARA SUBMISSÃO

#### 1. CONTEÚDO E CLASSIFICAÇÃO DOS DOCUMENTOS PARA PUBLICAÇÃO

Serão aceitos manuscritos de abrangência nacional e/ou internacional que apresentem novos conceitos ou abordagens experimentais e que não sejam apenas repositórios de dados científicos. Trabalhos que contemplam especificamente metodologias analíticas serão aceitos para publicação desde que elas sejam inovadoras ou proporcionem aperfeiçoamentos significativos de métodos já existentes. Ficarà a critério dos editores, a depender da relevância do tema, a aceitação de trabalhos que tenham resultados da análise de produtos industrializados sem informações que permitam reproduzir a sua obtenção. Não serão aceitos para publicação trabalhos que visam essencialmente à propaganda comercial.

Os documentos publicados no BJFT classificam-se nas seguintes categorias:

1.1. ARTIGOS CIENTÍFICOS ORIGINAIS: São trabalhos que relatam a metodologia, os resultados finais e as conclusões de pesquisas originais, estruturados e documentados de modo que possam ser reproduzidos com margens de erro iguais ou inferiores aos limites indicados pelo autor. O trabalho não pode ter sido previamente publicado, exceto de forma preliminar como nota científica ou resumo de congresso.

1.2. ARTIGOS DE REVISÃO: São extratos inter-relacionados da literatura disponível sobre um tema que se enquadre no escopo da revista e que contenham conclusões sobre o conhecimento disponível. Preferencialmente devem ser baseados em literatura publicada nos últimos cinco anos.

1.3 NOTAS CIENTÍFICAS: São relatos parciais de pesquisas originais que, devido à sua relevância, justificam uma publicação antecipada. Devem seguir o mesmo padrão do Artigo Científico, podendo ser, posteriormente, publicadas de forma completa como Artigo Científico.

1.4. RELATOS DE CASO: São descrições de casos, cujos resultados são tecnicamente relevantes.

1.5. RESENHAS CRÍTICA DE LIVRO: Trata-se de uma análise de um ou mais livros impressos ou online, que apresenta resumo e análise crítica do conteúdo.

1.6. COMENTÁRIOS DE ARTIGOS: Um documento cujo objeto ou foco é outro artigo ou outros artigos.

1.7. COMUNICAÇÕES RÁPIDAS: Atualização de uma pesquisa ou outros itens noticiosos.

Os manuscritos podem ser apresentados em português, inglês ou espanhol.

#### 2. ESTILO E FORMATAÇÃO

## 2.1. FORMATAÇÃO

- Editor de Textos Microsoft WORD 2010 ou superior, não protegido.
- Fonte Arial 12, espaçamento duplo entre linhas. Não formate o texto em múltiplas colunas.
- Página formato A4 (210 x 297 mm), margens de 2 cm.
- Todas as linhas e páginas do manuscrito deverão ser numeradas sequencialmente.
- A itemização de seções e subseções não deve exceder 3 níveis.
- O número de páginas, incluindo Figuras e Tabelas no texto, não deverá ser superior a 20 para Artigos Científicos Originais e de Revisão e a 9 para os demais tipos de documento. Sugerimos que a apresentação e discussão dos resultados seja a mais concisa possível.
- Use frases curtas.

2.2. UNIDADES DE MEDIDAS: Deve ser utilizado o Sistema Internacional de Unidades (SI) e a temperatura deve ser expressa em graus Celsius.

2.3. TABELAS E FIGURAS: Devem ser numeradas em algarismos arábicos na ordem em que são mencionadas no texto. Seus títulos devem estar imediatamente acima das Tabelas e imediatamente abaixo das Figuras e não devem conter unidades. As unidades devem estar, entre parênteses, dentro das Tabelas e nas Figuras. Fotografias devem ser designadas como Figuras. A localização das Tabelas e Figuras no texto deve estar identificada.

As TABELAS devem ser editadas utilizando os recursos próprios do editor de textos WORD para este fim, usando apenas linhas horizontais. Devem ser autoexplicativas e de fácil leitura e compreensão. Notas de rodapé devem ser indicadas por letras minúsculas sobrescritas. Demarcar primeiramente as colunas e depois as linhas e seguir esta mesma sequência para as notas de rodapé.

