



VI CONGRESSO LATINOAMERICANO
E XII CONGRESSO BRASILEIRO DE
**HIGIENISTAS
DE ALIMENTOS**
II ENCONTRO NACIONAL DE VIGILÂNCIA DAS ZOOSESES
IV ENCONTRO DO SISTEMA BRASILEIRO
DE INSPEÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL

23 a 26
Abril de 2013

Hotel Serrano Resort
Gramado - RS

OS ALIMENTOS SOB A ÓTICA
DA SUSTENTABILIDADE:
ENTRE A CONSCIÊNCIA E A PRÁTICA

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE SOJA CONTRA PATÓGENOS TRANSMITIDOS POR ALIMENTOS

EVALUATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF SOY EXTRACTS AGAINST FOOD-BORNE PATHOGENS

Natália BOIA¹, Ana Lúcia PENTEADO², Gabriela DIAS³, Alexandre PORTE⁴, Maria Gabriela Bello KOBLITZ⁵

¹ Nutricionista, mestranda em Alimentos e Nutrição – PPGAN/UNIRIO

² Pesquisadora – Embrapa Agroindústria de Alimentos

³ Aluna de graduação em Nutrição – UNIRIO

⁴ Professor adjunto – DTA/EN/UNIRIO

⁵ Professora adjunta – DTA/EN/UNIRIO

Palavras-chave: bactérias Gram positivas, bactérias Gram negativas, antibacterianos, compostos bioativos, infecção alimentar.

Introdução

A contaminação de alimentos é um problema sério uma vez que causa grandes índices de morbidade (SHAH et al., 2000). A incidência de infecções bacterianas em seres humanos está se tornando uma grande preocupação em ambos setores, de alimentos e médico, em todo o mundo, gerando a necessidade de novos agentes terapêuticos. É necessário que sejam desenvolvidas alternativas de conservação para que, aliadas às tecnologias existentes, seja possível disponibilizar alimentos mais seguros sob o ponto de vista microbiológico (GÁLVEZ et al., 2010).

As doenças infecciosas estão entre as principais causas de óbito em seres humanos causadas, sobretudo, por agentes resistentes a antibióticos. O grande número de cepas resistentes pode ser devido ao uso indiscriminado de antibióticos por homens e animais e pela aplicação não criteriosa de defensivos agrícolas e agrotóxicos. O desmatamento e as mudanças climáticas promovem ainda a convivência íntima entre homens e animais silvestres, possibilitando a transmissão de patógenos desconhecidos (LOHNER, 2001).

Os vegetais possuem um sistema de defesa antimicrobiana que envolve a defesa induzida, disparada na ocorrência do ataque, e a defesa constitutiva, composta por substâncias normalmente presentes nos tecidos. Diversas moléculas já foram relacionadas com o sistema defensivo vegetal: quitinases, glicosídeos cianogênicos e alcalóides, peptídeos e espécies reativas do oxigênio (GARCIA-OLMEDO et al., 2001).

A soja apresenta uma variedade de compostos com potencial atividade antimicrobiana, alguns exemplos serão discutidos a seguir. Saponinas, são glicosídeos formados por uma porção lipídica (sapogenina), que pode ser composta por um esteróide ou um triterpeno, ligada à glicoses, galactoses e/ou a pentoses, e estão presentes no grão de soja em concentrações consideradas elevadas (6,5g/Kg) (KOBLITZ, 2011). Apresentam ação antifúngica relacionada à sua capacidade de interagir com as membranas celulares provocando a formação de poros (NASCIMENTO, 2003). Fitoalexinas são compostos fenólicos flavonóides que, diferentemente das saponinas, são produzidos apenas face ao ataque de patógenos. Em soja são conhecidas as gliceolinas, com atividade antipatogênica (BURDEN; BAILEY, 1975).

Embora a atividade antimicrobiana de diversos compostos de origem vegetal venha sendo reconhecida, ainda não há aplicação comercial dos produtos estudados e pouco se sabe sobre a ação antibacteriana de extratos de soja sobre patógenos transmitidos por alimentos. Objetivou-se com esse trabalho avaliar a ação do extrato aquoso de torta de soja sobre diferentes bactérias patogênicas causadoras de infecções de origem alimentar.

