



Área: Ciência de Alimentos

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁCTICAS

Lariane Strack, Luciane Maria Colla, Raíssa Vieira da Silva, Kátia Bitencourt Sartor*

Laboratório de Bioquímica e Bioprocessos, Curso de Engenharia de Alimentos, Departamento de Alimentos, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS

**E-mail: 166367@upf.br*

RESUMO – Há uma crescente demanda dos consumidores por alimentos naturais, sendo de grande interesse desenvolver substâncias naturais e eficazes que substituam os conservantes sintéticos. O crescimento de bactérias pode ocorrer nos alimentos devido às condições ambientais, isto pode ocasionar perdas para a indústria. Desta forma, há a necessidade de desenvolver novas técnicas de controle dessas fontes de contaminação. Os probióticos são microrganismos conhecidos por seus benefícios e por sua capacidade de produzir compostos antimicrobianos, os quais podem ser utilizados como biopreservadores nos alimentos. Dentre os microrganismos probióticos, encontram-se algumas bactérias ácido lácticas que podem produzir substâncias com potencial antimicrobiano denominadas bacteriocinas, capazes de agir contra patógenos. Desta forma, propõe-se realizar a produção de compostos antimicrobianos, a partir de bactérias probióticas utilizando soro de leite como meio de cultivo alternativo, a fim de reduzir o descarte desse subproduto da indústria de alimentos. As bactérias lácticas probióticas foram produzidas por fermentação submersa, analisando a influência de fatores como pH, concentração de NaCl e sacarose no meio para produção de compostos antimicrobianos. A atividade antimicrobiana dos extratos foi realizada frente ao microrganismo indicador *Staphylococcus aureus*, os resultados foram expressos em potencial de inibição. Foram avaliados conforme a metodologia de superfície de resposta estimando os efeitos principais e as interações das variáveis. Conclui-se que a concentração de NaCl influenciou negativamente na produção de compostos antimicrobianos por *L. reuteri*. A sacarose apresentou efeito de interação junto às demais variáveis obtendo-se maiores produções de compostos antimicrobianos nas maiores concentrações. Para BAL *L.Lactis* o pH baixo apresentou diferença significativa comparado a valores mais altos de pH obtendo-se maiores produções de compostos antimicrobianos nos níveis inferiores

Palavras-chave: Bacteriocinas. Microrganismos contaminantes. Meio de cultivo de baixo custo.

1 INTRODUÇÃO

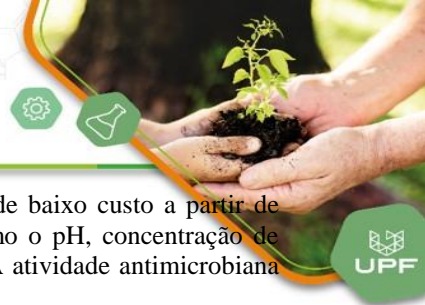
Os microrganismos deteriorantes causam prejuízos às indústrias de alimentos, por alterarem as características sensoriais dos produtos, tornando-os inaceitáveis para consumo e levando ao desperdício de alimentos. Para sanar estes problemas a indústria de alimentos faz uso de conservantes, que possuem função de inibir, retardar ou deter o processo de fermentação, acidificação e outras deteriorações causadas por microrganismos deteriorantes e patogênicos, mantendo as características e o valor nutritivo dos alimentos (JURADO; NAVARRO, 2018; ZHENG et al., 2018; COSTA et al., 2018).

A maioria dos conservantes utilizados em alimentos é de origem sintética, havendo uma crescente demanda dos consumidores por alimentos naturais (MIAO et al., 2015). Devido ao histórico de uso de conservantes sintéticos, alguns microrganismos já se adaptaram ao meio e conseguem se desenvolver mesmo com a adição desses conservantes (FERNANDEZ et al., 2017). Neste sentido, os microrganismos probióticos estão sendo muito pesquisados por sua capacidade de produzir antimicrobianos naturais. Uma alternativa ao uso dos conservantes consiste no uso de extratos de fermentação de bactérias lácticas probióticas produtoras de bacteriocinas.

A biopreservação é uma tecnologia de preservação de alimentos realizada através do uso de biocompostos produzidos em processos fermentativos por bactérias ácido lácticas (BAL), pela ação destes compostos como bactericidas e bacteriostáticos sobre o crescimento de microrganismos indesejáveis, prolongando assim o prazo de validade dos alimentos (Li et al., 2019).