As FIGURAS devem ser utilizadas, de preferência, para destacar os resultados mais expressivos. Não devem repetir informações contidas em Tabelas. Devem ser apresentadas de forma a permitir uma clara visualização e interpretação do seu conteúdo. As legendas devem ser curtas, auto-explicativas e sem bordas. As Figuras (gráficos e fotos) **devem ser coloridas e em alta definição (300 dpi)**, para que sejam facilmente interpretadas. As fotos devem estar na forma de arquivo JPG ou TIF. As Figuras devem ser enviadas (File upload) em arquivos individuais, **separadas do texto principal**, na submissão do manuscrito. Estes arquivos individuais devem ser nomeados de acordo com o número da figura. Ex.: Fig1.jpg, Fig2.tif etc.

2.4. EQUAÇÕES: As equações devem aparecer em formato editável e apenas no texto, ou seja, não devem ser apresentadas como figura nem devem ser enviadas em arquivo separado.

Recomendamos o uso do MathType ou Editor de Equações, tipo MS Word, para apresentação de equações no texto. Não misture as ferramentas MathType e Editor de Equações na mesma equação, nem tampouco misture estes recursos com inserir símbolos. Também não use MathType ou Editor de Equações para apresentar no texto do manuscrito variáveis simples (ex.,  $a=b^2+c^2$ ), letras gregas e símbolos (ex.,  $\alpha$ ,  $\infty$ ,  $\Delta$ ) ou operações matemáticas (ex.,  $x$ ,  $\pm$ ,  $\geq$ ). Na edição do texto do manuscrito, sempre que possível, use a ferramenta “inserir símbolos”.

Devem ser citadas no texto e numeradas em ordem sequencial e crescente, em algarismos

arábicos entre parênteses, próximo à margem direita.

**2.5. ABREVIATURAS e SIGLAS:** As abreviaturas e siglas, quando estritamente necessárias, devem ser definidas na primeira vez em que forem mencionadas. Não use abreviaturas e siglas não padronizadas, a menos que apareçam mais de 3 vezes no texto. As abreviaturas e siglas não devem aparecer no Título, nem, se possível, no Resumo e Palavras-chave.

## 2.6 NOMENCALTURA:

Reagentes e ingredientes: preferencialmente use o nome internacional não-proprietário (INN), ou seja, o nome genérico oficial.

Nomes de espécies: utilize o nome completo do gênero e espécie, em itálico, no título (se for o caso) e no manuscrito, na primeira menção. Posteriormente, a primeira letra do gênero seguida do nome completo da espécie pode ser usado.

## 3. ESTRUTURA DO ARTIGO

**PÁGINA DE ROSTO:** título, título abreviado, autores/filiação (deverá ser submetido como *Title Page*)

**3.1. TÍTULO:** Deve ser claro, conciso e representativo do assunto tratado. Deve ser escrito em caixa alta e não exceder 150 caracteres, incluindo espaços. O manuscrito em português ou espanhol deve também apresentar o Título em inglês e o manuscrito em inglês deve incluir também o Título em português.

**3.2. TÍTULO ABREVIADO (RUNNING HEAD):** Deve ser escrito em caixa alta e não exceder 50 caracteres, incluindo espaços.

**3.3. AUTORES/FILIAÇÃO:** São considerados autores aqueles com efetiva contribuição intelectual e científica para a realização do trabalho, participando de sua concepção, execução, análise, interpretação ou redação dos resultados, aprovando seu conteúdo final. Havendo interesse dos autores, os demais colaboradores, como, por exemplo, fornecedores de insumos e amostras, aqueles que ajudaram a obter recursos e infraestrutura e patrocinadores, devem ser citados na seção de agradecimentos. O autor de correspondência é responsável pelo trabalho perante a Revista e, deve informar a contribuição de cada coautor para o desenvolvimento do estudo apresentado.

Devem ser fornecidos os nomes completos e por extenso dos autores, seguidos de sua filiação completa (Instituição/Departamento, cidade, estado, país) e endereço eletrônico (e-mail). O autor para correspondência deverá ter seu nome indicado e apresentar endereço completo para postagem.

