

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor,
o texto completo desta tese será
disponibilizado somente a partir
de 28/02/2027



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José do Rio Preto

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - Câmpus de São José do
Rio Preto

Marcello Lima Bertuci

Bactérias ácido lácticas como bioconservantes em produto cárneo
fermentado reduzido de sódio

São José do Rio Preto
2025

Marcello Lima Bertuci

**Bactérias ácido lácticas como bioconservantes em produto cárneo
fermentado reduzido de sódio**

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto, para obtenção do título de Doutor em Engenharia e Ciências de Alimentos.

Área de Concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Andrea Carla da Silva Barretto

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Ana Lúcia Barretto Penna

São José do Rio Preto
2025

B552b

Bertuci, Marcello Lima

Bactérias ácido láticas como bioconservantes em produto cárneo fermentado reduzido de sódio / Marcello Lima Bertuci. -- São José do Rio Preto, 2025

120 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientadora: Andrea Carla da Silva Barretto

Coorientadora: Ana Lúcia Barretto Penna

1. bacteriocinas. 2. fatiamento. 3. segurança. 4. bioconservação. 5. contaminação- Listeria. I. Título.

Marcello Lima Bertuci

**Bactérias ácido lácticas como bioconservantes em produto cárneo
fermentado reduzido de sódio**

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto, para obtenção do título de Doutor em Engenharia e Ciência de Alimentos.

Área de Concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos

Data da defesa: 28/02/2025

Banca Examinadora:

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Andrea Carla da Silva Barretto
UNESP – Campus de São José do Rio Preto
Orientadora

Prof^a. Dr^a. Marise Aparecida Rodrigues Pollonio
UNICAMP – Faculdade de Engenharia de Alimentos

Prof^a. Dr^a. Natalia Soares Janzatti
UNESP – Campus de São José do Rio Preto

Prof. Dr. Tiago Luis Barretto
IFSP – Campus de Barretos

Dedico este trabalho para minha família pelo suporte em todos os momentos desta jornada: meus pais Leonardo Bertuci e Marcilene Lima Bertuci e irmão Leonardo Bertuci Junior.

AGRADECIMENTOS

Agradeço profundamente à minha família por sua constante presença em minha vida, pela confiança e compreensão inabaláveis. Aos meus pais, irmão, expresso minha gratidão pelo carinho, suporte e encorajamento inestimáveis.

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Andrea, expresso meu mais sincero agradecimento pela orientação dedicada, pela paciência e pelo apoio contínuo ao longo de todo o meu doutorado. Sua confiança, generosidade em compartilhar seu conhecimento e os valiosos ensinamentos, tanto acadêmicos quanto sobre a vida, foram fundamentais para a realização deste trabalho.

À minha co-orientadora, Prof^a. Dr^a. Ana Lúcia, gostaria de expressar minha sincera gratidão à orientação e apoio prestados ao longo deste trabalho. Agradeço também pelas sugestões valiosas e por me incentivar a explorar novos caminhos e superar desafios.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

*"A vida é cheia de surpresas. não importa o quão difícil seja, você nunca deve parar de
seguir em frente."*

(Hayao Miyazaki, A viagem de Chihiro, 2001)

RESUMO

A crescente demanda por produtos cárneos mais saudáveis impulsionou a busca por alternativas que garantam qualidade e segurança microbiológica. A bioconservação, com o uso de microrganismos benéficos como as bactérias ácido lácticas (BAL), tem se mostrado eficaz no controle de contaminação microbiológica. Este estudo avaliou o uso de cepas de BAL potencialmente probióticas em produtos cárneos fermentados com redução de sódio, focando na inibição de *Listeria* e na melhoria das características sensoriais e tecnológicas. As cepas *Lactocaseibacillus casei* SJRP38, SJRP146, *Lactocaseibacillus paracasei* BGP1 e *Lactobacillus rhamnosus* LGG foram avaliadas quanto ao crescimento em condições típicas de fermentação, considerando pH, concentração de sais e nitrito de sódio. A cepa BGP1 apresentou os melhores resultados em termos de crescimento e inibição de patógenos, com bom potencial tecnológico para produtos cárneos fermentados. *Listeria monocytogenes* representa um risco significativo à saúde, especialmente em produtos fatiados, devido à sua resistência a temperaturas de refrigeração. A aplicação das cepas de BAL permitiu reduzir o teor de sódio sem comprometer as características sensoriais, tecnológicas e a segurança microbiológica. A incorporação de cepas *Lactocaseibacillus paracasei* BGP1 e *Lactiplantibacillus plantarum* ST8SH em produto cárneo fermentado reduzido de sódio, submetidos ao fatiamento e inoculados com *Listeria innocua*, demonstrou ótima inibição de *Listeria* em armazenamento a 4°C por 7 dias. A combinação da ação antimicrobiana das BAL com a redução de sódio atende à demanda por produtos com rótulos simplificados e seguros para consumo. Este estudo destaca o potencial das BAL como bioconservantes eficientes em produto cárneo fermentado reduzido de sódio, garantindo maior segurança microbiológica e preservando a qualidade do produto final.