As bacteriocinas são compostos produzidos por bactérias ácido-lácticas com ação biopreservativa, que possuem atividade antimicrobiana, estabilidade física e baixa toxicidade, podendo ser utilizadas para controlar a deterioração de alimentos causada por bactérias patogênicas (O'CONNOR et al., 2015; AHMAD et al., 2017).

A produção de bacteriocinas por bactérias ácido lácticas (BAL) é geralmente realizada em meios de cultura complexos, entretanto, seus altos custos os tornam inadequados para produção em larga escala (LIMA; FERNANDES; CARDARELLI, 2017). O uso do soro de leite é um meio interessante para o crescimento de bacteriocinas e atende ao objetivo de promover a produção econômica de bioprodutos de interesse industrial, já que, é uma alternativa por possuir alta concentração de lactose, presença de vitaminas, minerais, proteínas (SABO et al., 2017), sendo uma forma de reduzir o descarte desse subproduto.



O objetivo do trabalho foi produzir extratos antimicrobianos em meio de cultivo de baixo custo a partir de bactérias ácidos lácticas por fermentação submersa, avaliando a influência de variáveis como o pH, concentração de NaCl, sacarose e tipo de bactéria láctica sobre a produção de compostos antimicrobianos. A atividade antimicrobiana dos extratos obtidos foi testada sobre o crescimento de bactérias patogênicas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 SELEÇÃO DAS BACTÉRIAS ÁCIDO LÁCTICAS

Foram utilizadas 3 bactérias ácido lácticas dentre as disponíveis na UPF. O critério de seleção utilizado foi citações em artigos como produtoras de bacteriocinas, sendo elas: *Bifidobacterium animalis subesp. lactis* (LEMMA) *Lactobacillus lactis* (T.H.T. S.A) e *Lactobacillus reuteri* (Pharmanostra).

2.2 ATIVAÇÃO DAS BACTÉRIAS

As culturas de BAL congeladas em Eppendorf (700 microlitros de BAL + 300 microlitros de glicerol), foram reativadas através de 4 alçadas do microrganismo a 5 mL de caldo MRS (Man Rogosa e Sharpe) com posterior incubação durante 24 h a 37°C. Após ativação, as BAL foram transferidas por esgotamento em estrias com auxílio de uma alça de níquel cromo para placas de petri contendo ágar MRS e posteriormente foram incubadas por 72 horas a 37°C para o crescimento das colônias.

2.3 PRÉ INÓCULO

O pré-inóculo foi realizado em um frasco de erlenmeyer de 125 mL contendo 50 mL de caldo MRS, do processo anterior foi retirado uma alçada da colônia da placa de petri e adicionada ao caldo, sendo fermentado por 24 horas a 37°C em agitador rotativo a 100 rpm.

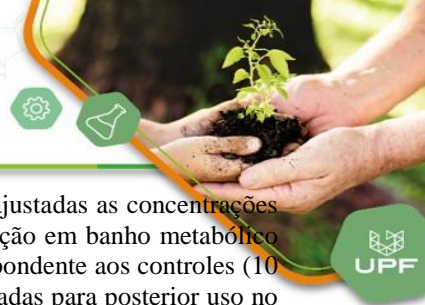
2.4 FERMENTAÇÃO SUBMERSA PARA PRODUÇÃO DE EXTRATOS ANTIMICROBIANOS

As bacteriocinas foram produzidas por fermentação submersa utilizando soro de leite como componente principal do meio de cultivo, variando-se o de pH, as concentrações de sacarose e NaCl segundo o Delineamento Fatorial Completo 2³ com três pontos centrais, apresentado na Tabela 1.

Tabela 1-Delineamento Fatorial Completo 2³ com três pontos centrais para o estudo da influência das variáveis sobre a produção de compostos antimicrobianos por bactérias lácticas

Ensaio	X ₁ (pH inicial)	X ₂ (NaCl %)	X ₃ (Sacarose %)
1	-1 (5)	-1 (1)	-1 (0,5)
2	+1 (7)	-1 (1)	-1 (0,5)
3	-1 (5)	+1 (4)	-1 (0,5)
4	+1 (7)	+1 (4)	-1 (0,5)
5	-1 (5)	-1 (1)	+1 (2,5)
6	+1 (7)	-1 (1)	+1 (2,5)
7	-1 (5)	+1 (4)	+1 (2,5)
8	+1 (7)	-1 (1)	+1 (2,5)
9	0 (6)	0 (2,5)	0 (1,5)
10	0 (6)	0 (2,5)	0 (1,5)
11	0 (6)	0 (2,5)	0 (1,5)