Para o autor de correspondência:

*Nome completo* (\*autor correspondência)

*Instituição/Departamento* (Nome completo da Instituição de filiação quando foi realizada a pesquisa)

*Endereço postal completo* (Logradouro/ CEP / Cidade / Estado / País)

*Telefone*

*e-mail* (não utilizar os provedores **hotmail** e **uol** no cadastro do autor de correspondência, pois o sistema de submissão online ScholarOne, utilizado pela revista, não confirma a solicitação de envio de e-mail feita por estes provedores)

Para co-autores:

*Nome completo*

*Instituição/Departamento (Filiação quando realizada a pesquisa)*

*Endereço (Cidade / Estado / País)*

*e-mail*

**DOCUMENTO PRINCIPAL: título, resumo, palavras-chave, texto do artigo com a identificação de figuras e tabelas**

Artigo científico original, nota científica e relato de caso deverão conter os seguintes tópicos: Título; Resumo; Palavras-chave; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusões; Agradecimentos (se houver) e Referências.

Artigo de revisão bibliográfica deverá conter os seguintes tópicos: Título; Resumo; Palavras-chave; Introdução e Desenvolvimento (livre); Conclusão; Agradecimentos (se houver) e Referências.

A estruturação dos demais tipos de documentos é livre.

3.4. RESUMO: Deve incluir objetivo(s) ou hipótese da pesquisa, material e métodos (somente informação essencial para a compreensão de como os resultados foram obtidos), resultados mais significativos e conclusões do trabalho, contendo no máximo 2.000 caracteres (incluindo espaços). Não usar abreviaturas e siglas. Os artigos em português ou espanhol devem também apresentar Resumo em inglês e os artigos em inglês devem incluir também o Resumo em português.

3.5. PALAVRAS-CHAVE: Devem ser incluídas no mínimo 2, logo após o Resumo e Summary, até no máximo 6 palavras indicativas do conteúdo do trabalho, que possibilitem a sua recuperação em buscas bibliográficas. Evitar termos que apareçam no título. Os artigos em português ou espanhol devem também apresentar as Palavras-chave em inglês e os artigos em inglês devem incluir também as Palavras-chave em português.

3.6. INTRODUÇÃO: Deve reunir informações para uma definição clara da problemática estudada, fazendo referências à bibliografia atual, preferencialmente de periódicos indexados, e da hipótese/objetivo do trabalho, de maneira que permita situar o leitor e justificar a publicação do trabalho. Visando à valorização da Revista, sugere-se, sempre que pertinente, a citação de artigos publicados no BJFT.

3.7. MATERIAL E MÉTODOS: Deve possibilitar a reprodução do trabalho realizado. A metodologia empregada deve ser descrita em detalhes apenas quando se tratar de desenvolvimento ou modificação de método. Neste último caso, deve destacar a modificação efetuada. Todos os métodos devem ser bibliograficamente referenciados ou descritos.

3.8. RESULTADOS E DISCUSSÃO: Os resultados devem ser apresentados e interpretados dando ênfase aos pontos importantes que deverão ser discutidos com base nos conhecimentos atuais. Deve-se evitar a duplicidade de apresentação de resultados em Tabelas e Figuras. Sempre que possível, os resultados devem ser analisados estatisticamente.

3.9. CONCLUSÕES: Neste item deve ser apresentada a essência da discussão dos

resultados, com a qual se comprova, ou não, a hipótese do trabalho ou se ressalta a importância ou contribuição dos resultados para o avanço do conhecimento. Este item não deve ser confundido com o Resumo, nem ser um resumo da Discussão.

3.10. AGRADECIMENTOS: Deve ser feita a identificação completa da agência de fomento, constando seu nome, país e nº do projeto. Outros agradecimentos a pessoas ou instituições são opcionais.

3.11. REFERÊNCIAS:

3.11.1 Citações no Texto

**Citação direta:** Transcrição textual de parte da obra do autor consultado (Especificar no texto a(s) página(s), volume(s), tomo(s) ou seção(ões) da fonte consultada).

**Citação indireta:** Texto baseado na obra do autor consultado (Indicar apenas a data).

Nas citações bibliográficas no texto (baseadas na norma ABNT NBR 10520: 2002), as chamadas pelo sobrenome do autor, pela instituição responsável ou título incluído na sentença devem ser em letras maiúsculas e minúsculas e, quando estiverem entre parênteses, devem ser em letras maiúsculas (caixa alta).