Palavras-Chave: bacteriocinas; fatiamento; segurança; bioconservação, contaminação-*Listeria*.

ABSTRACT

The increasing demand for healthier meat products has driven the search for alternatives that ensure quality and microbiological safety. Bioconservation, through the use of beneficial microorganisms such as lactic acid bacteria (LAB), has proven effective in controlling microbiological contamination. This study evaluated the use of potentially probiotic LAB strains in sodium-reduced fermented meat products, focusing on inhibiting *Listeria* and improving sensory and technological characteristics. The strains *Lacticaseibacillus casei* SJRP38, SJRP146, *Lacticaseibacillus paracasei* BGP1, and *Lactobacillus rhamnosus* LGG were assessed for growth under typical fermentation conditions, considering pH, salt concentration, and sodium nitrite. The BGP1 strain exhibited the best results in terms of growth and pathogen inhibition, showing promising technological potential for fermented meat products. *Listeria monocytogenes* represents a significant health risk, especially in sliced products, due to its resistance to refrigeration temperatures. The application of LAB strains enabled the reduction of sodium content without compromising sensory characteristics, technological properties, or microbiological safety. The incorporation of *Lacticaseibacillus paracasei* BGP1 and *Lactiplantibacillus plantarum* ST8SH strains in sodium-reduced fermented meat products, subjected to slicing and inoculated with *Listeria innocua*, demonstrated excellent inhibition of *Listeria* during storage at 4°C for 7 days. The combination of the antimicrobial action of LAB with sodium reduction meets the demand for products with simplified labels and safety for consumption. This study highlights the potential of LAB as effective bioconservants in sodium-reduced fermented meat products, ensuring enhanced microbiological safety while preserving the quality of the final product.

Keywords: bacteriocins; slicing; safety; biopreservation; *Listeria*-contamination.

LISTA DE FIGURAS

Preserving flavor, enhancing health: the role of lactic acid bacteria in reformulating fermented meat sausages for innovation

Figure 1 - Reformulating fermented meat products.....55

Figure 2 - Application of lactic acid bacteria in meat products.....56

Figure 3 - Diversity of bacteriocin classes.....57

BIO PROTECTIVE CAPACITY OF POTENTIALLY PROBIOTIC LACTICASEIBACILLUS STRAINS IN FERMENTED SAUSAGE

Figure 1 - Comparison of growth of *Lacticaseibacillus casei* SJRP38, *Lacticaseibacillus casei* SJRP146, *Lacticaseibacillus paracasei* BGP1, *Lacticaseibacillus rhamnosus* LGG in MRS modified for 24 h at 37°C.....83

Figure 2 - Lactic Acid Bacteria count (A) and *Lacticaseibacillus casei* count (B) during ripening time of fermented sausage.....84

Lactic acid bacteria as biopreservative for sodium-reduced fermented sausage: evaluation of technological and antimicrobial properties and post-slicing *Listeria* control.

Figure 1. Lactic Acid Bacteria count (A) and *Lacticaseibacillus casei* count (B) during ripening time of fermented sausage.....110

Figure 2. Lactic Acid Bacteria count (A) and *Lacticaseibacillus casei* count (B) in sliced fermented sausage.....111

Figure 3. *Listeria* count in sliced fermented sausage.....112

LISTA DE TABELAS

Preserving flavor, enhancing health: the role of lactic acid bacteria in reformulating fermented meat sausages for innovation

Table 1 - Application of lactic acid bacteria in reformulated fermented meat products and their challenges.....58-59

Table 2 - Application of bacteriocin-producing lactic acid bacteria in fermented meat products.....60-61

BIO PROTECTIVE CAPACITY OF POTENTIALLY PROBIOTIC LACTICASEIBACILLUS STRAINS IN FERMENTED SAUSAGE

Table 1 - Inhibition zone by Lactic Acid Bacteria about target bacteria in food.....85

Table 2 - Effect of *Lacticaseibacillus* strain in the ripening process of fermented sausage....86

Table 3 - Proximate composition of fermented sausage with *Lacticaseibacillus* strains, after 20 days of ripening.....87

Table 4 - Effect on texture parameters and instrumental color of fermented sausage with *Lacticaseibacillus* strains, after 20 days of ripening.....87

Table 5 - Effect on lipid oxidation (mg MDA/kg) in fermented sausage with *Lacticaseibacillus* strains.....87

Lactic acid bacteria as biopreservative for sodium-reduced fermented sausage: evaluation of technological and antimicrobial properties and post-slicing *Listeria* control.

