INSTITUTO FEDERAL DE ALAGOAS
CURSO TÉCNICO EM AGROINDÚSTRIA

JOSÉ JOAQUIM DA SILVA NETO

BACTÉRIAS ÁCIDO LÁTICAS ISOLADAS DE RESÍDUOS DE FRUTAS E HORTALIÇAS: POTENCIAL ANTIMICROBIANO E PROBIÓTICO

MURICI, AL
2024

JOSÉ JOAQUIM DA SILVA NETO

BACTÉRIAS ÁCIDO LÁTICAS ISOLADAS DE RESÍDUOS DE FRUTAS E HORTALIÇAS: POTENCIAL ANTIMICROBIANO E PROBIÓTICO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como pré-requisito para obtenção do Título de Técnico em Agroindústria do Instituto Federal de Alagoas – IFAL *Campus* Murici – AL.

Orientadora: Juliana de Oliveira Moraes

Coorientadora: Nataly Miranda do Nascimento

MURICI, AL
2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Instituto Federal de Alagoas
***Campus* Murici**
Biblioteca Professor Cícero Vieira de Araújo

S586b Silva Neto, José Joaquim da.
Bactérias ácido láticas isoladas de resíduos de frutas e hortaliças: potencial antimicrobiano e probiótico / José Joaquim da Silva Neto.- 2024.
34f. : il., col.

Arquivo no Formato PDF do Trabalho Acadêmico.

Orientação: Profª. Dra. Juliana de Oliveira Moraes.
Coorientadora: Profª. Dra Nataly Miranda do Nascimento.

Trabalho de Conclusão de Curso (Técnico em Agroindústria) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Alagoas, Murici. Murici, 2024.

1. Bactérias ácido-láticas 2. Probióticos 3. Atividade antimicrobiana I. Título

CDD: 615.32

Lucicláudia Silva dos Santos
Bibliotecária — CRB-4/2115

JOSÉ JOAQUIM DA SILVA NETO

Trabalho de Conclusão de Curso submetido como requisito parcial para obtenção do título de Técnico em Agroindústria, no Instituto Federal de Alagoas – IFAL, *Campus* Murici – Murici/AL.

APROVADO EM: _10__/_12__/_2024_

Documento assinado digitalmente
JULIANA DE OLIVEIRA MORAES
Data: 18/12/2024 11:59:52-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Orientador (a) - Prof. Drª. Juliana de Oliveira Moraes
Orientador (a) - Instituto Federal de Alagoas – IFAL, Campus Murici

Documento assinado digitalmente
NEIDE APARECIDA FERREIRA MACHADO
Data: 18/12/2024 12:35:39-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Examinador (a) - Msª. Neide Aparecida Ferreira Machado
Instituto Federal de Alagoas – IFAL, Campus Murici

Documento assinado digitalmente
GESSIKA CECILIA CARVALHO DA SILVA
Data: 18/12/2024 13:07:13-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Examinador (a) - Prof. Dr.ª Géssika Cecília Carvalho da Silva
Instituto Federal de Alagoas – IFAL, Campus Murici

Documento assinado digitalmente
MARCIA ANDREA GOMES
Data: 18/01/2025 08:06:47-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Examinador (a) - Prof. Drª. Márcia Andrea Gomes
Instituto Federal de Alagoas – IFAL, Campus Murici

Murici, AL
2024

Dedico este Trabalho de Conclusão de Curso àquele que cuidadosamente desenhou cada célula de ser vivente, sejam de bactérias, plantas ou até mesmo as minhas - ao Senhor Deus - e àquela que este escolheu como mãe, sua e minha, à Senhora Aparecida.

AGRADECIMENTOS

Por vezes me questionei se seria possível realizar esse sonho que foi cursar o ensino médio técnico no Instituto Federal de Alagoas e tive medo de ser pequeno demais para ele. De fato, sou pequeno demais para esse sonho, mas foi no auge da minha pequenez que pude me apaixonar por essa instituição e tudo que a constrói, foi também no auge dessa pequenez que conheci seres microscópicos, incluindo as bactérias que são tema deste trabalho.

Costumo dizer que não existe trabalho sem trabalhador, que não existe trabalhador sem gente e não existe gente sem formação. Sendo assim, é preciso fazer os devidos agradecimentos a tudo aquilo que me forma e transforma.

Agradecimentos a Deus, que desenhou cada traço de vida que pulsa no universo; a Maria Santíssima, que intercede por cada passo meu; e a todos os meus santos, que sempre me acompanham, em especial ao Pai Seráfico São Francisco de Assis.

Agradecimentos àqueles que tanto trabalharam ao sol no passado para que hoje eu pudesse seguir esse caminho pela sombra, minha mãe Valdeci e meu pai Severino. Àqueles que estiveram comigo desde que nasci, meus irmãos Alberto, Almir, Elaine e Juliana e àqueles que chegaram recentemente, meus sobrinhos Arielly, Catherine e Almir Júnior.

Agradecimentos àqueles que me formaram enquanto estudante e enquanto gente, à Escola Estadual Doutor Jorge de Lima, ao Instituto Federal de Alagoas e a cada um que constrói ou construiu em algum momento essas instituições pelas quais passei e que também passaram por mim.

Se hoje sou aquele que estou, se realizei aquilo que fiz, se realizei aquilo que um dia apenas sonhei. Se existo como o autor deste trabalho, devo aos livros que li, aos sentimentos que senti e, principalmente, a todos que acima citei.

RESUMO

Atualmente, as bactérias ácido lácticas (BALs) são amplamente estudadas na área de bioconservantes e probióticos. A bioconservação é uma tecnologia que faz uso de microrganismos e/ou seus metabólitos com objetivo de aumentar a vida de prateleira, reduzir o uso de conservantes químicos e garantir a segurança dos alimentos. Os probióticos são microrganismos não patogênicos que, quando ingeridos, são capazes de atingir o intestino em quantidades suficientes para conferir benefícios para a saúde dos indivíduos. Neste contexto, o presente trabalho teve o objetivo de isolar BALs com potencial antimicrobiano e probiótico a partir da flora de resíduos de frutas e hortaliças. As culturas bacterianas foram isoladas de resíduos de vegetais, utilizados nas aulas práticas da disciplina de tecnologia de frutas e hortaliças ministradas no curso técnico em Agroindústria, a citar: abóbora (ABO), maçã (MA), abacaxi (ABA), goiaba (GO), banana (BAN) e batata doce (BD). A avaliação do potencial antimicrobiano foi avaliado frente aos patógenos: *Listeria monocytogenes, Escherichia coli, Salmonella enterica e Staphylococcus aureus*. Posteriormente, as culturas que apresentaram maior espectro antimicrobiano foram submetidas ao teste de tolerância a pH ácido (2,0 e 3,0). Um total de 40 culturas de BALs foram isoladas. Em geral, verificou-se culturas com forte inibição frente aos patógenos testados (cinco culturas frente a *S. enterica;* cinco culturas frente a *E. coli*; três culturas frente *S. aureus* e nenhuma cultura frente a *L. monocytogenes)*. Posteriormente, as culturas “ABO 02”, “MA 06”, “BAN 4”, “GO 05”, que apresentaram halos de forte inibição (>10mm) frente a dois ou mais patógenos avaliados, foram submetidas ao teste de resistência a pH ácidos. As quatro culturas avaliadas se apresentaram resistentes à permanência em pH 2,0, e 3,0 durante 3 h. Os resultados do presente estudo demonstram que as quatro culturas de BALs selecionadas apresentam potencial antagônico principalmente para os patógenos Gram-positivas testados: *S. enterica e E. coli.* Adicionalmente, as culturas selecionadas apresentaram resistência em pH ácido, sendo este um pré-requisito para culturas probióticas. Portanto, as quatro culturas apresentaram-se como potenciais culturas biopreservantes e probióticas.