Exemplos:

Guerrero e Alzamorra (1998) obtiveram bom ajuste do modelo.

Esses resultados estão de acordo com os verificados para outros produtos (CAMARGO; RASERAS, 2006; LEE; STORN, 2001).

(COMISSÃO DAS COMUNIDADES EUROPÉIAS, 1992, p. 34) (ANTEPROJETO..., 1987, p. 55).

As citações de diversos documentos de um mesmo autor, publicados num mesmo ano, são distinguidas pelo acréscimo de letras minúsculas, em ordem alfabética, após a data e sem espaçamento, conforme a lista de referências.

Exemplos:

De acordo com Reeside (1927a) (REESIDE, 1927b)

Para citação de citação deve-se utilizar a expressão “apud” (citado por, conforme, segundo) após o ano de publicação da referência, seguida da indicação da fonte secundária efetivamente consultada.

Exemplos: No texto:

“[...] o viés organicista da burocracia estatal e o antiliberalismo da cultura política de 1937, preservado de modo encapuçado na Carta de 1946.” (VIANNA, 1986, p. 172 apud SEGATTO, 1995).

Sobre esse assunto, são esclarecedoras as palavras de Silva (1986 apud CARNEIRO,

1981).

### 3.11.2 Referências

A lista de referências deve seguir o estabelecido pela Associação Brasileira de Normas Técnicas

(ABNT), Norma: NBR 6023, de agosto de 2002, na seguinte forma:

- As referências são alinhadas somente à margem esquerda do texto e de forma a se identificar individualmente cada documento, em espaço simples e separadas entre si por espaço duplo.
- O recurso tipográfico (**negrito, grifo ou itálico**) utilizado para destacar o elemento título deve ser uniforme em todas as referências de um mesmo documento.
- Citar o nome de todos os autores nas Referências, ou seja, não deve ser usada a expressão “et al.”

#### *- Monografias (Livros, manuais e folhetos como um todo)*

Sobrenome e iniciais dos prenomes do autor (nomes de mais de 1 autor devem ser separados por ponto e vírgula). **Título** (em negrito): subtítulo. Edição (n. ed.), Local de Publicação: Editora, data de publicação. Número de páginas.

Exemplos:

*Impressos:*

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2008. 680 p.

HOROWITZ, W. (Ed.). **Official methods of analysis of the Association of Official**

**Analytical**

**Chemists**. 18th ed., 3<sup>rd</sup> rev. Gaithersburg, Maryland: AOAC, 2010. 1 v.

PERFIL da administração pública paulista. 6. ed. São Paulo: FUNDAP, 1994. 317 p.

*Eletrônicos:*

SZEMPLENSKI, T. **Aseptic packaging in the United State**. 2008. Disponível em: <<http://www.packstrat.com>>. Acesso em: 19 maio 2008.

#### *- Parte de monografias (Capítulos de livros, volume, fragmento, parte)*

AUTOR DO CAPÍTULO. Título do capítulo. In: AUTOR DO LIVRO. **Título do livro** (em negrito). Edição. Local de publicação (cidade): Editora, data. capítulo, página inicial-final da parte.

Exemplo:

*Impressos:*

ZIEGLER, G. Product design and shelf-life issues: oil migration and fat bloom. In: TALBOT, G. (Ed.). **Science and technology of enrobeb and filled chocolate, confectionery and**

**bakery products.** Boca Raton: CRC Press, 2009. Chapter 10, p. 185-210.

*Eletrônicos:*

TAMPAS de elastômeros: testes funcionais. In: AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Farmacopéia Brasileira**. 5. ed. Brasília: ANVISA, 2010. cap. 6, p. 294-299. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/hotsite/cd\\_farmacopeia/pdf/volume1%2020110216.pdf](http://www.anvisa.gov.br/hotsite/cd_farmacopeia/pdf/volume1%2020110216.pdf)>. Acesso em: 22 mar. 2012.