Table 1 - Formulations utilized in this study for producing fermented meat products.....113

Table 2 - Effect of *Lacticaseibacillus* strain in the ripening process of fermented sausage.....114

Table 3 - Proximate composition of fermented sausage with lactic acid bacteria strains, after ripening.....115

Table 4 - Effect on texture parameters and instrumental color of fermented sausage with <i>Lactocaseibacillus</i> strains, after 20 days of ripening.....	115
Table 5 - Effect on lipid oxidation (mg MDA/kg) in fermented sausage with LAB strains....	116

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	13
2. PRESERVING FLAVOR, ENHANCING HEALTH: THE ROLE OF LACTIC ACID BACTERIA IN REFORMULATION FERMENTED MEAT SAUSAGES FOR INNOVATION.....	188
3. BIO PROTECTIVE CAPACITY OF POTENTIALLY PROBIOTIC <i>LACTICASEIBACILLUS</i> STRAINS IN FERMENTED SAUSAGE.....	62
4. LACTIC ACID BACTERIA AS BIOPRESERVATIVE FOR SODIUM-REDUCED FERMENTED SAUSAGE: EVALUATION OF TECHNOLOGICAL AND ANTIMICROBIAL PROPERTIES AND POST-SLICING <i>LISTERIA</i> CONTROL.....	88
5. CONCLUSÃO GERAL	117
REFERÊNCIAS.....	118

1. INTRODUÇÃO GERAL

A crescente demanda por produtos cárneos com rótulo limpo tem impulsionado a indústria a buscar alternativas para o uso de conservantes e aditivos, sem comprometer as características sensoriais e a qualidade desses produtos (SAUL AIS et al., 2023). Paralelamente, mudanças na rotina da população têm aumentado a preferência por produtos prontos para consumo, devido à conveniência que oferecem (BANERJEE, 2021).

A reformulação de produtos cárneos fermentados é uma estratégia adotada para melhorar a qualidade nutricional e sensorial, ajustando

e processos de produção. Esse processo pode ser motivado por fatores como preocupações com a saúde, preferências dos consumidores e regulamentações governamentais (HU et al., 2022). Entre os principais desafios dessa reformulação está a redução do teor de sódio, fundamentada pela redução do cloreto de sódio, um ingrediente que auxilia na redução da atividade de água, proporciona melhoria do sabor e da textura, e ajuda na segurança microbiológica. O cloreto de sódio desempenha um papel crucial na inibição do crescimento microbiano, sendo necessário o desenvolvimento de estratégias alternativas para manter a estabilidade e segurança dos produtos fermentados com teor reduzido desse composto (SIRINI et al., 2022).

Nesse contexto, abordagens baseadas em bioconservação têm atraído grande interesse, especialmente com o uso de bactérias ácido lácticas (BAL) produtoras de bacteriocinas, ácidos orgânicos, e outros componentes. Essas bactérias apresentam atividade antimicrobiana contra microrganismos Gram-positivos, incluindo patógenos como *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus* (MARTÍN et al., 2022). Estudos demonstraram a eficácia das

bacteriocinas na inibição de *L. monocytogenes* em produtos cárneos fermentados (FERNANDEZ, 2023; YANG, 2018).

A *Listeria monocytogenes* representa um risco para a segurança de alimentos, sendo a quinta zoonose mais notificada na União Europeia em 2020, com 2.183 casos e uma taxa de letalidade de 11,5% (EFSA & ECDC, 2022). Esse patógeno apresenta alta resistência a diferentes condições ambientais, podendo crescer em temperaturas variando de -1,5 °C a 45 °C, faixas de pH entre 4,2 e 9,5, e em atividade de água (*a_w*) superior a 0,90. Além disso, sua capacidade de formar biofilmes a torna persistente em ambientes de processamento, elevando o risco de contaminação na indústria cárnea (FERNÁNDEZ et al., 2023).