Palavras-chave: bactérias ácido-láticas, probióticos, atividade antimicrobiana.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....7
2. REVISÃO DE LITERATURA..... 10
2.1 Bactérias ácido láticas.....10
2.2 Bacteriocinas..... 11
2.3 Alimentos probióticos na saúde humana..... 12
3. METODOLOGIA..... 15
3.1 Amostragem..... 15
3.2 Isolamento e caracterização de bactérias de ácido lácticas..... 15
3.3 Avaliação da capacidade antimicrobiana das culturas lácticas isoladas frente a patógenos de interesse alimentar.....16
3.4 Avaliação do potencial probiótico.....17
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....20
5. CONCLUSÃO.....28
REFERÊNCIAS.....29

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, existe uma evidente mudança no mercado de alimentos, associado ao crescente aumento de consumidores que reconhecem a importância positiva entre dieta e saúde (Freire *et al.*, 2021). Neste cenário, surgem os alimentos com probióticos e que fazem uso de bioconservantes.

Os probióticos são definidos como "microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro" (FAO/WHO, 2002; Hill *et al*., 2014). Vários estudos relatam que a manutenção de uma microbiota intestinal saudável está diretamente relacionada a efeitos protetores frente a distúrbios do trato gastrointestinal (TGI) (Chuluck *et al.*, 2023).

A bioconservação surge como uma alternativa interessante para inibição do crescimento microbiano em alimentos, prevenindo ou minimizando a adaptação de patógenos às condições de estresse aplicadas para o controle de microrganismos em alimentos (Cancella *et al*., 2024).

Esta alternativa de conservação de alimentos faz uso da capacidade antimicrobiana natural que alguns microrganismos e/ou seus metabólitos possuem. A bioproteção tem como objetivo estender a vida útil, aumentar a segurança, minimizar as perdas nutricionais e as alterações sensoriais de alimentos perecíveis (Garcia *et al*., 2010).

Considerando estes fatos, sabe-se que bactérias ácido láticas (BALs) pertencentes à microflora de vegetais, possuem potencial probiótico, tendo destaque para os gêneros *Lactobacillus, Leuconostoc, Pediococcus e Lactococcus*. Além disso, as BALs têm sido amplamente estudadas devido a sua capacidade de produzir substâncias com atividades antimicrobianas, dentre as quais se destacam as bacteriocinas (Cancella *et al*., 2024).

As bacteriocinas são peptídeos ou proteínas sintetizados ribossomalmente de potente ação antimicrobiana contra uma diversidade de microrganismos. Existem diversos relatos de bacteriocinas com atividade contra patógenos de interesse como contaminantes de alimentos, a citar *Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, Clostridium botulinum, Escherichia coli, Bacillus cereus, Salmonella enterica*, bem como contra bactérias e fungos deterioradores e produtores de micotoxinas

(Cubillo-komarovova et al., 2024) evidenciando o potencial de aplicação destes compostos como conservantes de alimentos.

Considerando tais aspectos, é evidente a necessidade de estudos que busquem o isolamento e estudo de BALs, como instrumentos de obtenção de novas soluções para conservação de alimentos e formulação de alimentos que propiciam bem-estar à saúde do consumidor. Assim, o presente estudo propõe o isolamento e avaliação do potencial probiótico e antimicrobiano de bactérias ácido lácticas isoladas de resíduos do processamento de vegetais.

As frutas e hortaliças têm sido sugeridas como uma fonte alternativa para o isolamento de BALs, tendo em vista que este grupo de bactérias representa parte considerável de sua microbiota (Di Cagno *et al.*, 2010). Diversos estudos evidenciam que cepas de BALs isoladas de frutas são amplamente resistentes ao suco gástrico e à bile artificiais, justificando um potencial promissor do uso de vegetais como fonte de microrganismos probióticos (Garcia *et al.*, 2016; García-Ruiz *et al*., 2014; Higashikawa *et al.*, 2010; Léon-Romero *et al.*, 2016).

As BALs em geral são classificadas como “Geralmente Reconhecidos como Seguros“ (GRAS) por não estarem associadas à etiologia de nenhuma doença, e em função do seu longo histórico de uso como culturas iniciados em alimentos. Adicionalmente, vários estudos comprovam que diferentes gêneros de BAL possuem capacidade antagônica frente a bactérias patogênicas e deteriorantes de interesse em alimentos (Kegele *et al.*, 2023).

A aplicação de BALs na bioconservação torna-se ainda mais interessante se considerado que estas bactérias são responsáveis pelo desenvolvimento de características sensoriais de uma ampla variedade de produtos fermentados e curados (Antônio; Borelli, 2020). O status de GRAS das BALs viabiliza seu uso como probióticas utilizadas como suplementos ou adicionadas em matrizes alimentares.

Os probióticos já foram avaliados como moduladores para tratar ou para evitar distúrbios de saúde intestinal, auxiliar na redução da pressão arterial em indivíduos hipertensos e modular positivamente o metabolismo em quadros de diabetes tipo 2, melhorando a resistência à insulina (Dos Santos et al., 2020).

Considerando os aspectos expostos, as BALs isoladas de alimentos de origem vegetal possuem potencial para uso na indústria de alimentos como culturas bioconservantes e probióticas que podem ser ingeridos como suplementos ou incorporados em matrizes alimentares (Lopes; Bastos; Rebello, 2023). Existe, portanto, a possibilidade de sua utilização em produtos biológicos com capacidade fermentativa, conservante e benéfico à saúde.

Portanto, o objetivo geral deste trabalho foi isolar bactérias ácido láticas com potencial bacteriocigênico e probiótico a partir de subprodutos da indústria processadora de vegetais. Enquanto isso, os objetivos específicos foram: isolar e caracterizar a microbiota láctica presente em resíduos oriundos do processamento de frutas e hortaliças; avaliar a capacidade antimicrobiana das bactérias lácticas isoladas frente a patógenos de interesse alimentar e investigar o potencial probiótico das bactérias lácticas isoladas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Bactérias ácido láticas

As bactérias ácidas láticas (BAL) foram isoladas pioneiramente pelo pesquisador Joseph Lister a partir de uma amostra de leite em 1873, sendo classificadas como Bacteriumlactis (Salminen, Wrigth, 1993). Podem ser encontradas em meios ricos em nutrientes, tais como trato gastrointestinal, urogenital, em alimentos fermentados como leite, carne e grãos (Freire *et al.*, 2021).

São caracterizadas por metabolizar carboidratos e produzem ácido lático, possuem morfologia variada, podendo ser cocos ou bastonetes com células simples, estando dentro do grupo das bactérias Gram-positivas, não produtoras da enzima catalase, não esporuladas, geralmente sem motilidade e anaeróbias facultativas, podem ser homofermentativas - quando produzem unicamente ácido lático - ou heterofermentativas - quando produzem outros compostos (Lopes; Bastos; Rebello, 2023; Kegele *et al.*, 2023).

As BALs podem ser mesófilas - com crescimento ótimo entre 30º C e 37º C - ou termófilas - com temperatura ótima entre 42º C e 50 ºC. São capazes de produzir compostos interessantes para a indústria de alimentos, como enzimas com potencial tecnológico para melhoramento sensorial, ácidos orgânicos e bacteriocinas (Giazzi *et al.*, 2020).

As bactérias láticas são importantes culturas na produção de alimentos, seja como iniciadoras, seja como adjuntas. Suas características podem ser úteis na produção de alimentos diversos, como derivados lácteos, sucos fermentados e produtos cárneos (Antônio; Borelli, 2020). Quando administradas em quantidades adequadas, as BALs constituem importantes efeitos na saúde humana.

Dentre as vantagens do consumo destas culturas estão a modulação da imunidade diante do melhoramento da microflora intestinal, restabelecimento de homeostase microbiana, proteção epitelial intestinal, retardo de sintomas de intolerância à lactose e efeito antitumoral (Freire *et al.*, 2021). Para além disso, também destaca-se o seu potencial de inibição de microrganismos, seja pela

produção de metabólitos extracelulares, seja pela disputa nutricional, o que lhes faz ser um grande alvo para a indústria de alimentos seguros (Lopes; Bastos; Rebello, 2023).