Fonte: elaborado pelo autor



Em frascos de erlenmeyer de 125 mL foram adicionados 60 mL de soro de leite e ajustadas as concentrações de NaCl, Sacarose e pH segundo o delineamento fatorial. Após foi realizado uma pasteurização em banho metabólico sob agitação de 100 rpm durante 15 minutos a 90°C. Neste tempo foi retirada amostra correspondente aos controles (10 mL de cada extrato). As amostras foram centrifugadas a 10.000 rpm por 10 minutos e congeladas para posterior uso no teste de atividade antimicrobiana.

Para inoculação dos meios de fermentação, foram adicionados 5 mL do pré inóculo junto aos meios de cultivo preparados (50 mL restante de soro de leite presente em cada ensaio), para assim iniciar a fermentação. Os frascos foram incubados em agitador rotativo marca Tecnal, modelo TE-421a 100 rpm, 37°C por 72 h. Ao fim da fermentação, os meios foram centrifugados em centrífuga marca Hitachi, CR 22N para separação da biomassa microbiana a 10.000 rpm por 10 min (BARMAN; GHOSH; MANDAL, 2018). Após a centrifugação, os extratos foram congelados até a realização das análises de atividade antimicrobiana.

2.5 ANÁLISE DO POTENCIAL DE INIBIÇÃO DOS EXTRATOS

A atividade antimicrobiana dos extratos foi realizada frente ao microrganismo indicador *Staphylococcus aureus* (Gram positiva). A atividade antimicrobiana foi realizada seguindo a metodologia descrita por Cabo et al., (1999) e Touraki et al. (2012), com modificações.

Foram adicionados 500 µL dos extratos em 5 mL ao caldo BHI. Em seguida, 100 µL de uma suspensão do microrganismo indicador com densidade ótica de 0,1 a 630 nm foram adicionados aos tubos. Os tubos foram incubados a 37°C por 24 horas, sendo posteriormente realizada a leitura da absorbância de cada tubo em espectrofotômetro a 630 nm.

O potencial de inibição do crescimento do organismo indicador foi calculado através da Equação 1, na qual PI é o potencial de inibição (%), Ao é a absorbância do controle (tempo inicial de fermentação, sem a produção de compostos antimicrobianos) e Am a absorbância de cada amostra.

$$PI = \frac{(Ao - Am)}{Ao} \times 100 \quad (1)$$

Os resultados de potencial de inibição foram avaliados conforme a metodologia de superfície de resposta, na qual se estima os efeitos principais e de interação das variáveis analisadas, com nível de significância de 10% ($\alpha < 0,1$) e intervalo de confiança de 90%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do Potencial de Inibição (%) dos extratos das BAL's em fermentação submersa frente ao *Staphylococcus aureus* encontram-se apresentados na Tabela 2

Tabela 2–Potenciais de inibição dos extratos frente ao *S. aureus*

Ensaio	X ₁ (pH inicial)	X ₂ (NaCl %)	X ₃ (Sacarose %)	<i>Lactobacillus lactis</i>	<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Bifidobacterium animalis subesp. lactis</i>
1	-1 (5)	-1 (1)	-1 (0,5)	39,88±0,43	36,01±3,01	3,56±5,84
2	+1 (7)	-1 (1)	-1 (0,5)	0	55,34±4,16	21,57±2,59
3	-1 (5)	+1 (4)	-1 (0,5)	27,50±15,66	35,86±4,47	6,83±3,07
4	+1 (7)	+1 (4)	-1 (0,5)	23,94±20,32	25,05±3,60	1,10±4,87
5	-1 (5)	-1 (1)	+1 (2,5)	40,99±18,52	54,24±1,03	16,87±1,91
6	+1 (7)	-1 (1)	+1 (2,5)	17,07±0,77	52,91±0,81	28,96±3,27
7	-1 (5)	+1 (4)	+1 (2,5)	35,73±4,26	26,70±9,82	12,28±5,93
8	+1 (7)	-1 (1)	+1 (2,5)	14,73±3,17	47,79±2,20	10,01±1,20
9	0 (6)	0 (2,5)	0 (1,5)	38,47±4,93	43,52±2,45	21,70±0,23
10	0 (6)	0 (2,5)	0 (1,5)	42,54±0,92	46,76±1,38	33,59±1,45
11	0 (6)	0 (2,5)	0 (1,5)	41,22±2,20	65,14±0,13	37,38±1,50