A *Listeria monocytogenes* é um patógeno amplamente disseminado no ambiente, sendo frequentemente detectado em solos, água e na matéria orgânica em decomposição. Sua presença em alimentos contaminados, especialmente em produtos cárneos fatiados como presunto, salame e mortadela, tem sido associada a surtos de listeriose. Esse risco é potencializado pela capacidade da bactéria de sobreviver e multiplicar-se mesmo sob refrigeração e formar biofilmes em superfícies biológicas e não biológicas, o que a torna particularmente preocupante para a indústria de alimentos (LAKICEVIC et al., 2015; CALVO-ARRIETA et al., 2021; BEHBAHANI et al., 2024). Os biofilmes são agregados estruturados de microrganismos aderidos a superfícies, representando uma forma predominante de crescimento microbiano no ambiente natural. Essas comunidades microbianas apresentam elevada resistência a condições adversas, incluindo temperaturas extremas, alta salinidade, limitação de nutrientes, radiação ultravioleta, pressões elevadas e a ação de agentes antimicrobianos (LIU et al., 2022; ROY, SONG & PARK 2022).

Produto cárneo fermentado, como o salame, é composto por carne suína, gordura suína, sal, conservantes e especiarias. Durante a fermentação, ocorre um processo bioquímico, no qual

as bactérias ácido lácticas (BAL) desempenham um papel fundamental, sendo responsáveis por iniciar e regular a fermentação do produto, garantindo as características sensoriais e microbiológicas do produto (LI et al., 2023). No entanto, esse tipo de embutido não passa por tratamento térmico, o que reforça a necessidade do uso de concentrações adequadas de cloreto de sódio e aditivos para garantir sua segurança microbiológica (ZHANG et al., 2020). Dessa forma, a redução do teor de sódio apresenta desafios não apenas em relação às características sensoriais do produto, mas também à sua estabilidade microbiológica.

As bactérias ácido lácticas (BAL) são amplamente utilizadas na produção de alimentos fermentados e têm sido estudadas como agentes de bioconservação devido às suas propriedades antimicrobianas. Essas bactérias contribuem para a segurança do alimento ao inibir o crescimento de patógenos e prolongar a vida útil dos alimentos perecíveis (FERNÁNDEZ et al., 2023). Alguns estudos demonstram a eficácia de algumas cepas de BAL na bioconservação de produtos cárneos fermentados (BUNGENSTOCK et al., 2021; CINAR et al., 2018; HUANG et al., 2022).

Diante desse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a aplicação de cepas de bactérias ácido lácticas (BAL) como agentes de bioconservação em produtos cárneos fermentados reduzido de sódio.

5. CONCLUSÃO GERAL

No contexto dos produtos cárneos fermentados, a crescente demanda por alternativas mais naturais e com menor adição de aditivos tem impulsionado a reformulação desses alimentos. A redução do teor de sódio e de conservantes, embora alinhada às tendências de consumo, pode impactar a estabilidade microbiológica do produto, tornando essencial a adoção de estratégias complementares de conservação, como a bioconservação.

Nesse sentido, a aplicação de bactérias ácido lácticas como agentes bioconservantes em produtos cárneos fermentados reduzidos de sódio demonstrou uma estratégia promissora. As bactérias ácido lácticas, responsáveis por auxiliar a fermentação do produto, podem contribuir para a segurança microbiológica, inibindo o crescimento de patógenos como *Listeria*, especialmente em produto cárneo fermentado fatiado, suscetível à contaminação. A utilização desses microrganismos pode atender ainda às exigências dos consumidores por alimentos mais saudáveis e naturais. Assim, a indústria de alimentos tem a oportunidade de avançar no desenvolvimento de produtos inovadores, que conciliam conveniência, qualidade sensorial e segurança do alimento. A pesquisa contínua e o aprimoramento das técnicas de bioconservação são fundamentais para superar os desafios inerentes à reformulação de produtos cárneos fermentados. A identificação de novas bactérias ácido lácticas potencialmente probióticas pode ampliar suas aplicações não apenas nesses produtos, mas também em outras categorias de produtos cárneos. Esse avanço pode fornecer soluções eficazes para a indústria, garantindo a produção de alimentos seguros e de qualidade, alinhados às novas exigências do mercado e da legislação.