2.2 Bacteriocinas

Bacteriocinas são peptídeos sintetizados ribossomicamente por células bacterianas e liberados no meio extracelular, estes peptídeos são dotados de atividade bactericida ou bacteriostática e representam uma interessante alternativa como mediadores da microbiota intestinal e substituição dos antibióticos tradicionais, já que estas substância apresentam baixa toxicidade. Além disso, sua atividade pode ser potencializada pela presença de outras substâncias, como o ácido láctico, que permite a permeabilização da membrana bacteriana e seu potencial adaptado através de engenharia genética (Garcia-Gutierrez *et al.*, 2019).

Para além do uso terapêutico, estas substâncias também podem ser aplicadas na indústria de alimentos como aditivos naturais não modificadores de características sensoriais com capacidade biopreservante, garantindo a segurança dos alimentos através do efeito bacteriostático e/ou bactericida no desenvolvimento microbiano (Aljohani; Al-Hejin; Shori, 2023).

As bacteriocinas podem apresentar características antimicrobianas diversas, sendo de espectro restrito (atividade contra cepas estreitamente relacionadas às cepas produtoras) ou amplo (atividade contra uma variedade de gêneros diferentes). As cepas produtoras de bacteriocina são protegidas da atividade de seus próprios produtos por sistemas de imunidade; consequentemente, uma cepa produtora de bacteriocina normalmente não é sensível à ação de sua bacteriocina produzida (Aljohani; Al-Hejin; Shori, 2023).

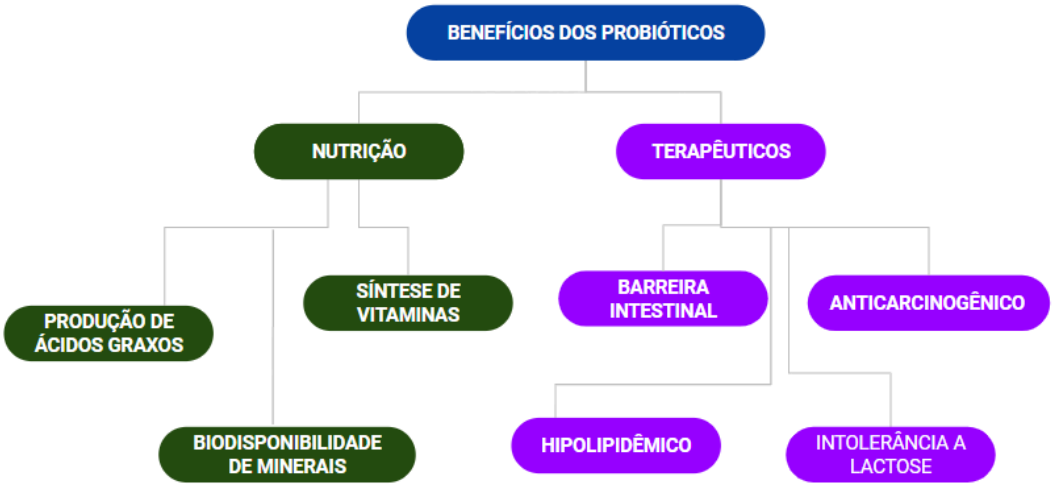
Seus mecanismos de ação são variados, podendo agir através de intervenções na integridade do envoltório celular ou na expressão gênica e síntese proteica. A integridade da membrana celular de um microrganismos pode ser comprometida sob interação direta ou indireta da bacteriocina com a membrana, causando a formação de poros em sua superfície e posterior à lise celular (Meade; Slattery; Garvey, 2020).

2.3 Alimentos probióticos na saúde humana

Define-se probióticos como microrganismos vivos que conferem benefícios à saúde de seu hospedeiro quando administrados em quantidades corretas (FAO/WHO, 2002; Hill *et al*., 2014). Existem no mercado diversas formas de consumo de microrganismos, como comprimidos e encapsulados, entretanto, a alimentação ainda é uma das principais fontes para a diversidade da microbiota humana (Rothschild *et al*., 2018).

Os alimentos probióticos estão dentro do grupo dos alimentos funcionais, isto é, aqueles que para além de nutrientes ofertam ao organismo benefícios adicionais à saúde, destacando-se por seus benefícios ao microbioma intestinal (Gomes *et al*., 2024; Ashaolu, 2020). Os principais benefícios nutricionais e terapêuticos associados ao uso destes microrganismos estão esquematizados na figura 1.

Figura 1 – Benefícios nutricionais e terapêuticos associados ao uso de probióticos.



Fonte: Adaptado de Faintuch (2017)

Na ótica de Uyeda *et al.* (2016), para a seleção de microrganismos probióticos, a base constitui-se dos seguintes critérios: o gênero, a origem, a estabilidade frente ao ácido estomacal e aos sais biliares, a capacidade de aderir à mucosa intestinal, a capacidade de colonizar ao menos

temporariamente o trato gastrintestinal humano, a capacidade de produzir compostos antimicrobianos e a atividade metabólica no intestino. A literatura descreve diversos benefícios dos probióticos para a saúde humana, conforme tabela 1.

Tabela 1 – Benefícios dos probióticos e seus respectivos sítios de ação

Sítio de ação	Benefícios
Intestino	Prevenção de diarréias infecciosas, diarréias agudas, diarréias persistentes ou causadas pelo uso de antibióticos; Prevenção de desordens gastrintestinais; Auxílio no tratamento da Síndrome do Intestino Irritável; Atividade anticarcinogênica no cólon; Auxílio no tratamento da intolerância à lactose; Prevenção de constipações; Regulação do pH intestinal; Auxílio na manutenção da microbiota intestinal.
Boca	Prevenção de cáries; Auxílio no tratamento de candidíase oral; Auxílio no tratamento da halitose; Auxílio na promoção da saúde periodontal.
Trato urogenital e reprodutivo	Prevenção de infecções no trato urogenital e reprodutivos; Prevenção ao câncer de colo de útero.
Pele	Prevenção de doenças dermatológicas no geral.
Eixo intestino-cérebro	Regulação imunológica; Metabolismo de neurotransmissores; Produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC); Regulação hormonal;
Trato respiratório	Prevenção de infecções no trato respiratório
Efeitos sistêmicos	Prevenção de manifestações alérgicas; Melhor absorção de nutrientes. Atividade antimicrobiana.

Fonte: adaptado de Dos Santos *et al.*, 2020, Santos, 2023 e Costa *et al.*, 2022.

As atividades benéficas à saúde proporcionadas pelos probióticos são produzidas através de diversos mecanismos orgânicos. Inicialmente pode

ocorrer pela disputa por substrato e competição por sítios de adesão. Nessas situações, a proliferação de patógenos é inviabilizada pela falta de nutrientes; e ainda, as culturas probióticas podem atuar competindo por sítios de adesão, afetando a capacidade dos patógenos aderirem a células e tecidos do hospedeiro/infectado.

Adicionalmente, as BALs destacam-se pela produção de agentes antimicrobianos (bacteriocinas e outros metabólitos secundários), afetando a capacidade de multiplicação da população de patógenos. Finalmente, as culturas probióticas podem atuar de maneira mais refinada, agindo na ativação de receptores TLRs (Toll-like receptors) e NLRs (NOD-like receptors) que atuam como receptores de PAMPS (Pathogen-associated molecular pattern) em células apresentadoras de antígeno a fim de ativar a resposta imune em pacientes infectados (Kumariya *et al*., 2019; Chakaraborti, 2015).