Material e Métodos



1. Obtenção do extrato aquoso de torta desengordurada de soja

A torta de soja seca, desengordurada e dessolventizada foi moída em moinho de facas. A extração das proteínas foi realizada utilizando a proporção de 5g de torta para 100mL de solução tampão no valor de pH 9,0 de acordo com processo otimizado para extração de proteínas da torta (BOIA; KOBELITZ, 2012). A amostra foi homogeneizada em “blender” durante 2 minutos e posteriormente filtrada em filtro de algodão. Este filtrado foi submetido à centrifugação a 4.000xg durante o período de 15 minutos (SILVA et al., 2012).

2. Avaliação da atividade antimicrobiana

Foi utilizado o método de difusão em poços de ágar (WAN et al., 1998). Cepas padrão de *Bacillus cereus*; *Listeria monocytogenes*; *Staphylococcus aureus* (bactérias Gram positivas) e *Escherichia coli*; *Salmonella* Brasil e *Salmonella* Enteritidis (bactérias Gram negativas) provenientes da coleção de culturas do laboratório de Microbiologia de Alimentos da Embrapa Agroindústria de Alimentos (CTAA) foram utilizadas neste estudo.

Foram preparadas, para cada cultura, suspensões de turbidez padronizadas com o auxílio de um aparelho medidor de turbidez (Densimat), correlacionando com contagens em placas. Desta forma, foi possível padronizarem-se inóculos semeados de 10^7 UFC/g para uso nos experimentos.

As placas foram incubadas nas temperaturas ótimas de crescimento de cada microrganismo (*B. cereus* e *L. monocytogenes* 30°C; *E. coli* 37°C; *S. aureus*, *S. Brasil* e *S. Enteritidis* 35°C) e as zonas de inibição foram medidas utilizando régua graduada em milímetros, após 24h e 48h de incubação. Como controle positivo aplicou-se nas placas uma solução de Clorexidina 0,12%, e como controle negativo a solução tampão utilizada para obtenção do extrato aquoso da torta desengordurada de soja.

Resultados e Discussão

O extrato de soja testado apresentou atividade inibitória contra todos os microrganismos testados (Figuras 1 e 2), com médias de halos de inibição variando de 10mm contra *S. Enteritidis* e 27mm contra *B. cereus*, comprovando a capacidade de compostos extraídos da torta de soja, por meio de extração aquosa, de inibir o crescimento de bactérias patogênicas causadoras de doenças transmitidas por alimentos.

Os maiores halos foram observados contra bactérias Gram positivas, o que pode estar relacionado com a composição de sua parede celular. Acredita-se que a maior parte dos compostos com atividade antimicrobiana no extrato, especialmente saponinas e peptídeos naturais da soja, tenham ação sobre a membrana celular (NASCIMENTO, 2003) e que a penetração desses compostos através da parede é mais facilitada em bactérias Gram positivas, que não possuem recobrimento glicoproteico do peptídeoglicano, como acontece com as bactérias Gram negativas (SALAZAR; ANSEJO, 2007).

De acordo com Nwachukwu et al. (2013), as gliceolinas da soja apresentam comprovada atividade antifúngica *in vitro* e sua síntese *in vivo* pode ser responsável pela resistência de plantas de soja ao ataque de fungos fitopatogênicos. Esses mesmos autores, citando trabalhos realizados na década de 80, informam que o glicinol, um precursor das gliceolinas, apresentou efeito inibitório no crescimento de diversas bactérias (*Erwinia carotovora*, *Pseudomonas glycinea*, *Escherichia coli*, *Xanthomonas phaseoli* e *Bacillus subtilis*) e que seu mecanismo de ação, assim como o das gliceolinas, deve estar relacionado com interações entre esses compostos e a membrana plasmática das bactérias testadas.

As proteínas da soja (glicinina, sua subunidade alcalina e β -conglucina) foram avaliadas quanto à sua atividade antimicrobiana contra *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis* e *Salmonella* Enteritidis. Todas as proteínas testadas apresentaram atividade antimicrobiana comparável à da penicilina e foram capazes de reduzir a contaminação em leite pasteurizado durante armazenamento refrigerado. Avaliação por microscopia eletrônica tornou possível verificar que a superfície e a membrana das bactérias apresentaram alterações após contato com as proteínas da soja e testes com cristal violeta comprovaram que sua permeabilidade foi significativamente aumentada (SITOHY et al., 2012).