Fonte: elaborado pelo autor



A análise estatística dos resultados obtidos através da metodologia de superfície de resposta para o Planejamento Fatorial Completo 2^3 permitiu verificar quais dos fatores estudados (pH, NaCl e Sacarose) possuíam influência na variável de resposta (PI), além de possibilitar a verificação de efeitos de interação entre esses fatores.

A variável NaCl apresentou influência significativa sobre o potencial de inibição dos extratos da bactéria ácido láctica *Lactobacillus reuteri* -15,7723 a 10% de significância. Os ensaios 2 (55,33±4,16) e 5 (54,24±1,03) apresentaram os maiores valores de potencial de inibição, já que esses apresentavam as menores concentrações de NaCl (1%), comparando com os extratos 4 (25,05±3,60) e 7 (26,70±9,82) que tiveram menores potenciais de inibição, contendo maior concentração de NaCl.

Ao verificar os potenciais de inibição da *Lactobacillus lactis* em relação às variáveis, observou-se que o pH apresentou efeito negativo -22,4391. Assim avaliando os ensaios 1 a 8, é possível perceber que quando se aumenta o pH, há uma redução no potencial de inibição dos extratos da *L. lactis*

A Tabela 3 apresenta os efeitos para a influência das variáveis sobre o PI de extratos de bactérias ácido lácticas.

Tabela 3 - Estimativa de efeitos do pH, NaCl e sacarose no potencial de inibição do extratos da BAL's, com 90% de nível de confiança

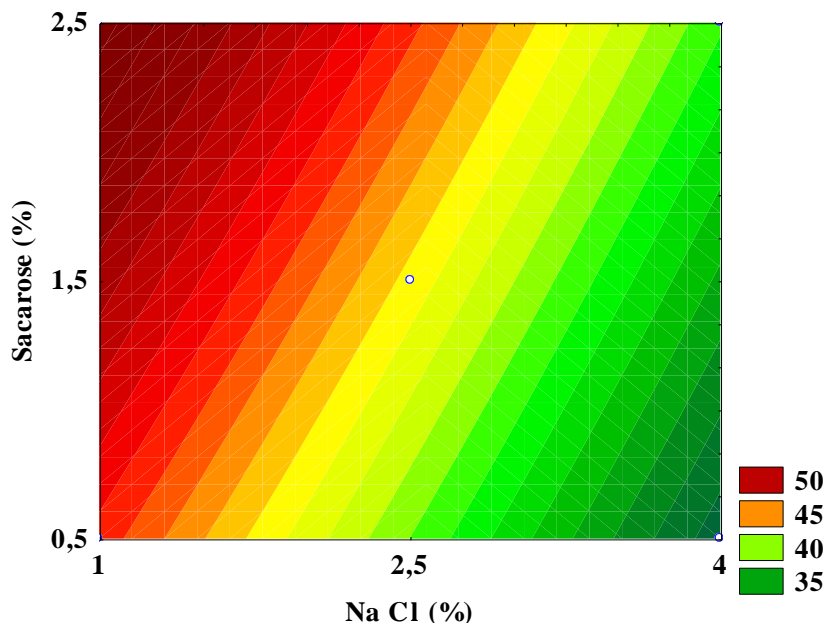
Fator	Efeitos	p
	<i>Lactobacillus lactis</i>	
pH X ₁	-22,4391	0,003373
NaCl (%) X ₂	0,6408	0,922194
Sacarose (%) X ₃	3,9488	0,549676
X1.X2	10,1577	0,136251
X1.X3	-0,0208	0,997472
X2.X3	-4,4409	0,501763
X1.X2.X3	-8,7043	0,078698
	<i>Lactobacillus reuteri</i>	
pH X ₁	7,0710	0,095338
NaCl (%) X ₂	-15,7723	0,001343
Sacarose (%) X ₃	7,3452	0,084334
X1.X2	-1,9297	0,633038
X1.X3	2,8116	0,488660
X2.X3	-0,5553	0,890301
X1.X2.X3	13,1418	0,000010
	<i>Bifidobacterium animalis subesp. lactis</i>	
pH X ₁	5,7842	0,375948
NaCl (%) X ₂	-9,9644	0,134568
Sacarose (%) X ₃	8,40179	0,202212
X1.X2	-9,16065	0,166515
X1.X2	-0,83126	0,896777
X2.X3	-1,80775	0,778073