3. METODOLOGIA

3.1 Amostragem

As bactérias ácido lácticas foram isoladas a partir de resíduos de frutas e hortaliças processadas em aulas práticas da disciplina de Tecnologia de Frutas e Hortaliças, ministradas para as turmas de quarto ano em 2022, do curso técnico em agroindústria do Instituto Federal de Alagoas – campus Murici (Ifal - Murici). Para o presente trabalho foram utilizados resíduos de banana, goiaba (GO), abóbora (ABO), abacaxi (ABA), maçã (MA) e batata doce (BD).

Os vegetais foram devidamente sanitizados em solução de hipoclorito de sódio antes de seu processamento e seus resíduos foram coletados em sacos estéreis e armazenadas sob congelamento até o momento das análises microbiológicas para isolamento de bactérias láticas.

3.2 Isolamento e caracterização de bactérias de ácido lácticas

As amostras (25 g) foram diluídas em 225 mL de solução salina (0,85%) estéril e em seguida foram realizadas diluições decimais seriadas para inoculação em ágar De Man, Rogosa e Sharpe (MRS) pelo método de espalhamento em superfície, utilizando alça de Drigalski flambada, conforme figura 2. As placas com contagens menores que 50 colônias foram selecionadas para isolamento de colônias, que foram isoladas e replicadas em caldo MRS.

Figura 2 – Placa com culturas láticas oriundas de resíduos de frutas.

Fonte: autor

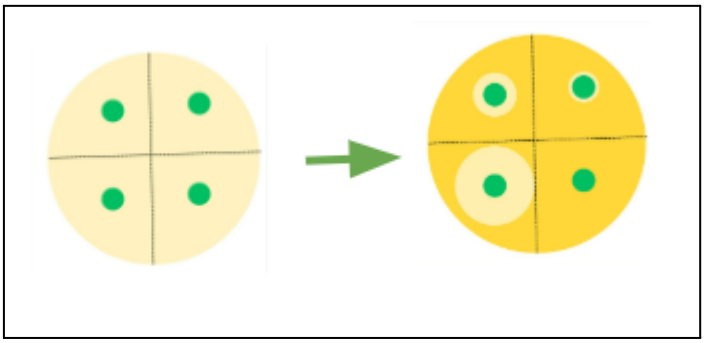
No dia seguinte, após o crescimento das culturas em meio de cultura verificado através de turvamento do caldo, realizou-se a confecção de cópias em Caldo MRS à 20% de glicerol, estas foram armazenadas em freezer sob congelamento. Para fins de caracterização, as culturas foram submetidas ao teste de verificação de ausência da enzima catalase e coloração de Gram.

3.3 Avaliação da capacidade antimicrobiana das culturas lácticas isoladas frente a patógenos de interesse alimentar

As culturas isoladas foram reativadas em caldo MRS 37° C por 24h duas vezes para serem submetidas ao inibição ágar-spot-test (Todorov; Dicks, 2005). Para isso onde foram preparadas placas petri com ágar MRS estéril, em seguida foram feitos pontos com 0,02mL de do caldo supracitado, isto é, com culturas láticas. As placas foram para incubação de 24 horas, em temperatura mesófila.

Passado o tempo de incubação, realizou-se sobreposição de ágar não seletivo propositalmente contaminado com os patógenos de interesse alimentar, conforme esquematização da figura 3. No presente estudo foram usados no teste de antagonismo: *Listeria monocytogenes, Escherichia coli, Salmonella enterica e Staphylococcus aureus*.

Figura 3 – Esquematização de teste de inibição ágar-spot-test.



Fonte: autor

Na avaliação do potencial utilizou-se como referência Moreno (1996) que considera como fraca inibição o halo de até 4mm de diâmetro, média inibição o halo com diâmetro entre 5 e 9mm e forte inibição o halo com diâmetro maior ou igual a 10mm.

3.4 Avaliação do potencial probiótico

Após a seleção de cepas com potencial antimicrobiano de maior espectro (halos de inibição fortes, isto é, maiores que 10 mm), as culturas foram submetidas ao teste de tolerância a diferentes valores de pH (Garcia *et al*, 2010). Foram selecionadas quatro culturas (“ABO 02”, “MA 06”, “BAN 4”, “GO 05”), tendo em vista a ação antimicrobiana dessas culturas, para a avaliação preliminar da capacidade probiótica, através do teste de tolerância em ambientes ácidos.

Na preparação das células do meio de cultura realizou-se centrifugação a 4ºC, em 10.000 rotações por minuto (RPM) por 6 minutos, conforme figura 5. Com isto, ocorreu a separação do material em suas fases, sendo realizado com auxílio de micropipetador o descarte do material sobrenadante. Após, foi feita adição de 1mL de solução tampão (pH 7,2) e nova centrifugação para segundo descarte de sobrenadante.

Figura 4 – Centrifugação a 4ºC - 10.000 RPM - 6 minutos.

Fonte: autor

Em seguida, foi feito o teste de exposição similar a suco gástrico com soluções de ácido clorídrico de pH 2, 3 e 7. Para tal, foi feita a adição de 3mL de solução de ácido clorídrico por tubo de ensaio; controle de tempo (1, 2 e 3 horas); preparo de diluição decimal seriada a cada hora e inoculação através do método de pontos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram isoladas 40 culturas de bactérias ácido láticas com confirmação em teste de Catalase negativo e Coloração de Gram mostrando bacilos e cocos positivos. Na tabela 2, observam-se os vegetais de origem das culturas e as codificações das culturas isoladas. Dos resíduos de abóbora foram isoladas 6 culturas, dos resíduos de maçã 6 culturas, dos resíduos de abacaxi 8 culturas, dos resíduos de goiaba 7 culturas, de resíduos de banana 5 culturas e de resíduos de batata doce 8 culturas (tabela 2).

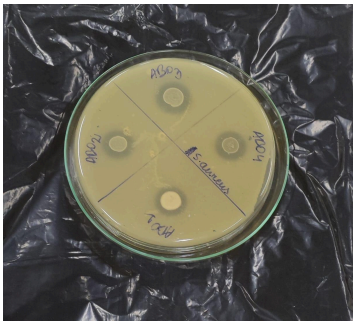
Tabela 2 – Origem e codificação de culturas de bactérias ácido láticas isoladas

Vegetal de Origem (Resíduo)	Código de culturas	Teste de catalase	Coloração de Gram
Abóbora (Sementes)	ABO 01	Negativo	Positiva
	AB0 02	Negativo	Positiva
	AB0 03	Negativo	Positiva
	ABO 04	Negativo	Positiva
	ABO 05	Negativo	Positiva
	AB0 06	Negativo	Positiva
Maçã (Cascas)	MA 01	Negativo	Positiva
	MA 02	Negativo	Positiva
	MA 03	Negativo	Positiva
	MA 04	Negativo	Positiva
	MA 05	Negativo	Positiva
	MA 06	Negativo	Positiva
Abacaxi (Cascas)	ABA 01	Negativo	Positiva
	ABA 02	Negativo	Positiva
	ABA 03	Negativo	Positiva
	ABA 04	Negativo	Positiva
	ABA 05	Negativo	Positiva
	ABA 06	Negativo	Positiva
	ABA 07	Negativo	Positiva
	ABA 08	Negativo	Positiva
Goiaba (Caroços)	GO 01	Negativo	Positiva
	GO 02	Negativo	Positiva
	GO 03	Negativo	Positiva
	GO 04	Negativo	Positiva
	GO 05	Negativo	Positiva
	GO 06	Negativo	Positiva
	GO 07	Negativo	Positiva
Banana (Casca)	BAN 01	Negativo	Positiva
	BAN 02	Negativo	Positiva
	BAN 03	Negativo	Positiva
	BAN 04	Negativo	Positiva
	BAN 05	Negativo	Positiva
Batata doce (Casca)	BD 01	Negativo	Positiva
	BD 02	Negativo	Positiva
	BD 03	Negativo	Positiva
	BD 04	Negativo	Positiva
	BD 05	Negativo	Positiva
	BD 06	Negativo	Positiva
	BD 07	Negativo	Positiva
	BD 08	Negativo	Positiva

Fonte: autor

As culturas isoladas demonstraram potencial antimicrobiano frente a diversos patógenos de interesse na área de alimentos, sendo testado através do método ágar-spot-test e resultando em halos de inibição com diversos diâmetros, como observa-se na figura 5.