*- Teses, dissertações e trabalhos de conclusão de curso*

AUTOR. **Título** (em negrito). Ano de defesa. Número de folhas. Categoria (Grau e área) - Unidade da Instituição, Instituição, Cidade, Data de publicação.

Exemplo:

CARDOSO, C. F. **Avaliação do sistema asséptico para leite longa vida em embalagem flexível institucional do tipo Bag-in-box**. 2011. 160 f. Dissertação (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

*- Publicação periódica (Artigos de periódicos)*

AUTOR DO ARTIGO. Título do artigo. **Título do Periódico** (por extenso e negrito), Local de publicação (cidade), volume, número, páginas inicial-final, ano de publicação.

Exemplo:

*Impressos:* KOMITOPOULOU, Evangelia; GIBBS, Paul A. The use of food preservatives and preservation. **International Food Hygiene**, East Yorkshire, v. 22, n. 3, p. 23-25, 2011.

*Eletrônicos:*

INVIOLÁVEL e renovável. **EmbalagemMarca**, São Paulo, v. 14, n. 162, p. 26, fev. 2013. Disponível em: <<http://issuu.com/embalagemmarca/docs/em162/26>>. Acesso em: 20 maio 2014.

*- Trabalho apresentado em evento*

AUTOR. Título do trabalho apresentado, seguido da expressão In: NOME DO EVENTO, numeração do evento (se houver), ano e local (cidade) de realização. **Título do documento (anais, proceedings, atas, tópico temático, etc.)**, local: editora, data de publicação. Página inicial e final da parte referenciada.

Exemplos:

*Impressos*

ALMEIDA, G. C. Seleção classificação e embalagem de olerícolas. In: SIMPÓSIO

BRASILEIRO DE PÓS-COLHEITA, 2., 2007, Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, 2007. p. 73-78.

IUFOST INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON CHEMICAL CHANGES DURING FOOD PROCESSING, 1984, Valencia. **Proceedings...** Valencia: Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, 1984.

#### *Eletrônicos*

MARTARELLO, V. D. Balanço hídrico e consumo de água de laranjeiras. In: CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 5., 2011, Campinas. **Anais...** Campinas: IAC; ITAL, 2011. 1 CD-ROM.

LUIZ, M. R.; AMORIN, J. A. N.; OLIVEIRA, R. Bomba de calor para desumificação e aquecimento do ar de secagem. In: CONGRESSO IBEROAMERICANO DE ENGENHARIA MECÂNICA, 8., 2007, Cusco. **Anais eletrônicos...** Cusco: PUCP, 2007. Disponível em: <<http://congreso.pucp.edu.pe/cibim8/pdf/06/06-23.pdf>>. Acesso em: 28 out. 2011.

#### *- Normas técnicas*

ÓRGÃO NORMALIZADOR. **Número da norma** (em negrito): título da norma. Local (cidade), ano. nº de páginas.

Exemplos:

ASTM INTERNATIONAL. **D 5047-09**: standard specification for polyethylene terephthalate film and sheeting. Philadelphia, 2009. 3 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 15963**: alumínio e suas ligas - chapa lavrada para piso - requisitos. Rio de Janeiro, 2011. 12 p.

#### *- Legislação (Portarias, decretos, resoluções, leis)*

Jurisdição (ou cabeçalho da entidade, no caso de se tratar de normas), título, numeração, data e dados da publicação.

Exemplos:

Impressos

BRASIL. Medida provisória no 1.569-9, de 11 de dezembro de 1997. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 14 dez. 1997. Seção 1, p. 29514.

Eletrônicos

COMISSÃO EUROPEIA. Regulamento (UE) n. 202/2014, de 03 de março de 2014. Altera o Regulamento (UE) n. 10/2011 relativo aos materiais e objetos de matéria plástica destinados a entrar em contacto com os alimentos. **Jornal Oficial da União Europeia**, Bruxelas, L 62, 04 abr. 2014. Disponível em: <<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2014:062:0013:0015:PT:PDF>>. Acesso em: 21 mar. 2014.