Fonte: elaborado pelo autor

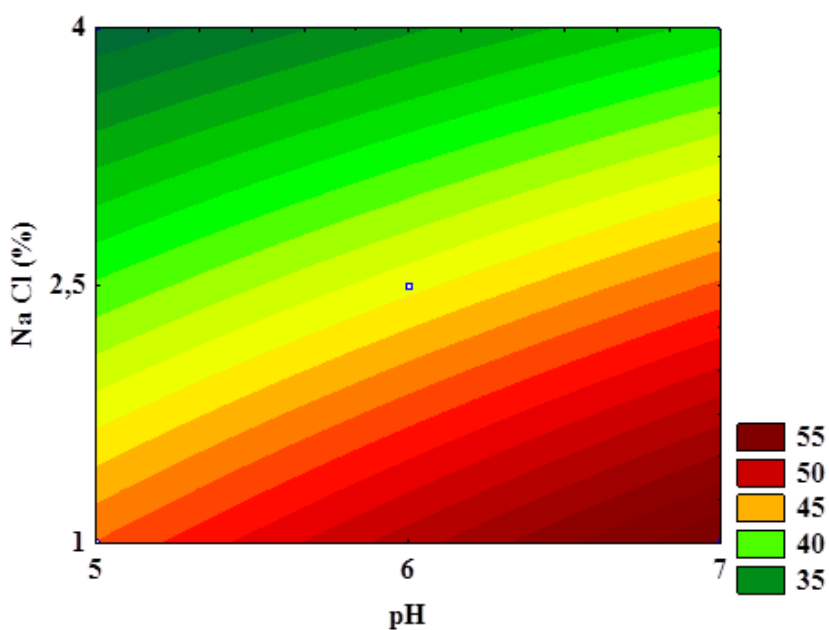
As três variáveis apresentaram efeito significativo a 90% de intervalo de confiança para a produção de antibacterianos pela BAL *Lactobacillus reuteri*, bem como a interação dos fatores, devendo esta ser avaliada em detrimento dos fatores individuais. As superfícies de resposta da influência das variáveis sobre a produção de compostos antibacterianos pela *Lactobacillus reuteri* estão apresentadas nas Figuras 1 e 2.

Figura 1 - Superfícies de Resposta para PI da BAL *Lactobacillus Reuteri* em relação as concentrações de sacarose e NaCl.

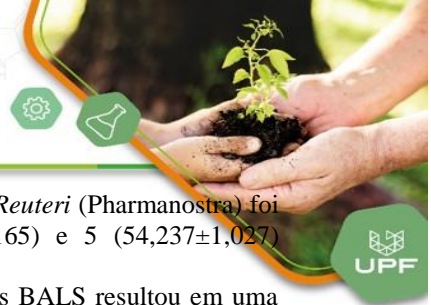


Fonte: elaborado pelo autor

Figura 2 - Superfícies de Resposta para PI da BAL *Lactobacillus Reuteri* em relação a concentração de NaCl e pH



Fonte: elaborado pelo autor



A produção de compostos antimicrobianos pela bactéria ácido láctica *Lactobacillus Reuteri* (Pharmanostra) foi influenciada pelas concentrações de NaCl (efeito negativo). Os ensaios 2 ($55,337 \pm 4,165$) e 5 ($54,237 \pm 1,027$) apresentaram maiores potenciais de inibição.

A concentração crescente de NaCl na produção de compostos antimicrobianos pelas BALS resultou em uma diminuição da atividade antimicrobiana do extrato.

Diferentes modelos matemáticos desenvolvidos para estimar os efeitos do NaCl no comportamento e crescimento microbiano foram estudados por Romero-Gil et al. (2013), onde examinaram o efeito do NaCl e descobriram que as espécies de *Lactobacillus* não eram capazes de crescer em concentrações de NaCl superiores a 4%. (ENGELHARDT et al., 2018). No presente estudo, foi utilizado concentrações de 1, 2,5 e 4% de NaCl e o efeito do aumento da concentração de NaCl nos meios foi negativo para o *L. reuteri* e *Bifidobacterium*, mas somente significativo para o *L. reuteri*.