Figura 5 – Halos de inibição obtidos de teste de inibição ágar-spot-test.



Fonte: autor

Nos resíduos de abóbora os halos de inibição observados variaram entre ausência de halo e 14 mm. No teste de antagonismo frente a *S. enterica* o maior halo foi observado pela cultura ABO 02. A mesma cultura apresentou forte inibição frente a *E. coli* (11 mm de inibição). Quanto aos halos de inibição frente *S. aureus*, a cultura ABO 06 destacou-se com o maior halo (9 mm), caracterizado essa cultura como de moderada inibição. No geral, as culturas apresentaram fraca inibição frente a *L. monocytogenes* (halos entre 1 e 3 mm) (tabela 3).

Tabela 3 – Halos de inibição de teste de atividade antimicrobiana de culturas de bactérias ácido láticas isoladas de resíduos de abóbora.

Culturas de BALs	Patógenos			
	S. enterica	***E.coli***	***S. aureus***	***L. monocytogenes***
ABO 01	(-)	(-)	(+) 3 mm	(+) 1 mm
ABO 02	(+++) 14 mm	(+++) 11 mm	(+) 3 mm	(+) 1,5 mm
ABO 03	(+) 5 mm	(+) 6 mm	(+) 3 mm	(+) 1 mm
ABO 04	(+) 6 mm	(+) 4 mm	(+) 2 mm	(+) 1 mm
ABO 05	(+) 2 mm	(+) 4 mm	(+) 4 mm	(+) 2 mm
ABO 06	(+) 5 mm	(+) 6 mm	(++) 9 mm	(+) 3 mm

(–) negativo (sem formação de halos); (+) fraca inibição (halos de até 4mm de diâmetro); (++) média inibição (halos de 5 a 9mm de diâmetro); (+++) forte inibição (halos acima de 10mm de diâmetro) (Morena,1996).

Nos resíduos de banana foram verificados halos caracterizados como de forte inibição frente *S. enterica* (MA 01 e MA 02, MA 06) e frente a *E. coli* (MA 06). Em geral, os intervalos de halos de inibição variaram entre ausência e 14 mm. Nesse resíduo, três culturas (MA 01 e MA 02, MA 06) apresentaram potencial antimicrobiano, principalmente para o patógeno *S. enterica,* conforme observa-se na tabela 4.

Tabela 4 – Halos de inibição de teste de antagonismos de culturas de bactérias ácido láticas isoladas de resíduos de maçã.

Culturas de BALs	Patógenos			
	S. enterica	***E.coli***	***S. aureus***	***L. monocytogenes***
MA 01	(+++) 14 mm	(+) 5 mm	(+) 1 mm	(+) 2 mm
MA 02	(+++) 12 mm	(+) 1 mm	(-)	(-)
MA 03	(+) 1 mm	(+) 4 mm	(+) 1 mm	(+) 4 mm
MA 04	(-)	(++) 5 mm	(-)	(+) 2 mm
MA 05	(+) 4 mm	(+) 4 mm	(+) 1 mm	(+) 1 mm
MA 06	(+++) 10 mm	(+++) 10 mm	(++) 9 mm	(+) 3 mm

(–) negativo (sem formação de halos); (+) fraca inibição (halos de até 4mm de diâmetro); (++) média inibição (halos de 5 a 9mm de diâmetro); (+++) forte inibição (halos acima de 10mm de diâmetro) (Moreno,1996).

Nas culturas isoladas de resíduos de abacaxi não foram observados halos de inibição caracterizados como fortes, isto é, não houveram halos superiores a 9mm de diâmetro. Nos testes frente *S. enterica* as culturas ABA 04, 05 e 06 apresentaram halos de inibição médios. Semelhantemente, observou-se na cultura ABA 04 frente *S. aureus*. Em geral, os halos fracos de inibição foram os mais frequentes nesse subproduto, conforme observa-se na tabela 5.

Tabela 5 – Halos de inibição de teste de antagonismos de culturas de bactérias ácido láticas isoladas de resíduos de abacaxi.

Culturas de BALs	Patógenos			
	S. enterica	***E.coli***	***S. aureus***	***L. monocytogenes***
ABA 01	(+) 3 mm	(+) 1 mm	(+) 1mm	(+) 1 mm
ABA 02	(+) 1 mm	(+) 1 mm	(-)	(+) 3 mm
ABA 03	(+) 3 mm	(+) 4 mm	(+) 3 mm	(+) 2 mm
ABA 04	(++) 5 mm	(+) 3 mm	(++) 6 mm	(+) 3 mm
ABA 05	(++) 5 mm	(+) 4 mm	(-)	(+) 1 mm
ABA 06	(++) 5 mm	(+) 2 mm	(+) 2 mm	(+) 1 mm
ABA 07	(-)	(-)	(+) 2 mm	(-)
ABA 08	(-)	(-)	(+)1 mm	(+) 1 mm

(–) negativo (sem formação de halos); (+) fraca inibição (halos de até 4mm de diâmetro); (++) média inibição (halos de 5 a 9mm de diâmetro); (+++) forte inibição (halos acima de 10mm de diâmetro) (Moreno,1996).

A partir dos resíduos de goiaba foram isoladas culturas com halos fortes de inibição frente *S. enterica* (GO 04 e 05), *E. coli* (GO 01, 03 e 06) e *S. aureus* (GO 05 e 06). Enquanto todas as culturas apresentaram halos de fraca inibição ou ausência de inibição frente *L. monocytogenes*. Conforme observa-se na tabela 6, os diâmetros dos halos variaram entre 0 e 12mm. Neste grupo, as culturas GO 05 e 06 destacam-se por apresentar fortes halos de inibição frente a dois patógenos testados.

Tabela 6 – Halos de inibição de teste de antagonismos de culturas de bactérias ácido láticas isoladas de resíduos de goiaba.

Culturas de BALs	Patógenos			
	S. enterica	***E.coli***	***S. aureus***	***L. monocytogenes***
GO 01	(-)	(+++) 10 mm	(+) 1 mm	(-)
GO 02	(-)	(+) 4 mm	(-)	(+) 2 mm
GO 03	(++) 5 mm	(+++) 10 mm	(++) 8 mm	(++) 6 mm
GO 04	(+++) 10 mm	(++) 9 mm	(++) 5 mm	(+) 2 mm
GO 05	(+++) 10 mm	(++) 7 mm	(+++) 11 mm	(++) 6 mm
GO 06	(-)	(+++) 12 mm	(+++) 10 mm	(-)
GO 07	(+) 2 mm	(++) 5 mm	(+) 1 mm	(-)

(–) negativo (sem formação de halos); (+) fraca inibição (halos de até 4mm de diâmetro); (++) média inibição (halos de 5 a 9mm de diâmetro); (+++) forte inibição (halos acima de 10mm de diâmetro) (Moreno,1996).

Nos resíduos de banana (cascas), ocorreram halos de fortes inibição frente *S. enterica e S. aureus* (BAN 04); médios para *E. coli* (BAN 03 e 04) e *S. enterica* (BAN 02); fracos frente *S. enterica* (BAN 01 e 03), *E. coli* (BAN 01 e 02), *S. aureus* (BAN 03 e 03) e *L. monocytogenes* (BAN 04). Evidencia-se que nenhuma cultura de BAL isolada demonstrou potencial de inibição frente à *L. monocytogenes.* A cultura BAN 04 mostra-se como promissor antimicrobiano, principalmente contra *S. enterica* e *S. aureus* (Tabela 7).

Tabela 7 – Halos de inibição de teste de antagonismos de culturas de bactérias ácido láticas isoladas de resíduos de banana.

