



## **AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA BACTERIOCINA P34 FRENTE A LISTERIA MONOCYTOGENES EM QUEIJO MINAS FRESCAL<sup>1</sup>**

*Adriano Brandelli<sup>2</sup>, Amanda de Souza da Motta<sup>3</sup>, Gislaine Hermanns<sup>4</sup>, Stela Maris Meister Meira<sup>5</sup>*

**INTRODUÇÃO:** O surgimento de novos patógenos de origem alimentar, bem como o aumento de microrganismos resistentes aos processos físicos e químicos tradicionais de conservação de alimentos tem gerado grande preocupação quanto à segurança alimentar. Adicionalmente, alimentos naturais sem adição de conservantes químicos e com elevada qualidade nutricional têm sido procurados pelos consumidores, o que desafia as indústrias alimentícias à produção de alimentos minimamente processados e possuidores de longa vida de prateleira. Neste aspecto, novas propostas de conservação de alimentos são imprescindíveis para assegurar e contemplar a produção de alimentos com qualidade em seu sentido mais amplo. Em vista disso, o potencial de antagonismo de alguns microrganismos, assim como de seus metabólitos antimicrobianos tem despertado interesse, sendo a atividade antimicrobiana das bacteriocinas sugerida como alternativa para o controle do desenvolvimento de microrganismos patogênicos e/ou deteriorantes em alimentos. As bacteriocinas constituem um grupo heterogêneo de compostos antimicrobianos produzidos por bactérias, de natureza protéica e sintetizadas ribossomalmente. Diferem quanto ao espectro antimicrobiano, propriedades bioquímicas, mecanismo de ação e características genéticas. Possuem atividade bactericida e bacteriostática geralmente contra espécies estreitamente relacionadas com a espécie produtora. Desse modo, pesquisas visando o estudo de bacteriocinas são importantes devido a sua potencial aplicação na bioconservação de alimentos. A proposta deste estudo foi avaliar o potencial anti-*Listeria* da bacteriocina P34 em queijo minas frescal. A bacteriocina P34 foi isolada de uma espécie do gênero *Bacillus*, previamente purificada e caracterizada. Possui espectro de ação relativamente amplo e apresenta características vantajosas como termoestabilidade e manutenção da atividade em uma ampla faixa de pH, o que permite sua utilização em produtos alimentícios, tais como laticínios, e em processos de alimentos que empregam tratamento térmico e baixas temperaturas. A utilização de *Listeria monocytogenes* neste experimento deveu-se a sua sensibilidade à bacteriocina P34, a sua capacidade de crescimento em produtos laticínios fermentados frescos, como queijo minas frescal, e devido a sua patogenicidade, muito importante sob o ponto de vista de segurança alimentar.

**MATERIAL E MÉTODOS:** Para a avaliação da eficácia da bacteriocina no controle de *L. monocytogenes* em queijo minas frescal, primeiramente, houve a produção da bacteriocina em meio caldo triptona de soja através da preparação de pré-inóculo e inóculo. Após, conduziu-se a purificação parcial que incluiu a precipitação com sulfato de amônio e posterior cromatografia de exclusão molecular. O tratamento consistiu na aplicação da bacteriocina P34 parcialmente purificada e inoculação artificial do microrganismo alvo, linhagem de *L. monocytogenes* ATCC 7644, em amostras de queijo minas frescal. A concentração de bacteriocina aplicada foi de 3200 UA/mL e a concentração de *L. monocytogenes* inoculada aproximadamente  $2 \times 10^7$  UFC/mL. Em paralelo, amostras controle também foram preparadas



para acusar possível contaminação natural do queijo pelo microrganismo em questão e para acompanhamento do crescimento da bactéria inoculada na ausência da bacteriocina. A amostragem foi conduzida em duplicata. Assim, realizou-se o monitoramento do número de células viáveis do patógeno durante 8 dias nas amostras armazenadas a 4 °C, efetuando-se a contagem de unidades formadoras de colônia de *L. monocytogenes* pelo método de Milles & Misra (1938) com modificações, pelo uso de micropipetas, nos tempos 0, 96 e 192 horas. **RESULTADOS:** Os resultados constituem a média das duplicatas e evidenciaram que no tempo zero (1° dia), já foi possível a redução de aproximadamente 3,5 ciclos logarítmicos de *L. monocytogenes* comparativamente ao controle. Isto significa que com a adição da bacteriocina P34 já foi possível observar uma diminuição considerável no número de células do patógeno presentes. Após 96 horas de incubação (4° dia), observou-se pequena variação do número de células viáveis do microrganismo alvo nas amostras tratadas em relação ao 1° dia, assim como houve diminuição de aproximadamente 1,5 ciclos logarítmicos no controle. A alteração da concentração do número de células de *L. monocytogenes* no controle pode ser justificada pela possível ação de outros compostos antimicrobianos no queijo, devido à presença da microbiota láctica natural do produto. E, depois de 192 horas de incubação (8° dia), o controle manteve-se praticamente com a mesma concentração do 4° dia, e todas as células de *L. monocytogenes* foram eliminadas em presença da bacteriocina P34, indicando efeito bactericida, nas condições testadas. Portanto, pode-se dizer que a bacteriocina P34 apresentou efetividade *in situ* e reforçou a segurança microbiológica do queijo minas frescal contaminado artificialmente com *L. monocytogenes*. Ressalta-se, ainda, que este experimento está sendo repetido com algumas modificações para que seja possível reavaliar o efeito da bacteriocina sobre *L. monocytogenes* de forma mais minuciosa. No momento, a nisina é a única bacteriocina aprovada para incorporação direta em queijos, e há vários relatos de que sua aplicação mostrou inibição de *L. monocytogenes* neste tipo de produto. Porém, é de interesse o desenvolvimento de novas bacteriocinas comerciais que reforcem a segurança e qualidade de alimentos, como queijos, considerando que várias linhagens de *L. monocytogenes* têm adquirido resistência às bacteriocinas convencionais. **CONCLUSÃO:** Foi demonstrado que a bacteriocina P34 pode oferecer certo nível de proteção ao alimento analisado. Em vista disso, o conhecimento das propriedades da bacteriocina P34 e os resultados deste estudo sugerem o potencial de aplicação desta bacteriocina em alimentos, fazendo com que estudos para avaliar sua toxicidade sejam necessários, o que justificaria seu uso de forma segura e eficaz no alimento. Pode-se dizer ainda que estudos sobre a otimização da obtenção e purificação da bacteriocina P34 são indispensáveis, objetivando a viabilidade de sua produção em escala industrial. De forma geral, o estudo de bacteriocinas é de grande interesse para a área de alimentos devido à ampla distribuição destas substâncias e à diversidade de propriedades por elas apresentadas e constitui-se em um propósito muito promissor, tendo em vista o potencial biotecnológico como bioconservantes na indústria de alimentos de forma a contribuir para a melhoria da qualidade e segurança de alimentos.

<sup>1</sup> Pesquisa desenvolvida durante o componente curricular Estágio I do curso de Química Industrial de Alimentos



2 Supervisor do estágio - UFRGS

3 Supervisora do estágio - UFRGS

4 Professora orientadora, Mestre do Departamento de Biologia e Química da UNIJuÍ

5 Acadêmica do 8º semestre do curso de Química Industrial de Alimentos da UNIJuÍ/UFRGS