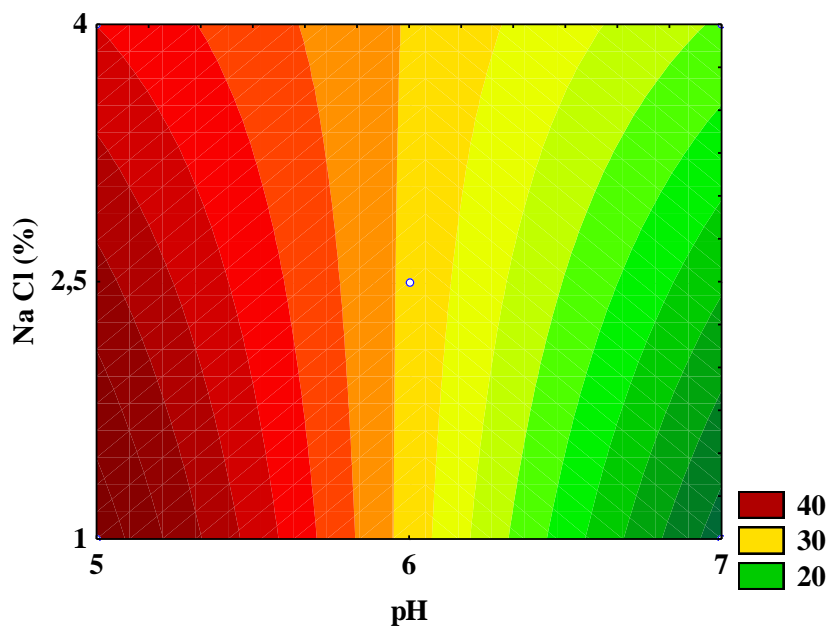
Outro estudo de Verluyten et al. (2004) indicou que o efeito desfavorável do NaCl seria esperado, já que o sal causa um estresse osmótico na célula bacteriana, o que resulta na redução da capacidade de produção de bacteriocinas. Além disso, o NaCl interfere na ligação das bacteriocinas a receptores na membrana celular.

A produção de compostos antimicrobianos pela bactéria ácido láctica *Bifidobacterium animalis subesp. lactis* (LEMMA) não foi influenciada por nenhuma das variáveis, mas mostrou uma tendência que quanto maior a concentração de sacarose, pH próximo ao 7 e menor concentração de NaCl, obtendo assim maior potencial de inibição.

Para as bacterias *Lactobacillus reuteri* e *B. Bacterium* o pH 7 mostrou uma maior tendência para produção de compostos antimicrobianos, o mesmo foi observado por (LEE; KIM; KIM, 2012) que avaliou o efeito do pH inicial de 4,5 até 8,5 encontrando a produção máxima de bacteriocinas no pH de 6,8.

Ao comparar os potenciais de inibição da *Lactobacillus lactis* em relação às variáveis, verificou-se que o pH apresentou efeito negativo $-22,4391$ e significativo 10%. Avaliando-se os ensaios 1 a 8, verifica-se que quando aumenta-se o pH, há uma redução no potencial de inibição dos extratos da *L. lactis*

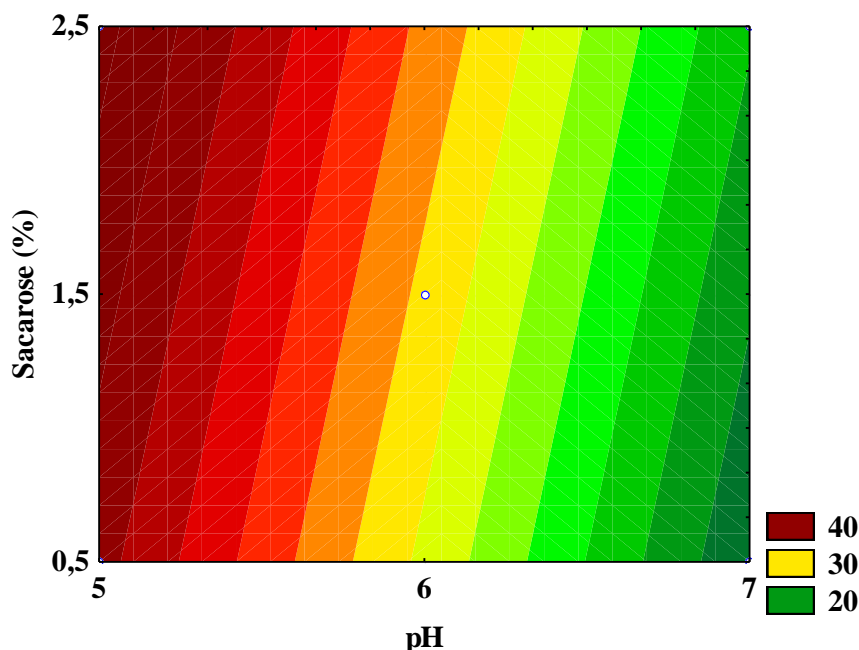
Figura 3 - Superfícies de Resposta para PI da BAL *Lactobacillus lactis* em relação a concentração de NaCl e pH