Culturas de BALs	Patógenos			
	S. enterica	***E.coli***	***S. aureus***	***L. monocytogenes***
BAN 01	(+) 1mm	(+) 1mm	(-)	(-)
BAN 02	(++) 5 mm	(+) 2 mm	(+) 1	(-)
BAN 03	(+) 4 mm	(++) 6 mm	(+) 1	(-)
BAN 04	(+++) 10 mm	(++) 9 mm	(+++) 10 mm	(+) 1 mm
BAN 05	(-)	(-)	(-)	(-)

(–) negativo (sem formação de halos); (+) fraca inibição (halos de até 4mm de diâmetro); (++) média inibição (halos de 5 a 9mm de diâmetro); (+++) forte inibição (halos acima de 10mm de diâmetro) (Moreno,1996).

Quando analisados os resultados do teste de atividade antimicrobiana das bactérias oriundas da microflora dos resíduos de batata doce, demonstrou-se fraco potencial ou ausência de produção de halos de inibição potentes frente aos patógenos testados, vide tabela 08. Dentre estas culturas, destaca-se BD 04, que obteve halos de média inibição frente a todos os patógenos, com exceção de *L. monocytogenes*.

Tabela 8 – Halos de inibição de teste de antagonismos de culturas de bactérias ácido láticas isoladas de resíduos de batata doce.

Culturas de BALs	Patógenos			
	S. enterica	***E.coli***	***S. aureus***	***L. monocytogenes***
BD 01	(-)	(-)	(-)	(-)
BD 02	(-)	(-)	(-)	(-)
BD 03	(-)	(-)	(+) 1mm	(++) 8 mm
BD 04	(++) 6 mm	(+) 4 mm	(++) 8 mm	(-)
BD 05	(-)	(-)	(-)	(-)
BD 06	(++) 6 mm	(+)1 mm	(++) 6mm	(+) 1mm
BD 07	(-)	(-)	(-)	(-)
BD 08	(-)	(-)	(-)	(-)

(–) negativo (sem formação de halos); (+) fraca inibição (halos de até 4mm de diâmetro); (++) média inibição (halos de 5 a 9mm de diâmetro); (+++) forte inibição (halos acima de 10mm de diâmetro) (Moreno,1996).

As bactérias ácido láticas que mais se destacaram no teste de antagonismo realizado neste estudo estão dispostas na tabela 9 e foram selecionadas para teste de sobrevivência em baixo pH, a citar: pH 2 e 3.

Tabela 9 - Halos gerados pelas culturas selecionadas em teste de antagonismo.

Culturas de BALs	Patógenos			
	S. enterica	***E.coli***	***S. aureus***	***L. monocytogenes***
ABO 02	(+++) 14mm	(+++) 11mm	(+) 3mm	(+) 1,5 mm
MA 06	(+++) 10mm	(+++) 10mm	(++) 9mm	(+) 3mm
GO 05	(+++) 10mm	(++) 7mm	(+++) 11mm	(++) 6 mm
BAN 04	(+++) 10mm	(++) 9 mm	(+++) 10mm	(+) 1mm

(–) negativo (sem formação de halos); (+) fraca inibição (halos de até 4mm de diâmetro); (++) média inibição (halos de 5 a 9mm de diâmetro); (+++) forte inibição (halos acima de 10mm de diâmetro) (Moreno,1996).

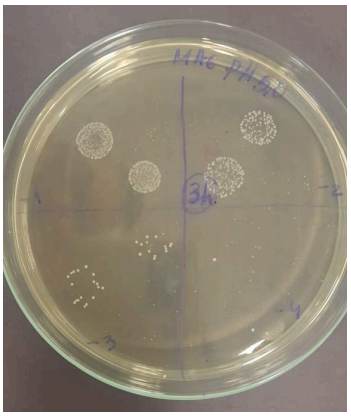
Vários estudos evidenciam que a atividade antibacteriana de BALs destaca-se frente a bactérias do grupo das Gram-positivas (Almeida Junior *et al.*, 2015; Saraoui *et al.*, 2016). Todavia, no presente estudo os halos de

inibição classificados como fortes foram mais frequentes frente a bactérias Gram-negativas (*S. enterica e E. coli*), corroborando com outros estudos que também verificaram atividade de forte inibição de BALs frente a bactérias Gram-negativos (Ferrari *et al.*, 2016; Azat *et al*., 2017).

Segundo Kanmani *et al.* (2013), as características antagônicas das BALs representam um aspecto de grande relevância para saúde pública, pois podem ser usadas como culturas biopreserventes na área da bioconservação e, ainda, podem atuar como agentes inibitórios de infecções gastrointestinais. Em geral, a capacidade antagônica frente a agentes patogênicos está intrinsecamente relacionada à produção de compostos antimicrobianos no metabolismo secundário desse grupo de microrganismos, a citar: ácido láctico, ácido acético e bacteriocinas.

Após os testes de antagonismo, dentre as 40 BALs inicialmente isoladas, foram selecionadas 4 culturas (ABO 02, MA 06, GO 05 e BAN 04) que apresentaram halos de antagonismo superiores a 10 mm frente à, pelo menos, dois microrganismos patógenos testados para seguirem para o teste de tolerância a diferentes valores de pH.

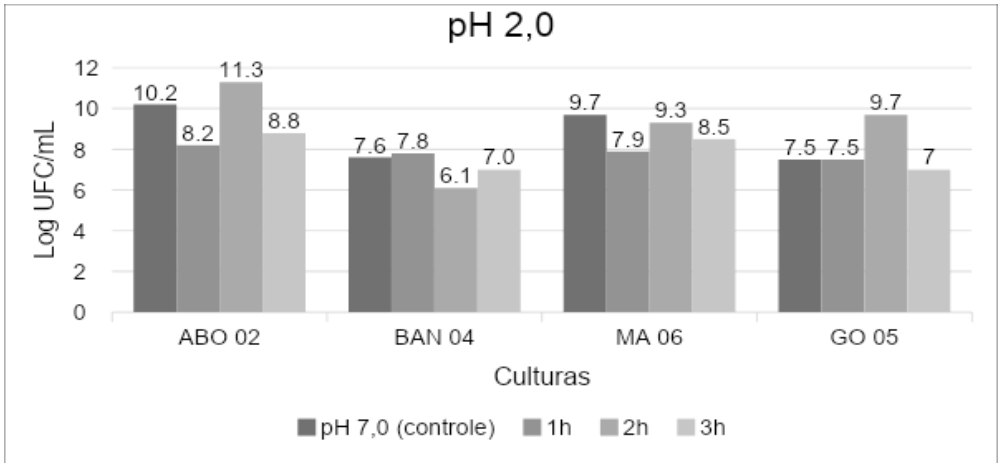
Figura 6 – Crescimento de culturas láticas após exposição à solução de ácido clorídrico.



Fonte: autor

No teste de tolerância a diferentes valores de pH, observou-se que em pH 2,0 as culturas não apresentaram queda abrupta de viabilidade após as 3h de exposição, conforme observa-se na figura 7.

Figura 7 – Enumeração de células viáveis em pH 2,0 nos intervalos de 1, 2 e 3h.