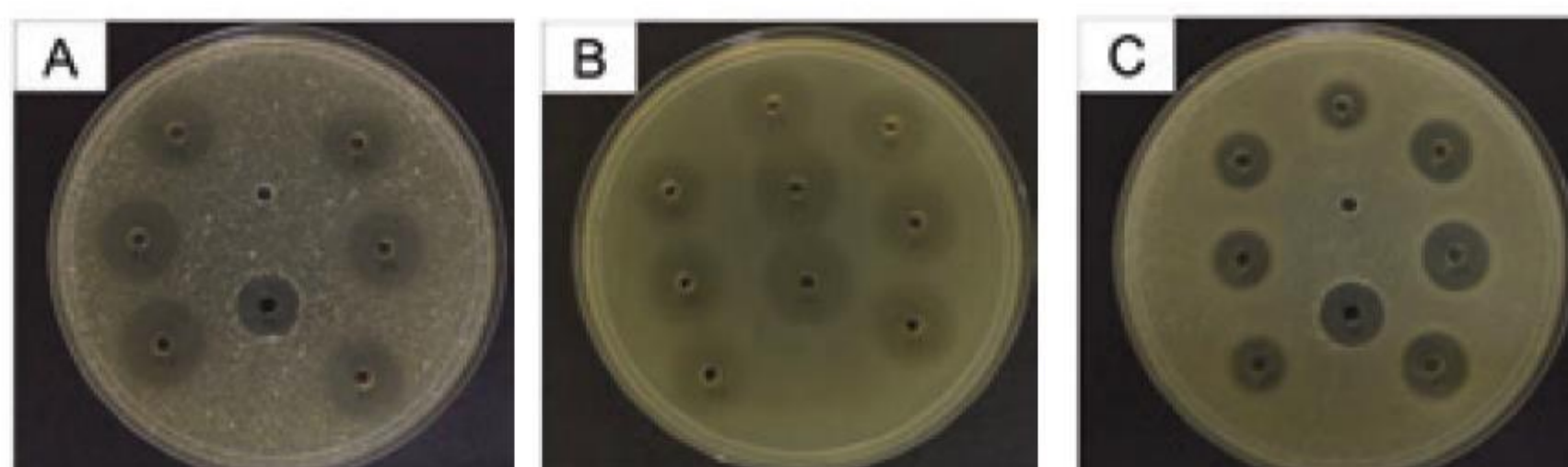


Figura 1. Halos de inibição do extrato de soja, do controle positivo e do controle negativo contra *B. cereus* (A): controle positivo (poço central inferior), controle negativo (poço central superior), extrato aquoso (poços do lado direito em triplicata); *L. monocytogenes* (B): extrato aquoso (poços centrais em triplicata); e *S. aureus* (C): controle positivo (poço central inferior), controle negativo (poço central), extrato aquoso (poços do lado direito em triplicata) após 24h de incubação.