REFERÊNCIAS

- BANERJEE, S. A Comprehensive Review on the Economic Status of the Global Convenience Food Industry. **International Journal of Business, Management and Economics**, v. 2(1), p. 43-52, 2021.
- BEHBAHANI, B. A., NOSHAD, M., VASIEE, A., BRÜCK, W. M. Probiotic *Bacillus* strains inhibit growth, biofilm formation, and virulence gene expression of *Listeria monocytogenes*. **Lwt**, 191, 115596, 2024.
- BUNGENSTOCK, L., ABDULMAWJOOD, A., REICH, F. Suitability of lactic acid bacteria and deriving antibacterial preparations to enhance shelf-life and consumer safety of emulsion type sausages. **Food microbiology**. v. 94, 103673, 2021.
- CALVO-ARRIETA, K., MATAMOS-MONTOYA, K., ARIAS-ECHANDI, M. L., HUETE-SOTO, A., REDONDO-SOLANO, M. Presence of *Listeria monocytogenes* in Ready-to-Eat Meat Products Sold at Retail Stores in Costa Rica and Analysis of Contributing Factors. **Journal of Food Protection**. v. 84, i. 10, p. 1729-1740. 2021.
- CINAR, K., KABAN, G., BOREKCI, B. S., GULLUCE, M., KARADAYI, M., KAYA, M. Identification and characterization of lactic acid bacteria isolated from sucuk, a traditional Turkish dry-fermented sausage. **Journal of Biotechnology**. v. 280, s. 30, p. s61, 2018.
- EFSA & ECDC. The European union one health 2021 zoonoses report. **EFSA Journal**, p. 273, 2022.
- FERNÁNDEZ, M., HOSPITAL, X. F., CABALLERO, N., JIMÉNEZ, B., SÁNCHEZ-MARTÍN, V., MORALES, P., HAZA, A. I., HIERRO, E. (2023). Potential of selected bacteriocinogenic lactic acid bacteria to control *Listeria monocytogenes* in nitrite-reduced fermented sausages. **Food Control**, v. 150, 109724, 2023.
- HU, Y., WANG, J., LIU, Q., WANG, Y., REN, J., CHEN, Q., KONG, B. Unraveling the difference in flavor characteristics of dry sausages inoculated with different autochthonous lactic acid bacteria. **Food Bioscience**. v. 47, 101778, 2022.

HUANG, L., HWANG, C. A., LIU, Y., RENYE, J., JIA, Z. Growth competition between lactic acid bacteria and *Listeria monocytogenes* during simultaneous fermentation and drying of meat sausages – Amathematical modeling. **Food Research International**. v. 158, 111553, 2022.

LAKICEVIC, B., NASTASIJEVIC, I., RASETA, M. Sources of *Listeria monocytogenes* contamination in retail establishments. **Procedia Food Science**. v. 5, pp. 160-163, 2015.

LI, Y., CAO, Z., YU, Z., ZHU, Y., ZHAO, K. Effect of inoculating mixed starter cultures of *Lactobacillus* and *Staphylococcus* on bacterial communities and volatile flavor in fermented sausages. **Food Science and Human Wellness**. v. 12, I.1, p. 200-211, 2023.

LIU, S., DENG, S., LIU, H., TANG, L., WANG, M., XIN, B. Four novel Leaderless bacteriocins, bacin A1, A2, A3, and A4 exhibit potent antimicrobial and antibiofilm activities against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Microbiology Spectrum**, 10(5), Article e00945-00922, 2022.

MARTÍN, I., RODRÍGUEZ, A., DELGADO, J., CÓRDOBA, J. J. Strategies for biocontrol of *Listeria monocytogenes* using lactic acid bacteria and their metabolites in ready-to-eat meat- and dairy-ripened products. **Foods**. v. 11, p. 542, 2022.

ROY, P. K., SONG, M. G., & PARK, S. Y. (2022). The inhibitory effect of quercetin on biofilm formation of *Listeria monocytogenes* mixed culture and repression of virulence. **Antioxidants**, 11(9), 1733.

SAULAIS, L., CORCUFF, R., BOONEFAES, E. Natural and healthy? Consumers knowledge, understanding and preferences regarding naturalness and healthiness of processed foods. **International Journal of Gastronomy and Food Science**. v.31, 100662, 2023.

SIRINI, N.; MUNEKATA, P.E.S.; LORENZO, J.M.; STEGMAYER, M.Á.; PATEIRO, M.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J.Á.; SEPÚLVEDA, N.; SOSA-MORALES, M.E.; TEIXEIRA, A.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. Development of Healthier and Functional Dry Fermented Sausages: Present and Future. **Foods**. v. 11, 1128, 2022.

YANG, E., FAN, L., YAN, J., JIANG, Y., DOUCETTE, C., FILLMORE, S., WALKER, B. Influence of culture media, pH and temperature on growth and bacteriocin production of bacteriocinogenic lactic acid bacteria. **AMB Express**, v. 8, p. 10, 2018.

ZHANG, Y., QIN, Y., WANG, Y., HUANG, Y., LI, P., LI, P. *Lactobacillus plantarum* LPL-1, a bacteriocin producing strain, changed the bacterial community composition and improved the safety of low-salt fermented sausages. **LWT**. v. 128, 109385, 2020.