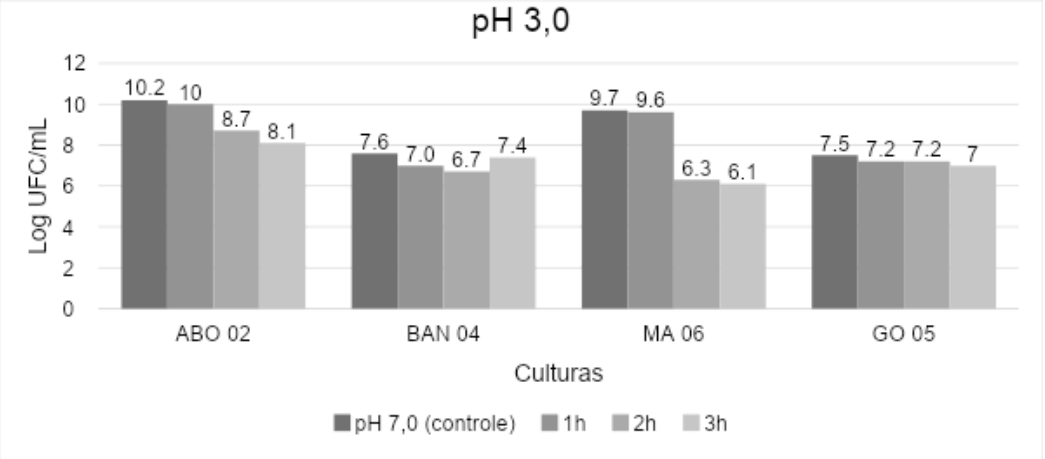


Fonte: Autor

A maior redução observada foi na cultura “ABO 02”, que no intervalo de horas avaliadas (0 a 3h), a contagem de células viáveis variou entre 10,2 e 8,8 Log UFC/mL (com percentual de redução de células viáveis de 13,7%). No caso das culturas “BAN 04” e “GO 05”, observam-se menores percentuais de redução de células viáveis 8 e 7%, respectivamente. Essas duas últimas culturas apresentaram variação de células viáveis entre 7,6 a 7,0 Log UFC/mL e 7,0 a 7,5 Log UFC/mL, respectivamente. Enquanto que na cultura “MA 06”, verificou-se percentuais de redução de células viáveis de 12,4% com variação de 9,7 Log UFC/mL para 8,5 Log UFC/mL após 3h (Figura 7).

Em pH 3,0 as culturas que apresentaram maior redução de células viáveis foram “ABO 02” e “MA 06”, com redução de 20,6% e 37,1%, respectivamente. Todavia, as culturas “BAN 04” e “GO 05” demonstraram redução de 2,6% (variação de 7,6 a 7,4 Log UFC/mL) e 6,7% (variação de 7,5 a 7,0 Log UFC/mL) (Figura 8).

Figura 8 – Enumeração de células viáveis em pH 3,0 nos intervalos de 1, 2 e 3h.



Fonte: Autor

Todas as cepas submetidas a esse teste toleram bem aos pH ácidos avaliados, apresentando baixo percentual de redução de células viáveis após 3h de exposição. Todavia, as culturas “BAN 4”, “GO 05”, destacaram-se pela maior resistência a ambientes ácidos em tempo de exposição de até 3h.

Segundo Avaiyarasi *et al*., 2016, estima-se que 2,5 litros de suco gástrico, com pH em torno de 2,5, é secretado pelo nosso organismo durante a digestão, resultando na morte da maioria dos microrganismos ingeridos. Nesse contexto, entende-se que a resistência ao suco gástrico, durante a digestão, é um importante critério de seleção de cepas probióticas e, respectivamente, a capacidade de resistir às condições ácidas no estômago resulta em maior probabilidade de sobrevivência de culturas de bactérias ácido láticas no trato gastrointestinal humano (Handa e Sharma, 2016).

Diversos trabalhos avaliam a capacidade de resistência à sobrevivência de culturas ácido láticas isoladas de alimentos de origem animal (em especial produtos lácteos) a ambientes ácidos (pH 2,0 e 3,0). Todavia, em geral, muitos relatam que a maioria das culturas isoladas e avaliadas apresentam baixa resistência a condições ácidas que simulam a digestão ao nível do estômago (Argyri *et al*., 2012, Zoumpopoulou *et al.,* 2008, Makete *et al*., 2016; Kumar, 2015).

Em contraste, alguns autores relatam o isolamento de bactérias ácido lácticas autóctone de vegetais e a seleção de culturas com potencial probiótico

e biopreservante (Albuquerque *et al.*, 2017; Garcia *et al.*, 2016). Geralmente, as culturas de bactérias ácido lácticas isoladas de vegetais já estão adaptadas a sobreviverem diante das características fisiológicas dos tecidos vegetais (pH ácido e presença de microbiota competitiva). Assim, observa-se que BALs isoladas de frutas e hortaliças podem apresentar uma maior sobrevivência durante a digestão.

5. CONCLUSÃO

Os resíduos de vegetais mostraram-se promissoras fontes de bactérias ácido láticas com potencial para uso na bioconservação e na produção de probióticos. O presente estudo fez o isolamento e caracterização de 40 culturas de bactérias ácido láticas. Em geral, todas as culturas isoladas apresentaram atividade antimicrobiana, mesmo que fraca para pelo menos um dos patógenos de interesse alimentar avaliados. Todavia, os maiores halos de inibição foram observados frente aos patógenos Gram-negativos (*S. enterica e E. coli*).

Destarte, destaca-se que os resultados observados neste estudo fazem parte de estudo preliminar para caracterização de cepas de bactérias ácido láticas isoladas de resíduos de frutas e hortaliças com potencial antimicrobiano e probióticos. Neste contexto, evidencia-se a necessidade da continuidade do estudo para realização de novos testes, em especial da viabilidade tecnológica dessas culturas e identificação a nível de espécie das cepas que seguirão para as futuras etapas do estudo.

REFERÊNCIAS

ABUSHELAIBI, A.; AL-MAHADIN, S.; EL-TARABILY, K.; SHAH, N. P.; AYYASH, M. Characterization of potential probiotic lactic acid bacteria isolated from camel milk. **LWT - Food Science and Technology**, v. 79, p. 316-325, 2017.

ALBUQUERQUE, T. M. R. *et al*. In vitro characterization of Lactobacillus strains isolated from fruit processing by-products as potential probiotics. **Probiotics & Antimicrobial Proteins**, p. 1–13, 2017.

ALJOHANI, Aeshah Basheer; AL-HEJIN, Ahmed Mahmoud; SHORI, Amal Bakr. Bacteriocins as promising antimicrobial peptides, definition, classification, and their potential applications in cheeses. **Food Science and Technology**, v. 43, p. e118021, 2023.

ALMEIDA JÚNIOR, W. L. G.; FERRARI, I. S.; SOUZA, J. V.; SILVA, C. D. A.; COSTA, M. M.; DIAS, F. S. Characterization an devaluation of lacticacid bactéria isolated fromgo at milk. **Food Control**, London, v. 53, p. 96-103, 2015.

ANTÔNIO, M. B.; BORELLI, B. M. A importância das bactérias ácido láticas na segurança e qualidade dos queijos minas artesanais. R**evista Instituto Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 75, n. 3, p. 204-221, 2020.

ARGYRI, A. A. *et al.* Selection of potential probiotic lactic acid bacteria from fermented olives by in vitro tests. **Food Microbiology,** v. 3, n. 2, p. 282-291, 2012.

ASHAOLU, T. J. Immune boosting functional foods and their mechanisms: A critical evaluation of probiotics and prebiotics. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 130, p. 110625, 2020.

AVAIYARASI, Natarajan Devi *et al*. In vitro selection, characterization and cytotoxic effect of bacteriocin of *Lactobacillus sake*i GM3 isolated from goat milk. **Food Control**, v. 69, p. 124-133, 2016.

AZAT, Ramila *et al*. Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from traditionally fermented Xinjiang cheese. **Journal of Zhejiang University**. Science. B, v. 17, n. 8, p. 597, 2016.

CANCELLA, Marissa Justi *et al.* Bactérias láticas como probióticas, bioconservantes de alimentos e produtoras de bacteriocinas: uma revisão. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 79, n. 1, p. 37-47, 2024.

CHAKARABORTI, C. K. New-found link between microbiota and obesity. **World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology**, v. 6, n. 4, p. 110, 2015.

CHULUCK, Jonas Bruno Giménez *et al.* A influência da microbiota intestinal na saúde humana: uma revisão de literatura. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 6, n. 4, p. 16308-16322, 2023.

COSTA, W. K. A. *et al.* Exploiting antagonistic activity of fruit-derived *Lactobacillus* to control pathogenic bacteria in fresh cheese and chicken meat. **Food Research International**, v. 108, p. 172-182, 2018.