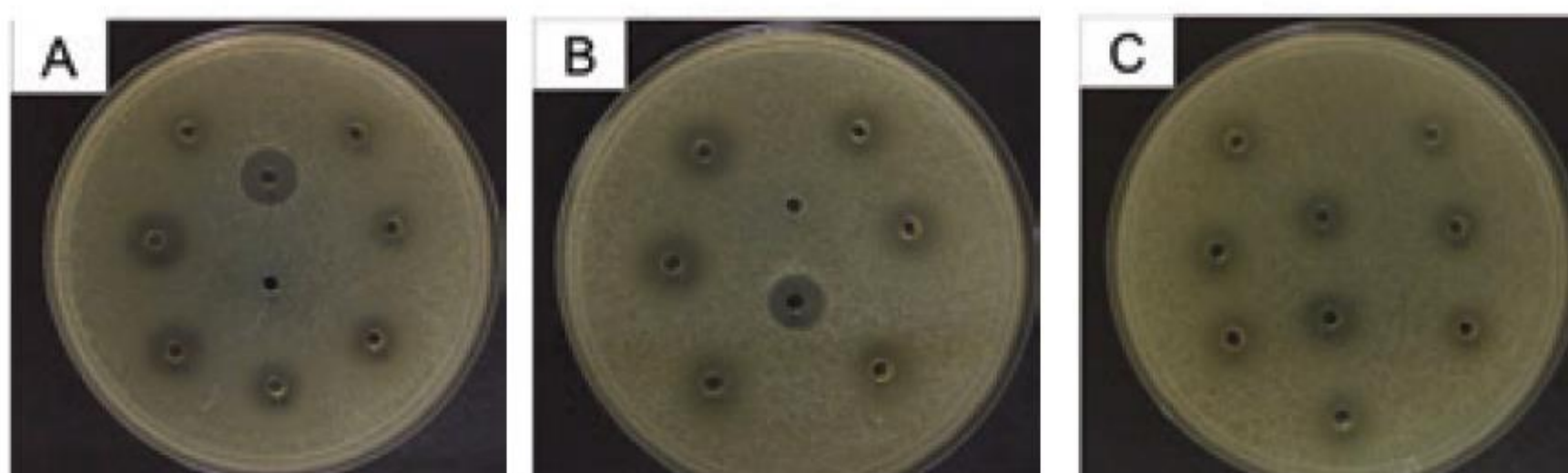


Figura 2. Halos de inibição de extrato de soja, do controle positivo e do controle negativo contra *E. coli* (A): controle positivo (poço central superior), controle negativo (poço central), extrato aquoso (poços do lado direito em triplicata); *S. Brasil* (B): controle positivo (poço central inferior), controle negativo (poço central superior), extrato aquoso (poços do lado direito em triplicata); e *S. Enteritidis* (C): extrato aquoso (poços centrais em triplicata) após 24h de incubação.

Conclusão

O extrato aquoso de soja apresentou atividade inibitória sobre todos os patógenos testados, mostrando potencial para aplicação na conservação de alimentos. A atividade detectada foi superior contra bactérias Gram positivas, em comparação com as bactérias Gram negativas.

Referência bibliográficas

- BOIA, N.; KOBELITZ, M.G.B. Optimization of protein extraction from soybean cake. In: **16th World Congress of Food Science and Technology - IUFoST**, 2012. v. 1. p. 10580-10580, Foz do Iguaçu, 2012.
- BURDEN, R.J.; BAILEY, J A. Structure of the phytoalexin from soybean. **Phytochemistry**, 14: 1389-1390, 1975.
- GÁLVEZ, A. et al. Microbial antagonists to food-borne pathogens and biocontrol. **Current opinion in biotechnology**, Elsevier, 21, 142-148, 2010.
- GARCIA-OLMEDO, F. et al. Antibiotic activities, hydrogen peroxide and peroxynitrite in plant defense. **FEBS Letters**, 498: 219-222, 2001.



VI CONGRESSO LATINOAMERICANO
E XII CONGRESSO BRASILEIRO DE

HIGIENISTAS DE ALIMENTOS

II ENCONTRO NACIONAL DE VIGILÂNCIA DAS ZOOSES
IV ENCONTRO DO SISTEMA BRASILEIRO
DE INSPEÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL

23 a 26
Abril de 2013

Hotel Serrano Resort
Gramado - RS

OS ALIMENTOS SOB A ÓTICA
DA SUSTENTABILIDADE:
ENTRE A CONSCIÊNCIA E A PRÁTICA

- KOBLITZ, M.G.B. **Matérias-Primas Alimentícias. Composição e Controle de Qualidade.** Ed. Guanabara-Koogan. 2011.
- LOHNER, K. Development of novel antimicrobial agents: emerging strategies. **Horizon Scientific Press**, 2001.
- NASCIMENTO, Danielle Gomes, M.S. **Purificação, caracterização bioquímica e atividade antimicrobiana de peptídeos de semente de soja (Glycine max [L.] Merrill).** Orientadora: Maria Cristina Baracat Pereira. Conselheiros: Elizabeth Pacheco Batista Fontes e Reginaldo da Silva Romeiro. Universidade Federal de Viçosa, 2003.
- NWACHUKWU, I.D. et al. The inducible soybean glyceollin phytoalexins with multifunctional health-promoting properties, **Food Research International**, 2013.
- SALAZAR, O., ASENJO, J.A. Enzymatic lysis of microbial cells. **Biotechnol Lett** 29:985–994, 2007.
- SHAH, N. et al. Effects of milk-derived bioactives: an overview. **British Journal of Nutrition**, Cambridge Univ Press, 84, 3, 2000.
- SILVA, B.A. et al. Aplicação da metodologia de superfície de resposta no estudo da extração de ricina em torta de mamona (*Ricinus communis* L.). **Ciência Rural** (UFSC. Impresso), v. 42, p. 1320-1326, 2012.
- SITOHY, M.Z.; MAHGOUB, S.A.; OSMAN, A.O. In vitro and in situ antimicrobial action and mechanism of glycinin and its basic subunit. **International Journal of Food Microbiology**, 154: 19–29, 2012.
- WAN, J.; WILCOCK, A.; COVENTRY, M.J. The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. **Journal of Applied Microbiology**. 84: 152-158, 1998.

Autor a ser contatado: Natália Boia Soares, nutricionista, mestranda em Alimentos e Nutrição – UNIRIO/Rio de Janeiro-RJ – e-mail: nat_boia@hotmail.com