Fonte: elaborado pelo autor



Figura 4 - Superfícies de Resposta para PI da BAL *Lactobacillus lactis* em relação a concentração de Sacarose e pH



Fonte: elaborado pelo autor

Mataragas et al. (2003), encontrou melhores taxas de atividade e produção de bacteriocinas nos valores de pH de 5,0 e 5,5. Esse pH não coincidiu com o ideal para o crescimento que seria de (6,0-6,5). Mas nesse valor de pH, o rendimento de compostos antimicrobianos atingiu seu nível máximo, $2,7 \times 10^6$ e $1,6 \times 10^6$ AU (gCDM)-1. Esse resultado é semelhante ao obtido em no trabalho, em que maiores atividades antibacterianas foram obtidas em extratos de fermentação com pH 5. Segundo o autor as reações enzimáticas são controladas pelo pH, assim a diminuição do pH resulta em diminuição das reações enzimática. Isso pode ter um efeito positivo na síntese dos compostos antimicrobianos aumentando metabólitos essenciais, incluindo o ATP.

Além disso, o efeito combinado das 3 variáveis para a *L. Lactis* foi significativo de forma negativa, em que as maiores produções de compostos antimicrobianos foram obtidas no pH 5, concentração de NaCl no nível inferior (1%) e nas concentrações de sacarose correspondentes ao ponto central ou superior (de 1,5 a 2,5%).mostrando que além do pH, as concentrações de sacarose e NaCl também influenciam na produção de compostos antimicrobianos

A sacarose foi uma variável que mostrou um efeito semelhante para a obtenção de compostos antimicrobianos para todas as bactérias ácido lácticas, como efeito principal apenas a *L. reuteri* apresentou diferença significativa, já o efeito de interação junto as outras variáveis, obtendo melhores resultados com concentrações maiores ocorreu para as BAL's *L. lactis* e *L. reuteri*. Isso indica que a fonte de carbono ajuda no crescimento das bacteriocinas (METSOVITI et al., 2011).

4 CONCLUSÃO

A concentração de NaCl influenciou negativamente a produção de compostos antimicrobianos por *Lactobacillus reuteri*. Essa tendência também foi observada para a bactéria *bifidobacterium animalis* que mesmo não sendo significativo, quando as concentrações de NaCl aumentavam, os efeitos do potencial de inibição diminuía. O pH em que ocorreu maior produção de antimicrobianos para as duas BAL's *Lactobacillus reuteri* e *Bifidobacterium lactis* foi o pH 6.

Como efeito principal a concentração de sacarose influenciou significativamente na produção de compostos antimicrobianos para BAL's *Lactobacillus reuteri*, mas apresentou efeito de interação junto às demais variáveis, obtendo-se maiores produções de compostos antibacterianos nas maiores concentrações de sacarose.

5 AGRADECIMENTOS

Agradecimento ao PIBIC/CNPq e a Universidade de Passo Fundo.