#### 4. PROCESSO DE AVALIAÇÃO

O manuscrito submetido à publicação no BJFT é avaliado previamente por um Editor e, dependendo da qualidade geral do trabalho, nesta etapa pode ser rejeitado ou retornar aos autores para adequações ou seguir para revisão por dois Revisores ad hoc. Todo o processo de revisão por pares é anônimo (double blind review). Os pareceres dos revisores são enviados para o Editor Associado, que emite um parecer para qualificar a pertinência de publicação do manuscrito. Caso haja discordância entre os pareceres, outros Revisores poderão ser consultados. Quando há possibilidade de publicação, os pareceres dos revisores e do Editor Associado são encaminhados aos Autores, para que verifiquem as recomendações e procedam às modificações pertinentes. As modificações feitas pelos autores devem ser destacadas no texto em cor diferente. Não há limite para o número de revisões, sendo este um processo interativo cuja duração depende da agilidade dos Revisores e do Editor em emitir pareceres e dos Autores em retornar o artigo revisado. No final do processo de avaliação, cabe ao Editor Chefe a decisão final de aprovar ou rejeitar a publicação do manuscrito, subsidiado pela recomendação do Editor Associado e pelos pareceres dos revisores. Este sistema de avaliação por pares é o mecanismo de auto regulação adotado pela Revista para atestar a credibilidade das pesquisas a serem publicadas.

Quando o trabalho apresentar resultados de pesquisa envolvendo a participação de seres humanos, em conformidade a Resolução nº 466 de 12 de outubro de 2012, publicada em 2013 pelo Conselho Nacional de Saúde, informar o número do processo de aprovação do projeto por um Comitê de Ética em Pesquisa.

A avaliação prévia realizada pelos Editores considera: Atendimento ao escopo e às normas e da revista; Relevância do estudo; Abrangência do enfoque; Adequação e reprodutibilidade da metodologia; Adequação e atualidade das referências bibliográficas e Qualidade da redação.

A avaliação posterior por Revisores e Editores/Conselheiros considera originalidade, qualidade científica, relevância, os aspectos técnicos do manuscrito, incluindo adequação do título e a qualidade do Resumo/Summary, da Introdução, da Metodologia, da Discussão e das Conclusões e clareza e objetividade do texto.

#### **Submissão de manuscritos**

A submissão do artigo deve ser online, pelo sistema ScholarOne, acessando no link: <https://mc04.manuscriptcentral.com/bjft-scielo>

Caso não seja usuário do ScholarOne, crie uma conta no sistema via **New User** na tela de **Log in**. Ao criar a conta, atente para os campos marcados com \*req.\* pois são obrigatórios. Caso já seja usuário mas esqueceu a senha, utilize o **Password Help** na mesma tela.

Caso tenha dúvidas na utilização do sistema use o tutorial (**Resources** - User Tutorials) à direita da tela de **Log in**. Caso necessite de ajuda use o **Help** no cabeçalho da página, à extrema direita superior.

Durante a submissão, **não usar o botão back do navegador.**

Uma carta de apresentação (**cover letter**) do manuscrito deve ser submetida online via ScholarOne, descrevendo a hipótese/mensagem principal do trabalho, o que apresenta de inédito, a importância da sua contribuição para a área em que se enquadra e sua adequabilidade para a revista Brazilian Journal of Food Technology.

O **Termo de Responsabilidade** ([http://bjft.ital.sp.gov.br/instrucao\\_autores.php](http://bjft.ital.sp.gov.br/instrucao_autores.php)) deve ser submetido online via ScholarOne, juntamente com os demais arquivos, no item **File upload**, como “Supplemental file NOT for Review”. Caso não seja possível reunir as assinaturas de todos os autores em um só Termo, cada autor pode enviar seu Termo de Responsabilidade devidamente preenchido e assinado para a Secretaria da Revista ([bjftsec@ital.sp.gov.br](mailto:bjftsec@ital.sp.gov.br)). Vale ressaltar que a submissão não será considerada finalizada, caso algum dos autores não envie o Termo de Responsabilidade.

Há uma taxa de publicação dos artigos aceitos, cujo valor está disponível no site da Revista ([http://bjft.ital.sp.gov.br/instrucao\\_autores.php](http://bjft.ital.sp.gov.br/instrucao_autores.php)). O processo de publicação terá início após o pagamento da taxa de publicação, cuja cobrança e instruções de pagamento serão enviadas ao autor de correspondência assim que o manuscrito for aceito.