CUBILLO-KOMAROVOVA, Plamen et al. Bacteriocinas y sus aplicaciones: mini-revisión. **Revista Tecnología en Marcha**, p. ág. 73-83, 2024.

DI CAGNO, R. *et al.* Taxonomic structure of the yeasts and lactic acid bacteria microbiota of pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.) and use of autochthonous starters for minimally processing. **Food Microbiology**, United States, v. 27, p. 381-389, 2010.

DIGAITIENE, A. *et al*. Lactic acid bacteria isolated from rye sourdoughs produce bacteriocin-like inhibitory substances active against *Bacillus subtilis* and fungi. **Journal of Applied Microbiology**, v. 112, n. 4, p. 732-742, 2012.

DOS SANTOS, Jucimara Martins et al. Ação dos alimentos funcionais no tratamento do processo inflamatório causado pela obesidade: uma revisão bibliográfica. **Revista Científica do UBM**, p. 23-38, 2020.

FAO/WHO. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. **Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Working Group Report**, 2002.

Faintuch, Joel (ed). Microbioma, disbiose, probióticos e bacterioterapia. BARUERI: **Manole**, 2017. 330p.

FERRARI, Iris da Silva *et al.* Selection of autochthonous lactic acid bacteria from goat dairies and their addition to evaluate the inhibition of *Salmonella typhi* in artisanal cheese. **Food microbiology**, v. 60, p. 29-38, 2016.

FREIRE, Thayná Thamires *et al.* Bactérias ácido lácticas suas características e importância: revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 11, p. e513101119964-e513101119964, 2021.

FURTADO, D. N. *et al.* Bacteriocinogenic *Lactococcus lac*tis subsp. *lactis* DF04Mi isolated from goat milk: Application in the control of *Listeria monocytogenes* in fresh Minas-type goat cheese. **Brazilian Journal of Microbiology,** v. 46, p. 201-206, 2015.

GARCIA, E. F. *et al.* Identification of lactic acid bacteria in fruit pulp processing by-products and potential probiotic properties of selected *Lactobacillus* strains. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1-11, 2016.

GARCIA, E. F. *et al*. Identification of lactic acid bacteria in fruit pulp processing by products and potential probiotic properties of selected *Lactobacillus* strains. **Frontiers in Microbiology**, v. 30, p. 1371, 2016.

GARCIA-GUTIERREZ, E.; MAYER, M. J.; COTTER, P. D.; NARBAD, A. Gut microbiota as a source of novel antimicrobials. **Gut Microbes**, v. 10, n. 1, p. 1-21, 2019.

GARCÍA-RUIZ, A. *et al.* Assessment of probiotic properties in lactic acid bacteria isolated from wine. **Food Microbiology**, v. 44, p. 220-225, 2014.

GARCÍA, P. *et al.* Food biopreservation: promising strategies using bacteriocins, bacteriophages and endolysins. **Trends Food Science and Technology**, Asturias, v. 21, n. 8, p. 373-285, 2010.

GIAZZI, Amanda *et al.* Propriedades tecnológicas das bactérias ácido láticas isoladas na região norte do Paraná. **Brazilian Journal of Developmen**t, v. 6, n. 4, p. 18861-18877, 2020.

GHANBARI, M. *et al*. Seafood biopreservation by lactic acid bacteria: A review. **Food Science and Technology**, Vienna, v. 54, n. 2, p. 315-324, 2013.

GOMES, Eliane da Silva *et al*. Alimentos funcionais integrados com prebióticos e probióticos: uma revisão. **Observatório de La Economia Latinoamericana**, v. 22, n. 5, p. e4911-e4911, 2024.

GONZALEZ-TOLEDO, S. Y. *et al.* Optimization of nisin production by Lactococcus lactis UQ2 using supplemented whey as alternative culture medium. **Journal Food Science**, v. 75, p. 347-353, 2010.

HANDA, S.; SHARMA, N. In vitro study of probiotic properties of *Lactobacillus plantarum* F22 isolated from chhang – A traditional fermented beverage of Himachal Pradesh, India. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, v. 14, p. 91-97, 2016.

HIGASHIKAWA, F. *et al.* Improvement of constipation and liver function by plant-derived lactic acid bacteria: a double-blind, randomized trial. **Nutrition**, United States, v. 26, p. 367-374, 2010.

HILL, C. *et al.* The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, United Kingdom, v. 11, p. 506-514, 2014.

KANMANI, Paulraj et al. Probiotics and its functionally valuable products—a review. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 53, n. 6, p. 641-658, 2013.

KEGELE, C. S. *et al.* Potencial tecnológico de bactérias ácido láticas como bioconservantes: revisão de literatura. **RECIMA21 - Revista Científica Multidisciplinar**, v. 3, n. 5, p. e351418, 2022.

KUMARIYA, R. *et al.* Bacteriocinas: Classificação, síntese, mecanismo de ação e desenvolvimento de resistência em bactérias causadoras de deterioração de alimentos. **Microbial Pathogenesis**, v. 128, p. 171-177, 2019. DOI: 10.1016/j.micpath.2019.01.002.

KUMAR, Ashwani; KUMAR, Dinesh. Characterization of *Lactobacillus* isolated from dairy samples for probiotic properties. **Anaerobe**, v. 33, p. 117-123, 2015.

LEÓN-ROMERO, Á. *et al.* Formation of in vitro mixed-species biofilms by *Lactobacillus pentosus*s and yeasts isolated from Spanish-style green table olive fermentation. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 82, p. 689-695, 2016.

LI, X. *et al*. Effects of *Lactobacillus plantarum* CCFM0236 on hyperglycemia and insulin resistance in high-fat and streptozotocin-induced type 2 diabetic mice. **Journal of Applied Microbiology,** v. 121, p. 1727-1736, 2016.

LIM, S. M.; IM, D. S. Inhibitory effects of antagonistic compounds produced from *Lactobacillus brevis* MLK27 on adhesion of *Listeria monocytogenes* KCTC3569 to HT-29 cells. **Food Science and Biotechnology,** v. 21, p. 775-784, 2012.

LOPES, Daniel Saraiva; BASTOS, Paula Aparecida Martins Borges; REBELLO, Ligia Portugal Gomes. Avanços da aplicação de bactérias ácido láticas com funções probióticas na produção de fermentados láticos: uma revisão. **Vértices** (Campos dos Goitacazes), v. 25, n. 1, p. 1-19, 2023.

MAKETE, Goitsemang; AIYEGORO, Olayinka A.; THANTSHA, Mapitsi S. Isolation, identification and screening of potential probiotic bacteria in milk from South African Saanen goats. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v. 9, p. 246-254, 2017.

MEADE, Elaine; SLATTERY, Mark Anthony; GARVEY, Mary. Bacteriocins, potent antimicrobial peptides and the fight against multi drug resistant species: resistance is futile?. **Antibiotics**, v. 9, n. 1, p. 32, 2020.

ROTHSCHILD, D. et al. Environment dominates over host genetics in shaping human gut microbiota. **Nature**, v. 555, p. 210–215, 2018.

SANTOS, Vitoria Rodrigues. Benefícios dos probióticos na dieta humana: uma revisão bibliográfica. 2023. 48 f. **Trabalho de Conclusão de Curso** (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Uberlândia, Ituiutaba, 2023.

SARAOUI, Taous et al. Inhibition mechanism of *Listeria monocytogenes* by a bioprotective bacteria *Lactococcus piscium* CNCM I-4031. **Food Microbiology**, v. 53, p. 70-78, 2016.

ZOUMPOPOULOU, Georgia *et al.* Lactobacillus fermentum ACA-DC 179 displays probiotic potential in vitro and protects against trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)-induced colitis and *Salmonella* infection in murine models. **International journal of food microbiology**, v. 121, n. 1, p. 18-26, 2008.