6 REFERÊNCIAS

- AHMAD, V. et al. Antimicrobial potential of bacteriocins: in therapy, agriculture and food preservation. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 49, p. 1–11, 2017.
- BARMAN, S.; GHOSH, R.; MANDAL, N. C. Production optimization of broad spectrum bacteriocin of three strains of *Lactococcus lactis* isolated from homemade buttermilk. **Annals of Agrarian Science**, v. 16, p. 286–296, 2018.
- CABO, M. L.; MURADO, M. A.; GONZÁLEZ, M. P.; PASTORIZA, L. Um método para a bacteriocina quantificação. **Journal Appl Microbiol**. 87 (6), 907 – 914, 1999.
- COSTA, M. J.; MACIEL, L. C.; TEIXEIRA, J. A.; VICENTE, A. A.; CERQUEIRA, M. A. Use of edible films and coatings in cheese preservation: Opportunities and challenges. **Food Research International**, v. 107, p. 84–92, 2018.
- ENGELHARDT, Tekla et al. Combined effect of NaCl and low temperature on antilisterial bacteriocin production of *Lactobacillus plantarum* ST202Ch. **LWT**, v. 89, p. 104-109, 2018.
- FERNANDEZ, B.; VIMONT, A.; FOUCAULT, E.; DAGA, M.; ARORA, M.; FLISS, I. Antifungal activity of lactic and propionic acid bacteria and their potential as protective culture in cottage cheese. **Food Control**, v. 78, p. 350-356, 2017.
- JURADO, M.; NAVARRO, P. R. Effects of fungal growth on the firmness of a cheese analogue formulated with different casein-to-fat ratios. **Food Science and Technology**, v. 90, p. 145–151, 2018.
- LEE, Yu Mi; KIM, Jun Soo; KIM, Wang June. Optimization for the maximum bacteriocin production of *Lactobacillus brevis* DF01 using response surface methodology. **Food science and biotechnology**, v. 21, n. 3, p. 653-659, 2012.
- LIMA, E. L. C.; FERNANDES, J. M.; CARDARELLI, H. R. Optimized fermentation of goat cheese whey with *Lactococcus lactis* for production of antilisterial bacteriocin-like substances. **Food Science and Technology**, v. 84, p. 710-716, 2017.
- METSOVITI, Maria et al. Biotechnological valorization of low-cost suga-bassed media for bacteriocin production by *Leuconostoc mesenteroides* E131. **New biotechnology**, v. 28, n. 6, p. 600-6009, 2011.
- MATARAGAS, M. et al. Influence of pH and temperature on growth and bacteriocin production by *Leuconostoc mesenteroides* L124 and *Lactobacillus curvatus* L442. **Meat Science**, v. 64, n. 3, p. 265-271, 2003
- MIAO, J.; XU, M.; GUO, H.; HE, L.; GAO, X.; CROOK, C.; XIAO, H.; CAO. Optimization of culture conditions for the production of antimicrobial substances by probiotic *Lactobacillus paracasei* subsp. Tolerans FX-6. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 244–253, 2015.
- O'CONNOR, P. M.; ROSS, R. P.; HILL, C.; COTTER, P. D. Antimicrobial antagonists against food pathogens. ScienceDirect, **Current Opinion**, v.2, p.51–57, 2015.
- ROMERO-GIL, V. et al. Evaluating the individual effects of temperature and salt on table olive related microorganisms. **Food microbiology**, v. 33, n. 2, p. 178-184, 2013.
- SABO, S. S.; RODRIGUEZ, P. N.; DOMINGUEZ, J. M.; OLIVEIRA, S. R. P. Inhibitory substances production by *Lactobacillus plantarum* ST16Pa cultured in hydrolyzed cheese whey supplemented with soybean flour and their antimicrobial efficiency as biopreservatives on fresh chicken meat. **Food Research International**, v. 99, p. 762–769, 2017.
- TOURAKI, M., KARAMANLIDOU, G., KARAVIDA, P., KARAMANOLI, C. Avaliação dos probióticos *Bacillus subtilis* e *Lactobacillus plantarum* bioencapsulados em náuplios de Artemia contra vibriose em larvas de robalos europeus (*Dicentrarchus labrax*, L.). **World J. Microbiol Biotechnol**. 28 (6), 2425 – 2433, 2012.
- VERLUYTEN, Jurgen; LEROY, Frédéric; DE VUYST, Luc. Influence of complex nutrient source on growth of and curvacin a production by sausage isolate *Lactobacillus curvatus* LTH 1174. Appl. **Environ. Microbiol**, v. 70, n. 9, p. 5081-5088, 2004.
- ZHENG, X.; LIU, F.; SHI, X.; WANG, B.; LI, K.; LI, B.; ZHUGE, B. Dynamic correlations between microbiota succession and flavor development involved in the ripening of Kazak artisanal cheese. **Food Research International**, v. 105, p. 733-742, 2018.