

XVII Jornadas de Engenharia Biológica

26, 27 e 28
de novembro de 2014

Constrói
o teu Futuro!

O teu Futuro!

Certifica-se que Luis Abrunhosa
participou como orador das XVII Jornadas de Engenharia Biológica que
decorreram nos dias 26, 27 e 28 de novembro de 2014, organizadas pelo
Núcleo de Estudos de Engenharia Biológica da Universidade do Minho, no
painel de PITCH Doutoramentos e Patentes.

Pela organização

Joana Neiva





CENTRE OF
**BIOLOGICAL
ENGINEERING**

Biodegradação de ochratoxina A por *Pediococcus parvulus*

Luís Abrunhosa



University of Minho
School of Engineering

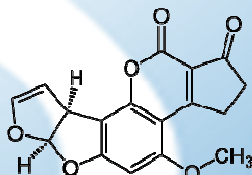
Micotoxinas



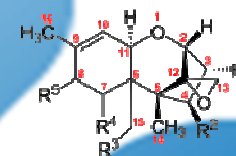
- ❖ Certos alimentos possuem compostos químicos naturais que são tóxicos para o ser humano e animais em pequenas quantidades
- ❖ Estes são produzidos por fungos filamentosos que crescem nas culturas agrícolas no campo ou quando armazenadas, sendo denominados de MICOTOXINAS
- ❖ Conhecem-se mais de 400 micotoxinas, no entanto, apenas cerca de 20 são encontradas em quantidades suficientes nos produtos alimentares para constituírem um verdadeiro risco do ponto de vista de segurança alimentar.

Micotoxinas mais relevantes

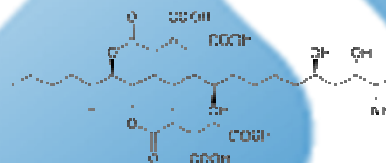
❖ Aflatoxinas,



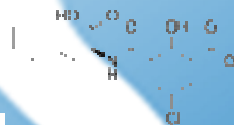
❖ Tricotecenos (DON, T2-toxina, HT2-toxina)



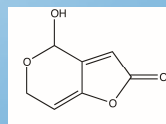
❖ Fumonisin



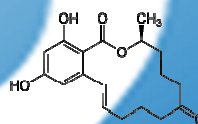
❖ Ocratoxina A



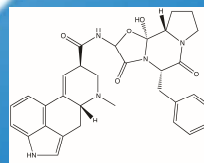
❖ Patulina



❖ Zearalenona



❖ Alcaloides do ergot



Ochratoxina A (OTA)



	Fungos produtores	Alimento
Ochratoxina A	<i>P. verrucosum</i>	Cereais
	<i>A. westerdijkiae</i>	Café, frutos secos
	<i>A. carbonarius</i>	Uvas, vinho, sumos de uva, uva passas, grãos de café verde
	<i>A. niger</i>	Uvas, vinho, sumos de uva, uva passas, milho, grãos de café verde
	<i>P. nordicum</i>	Produtos cárneos
	<i>Petromyces alliaceus</i>	Figos secos
	<i>A. steynii</i>	Grãos de café verde, soja, arroz
Fontes menos relevantes		
	<i>Aspergillus cretensis</i> , <i>A. flocculosus</i> , <i>A. pseudoelegans</i> , <i>A. sclerotiorum</i> , <i>A. roseoglobulosus</i> , <i>A. sulphureus</i> , <i>A. lacticoffeatus</i> , <i>A. sclerotiumiger</i> , <i>Neopetromyces muricatus</i> , <i>Petromyces albertensis</i>	

Toxicidade da OTA



Micotoxina	Efeitos tóxicos	Efeitos patológicos
Ocratoxina A	Nefrotóxica Citotóxica Teratogénica Hepatotóxica Carcinogénica (categoria 2B)	Nefropatia endémica dos Balcãs Nefropatia intersticial crónica no Norte de africa Nefropatia em suína Tumores renais Enterite

- ❖ A OTA possui ainda um tempo de semi-vida elevado (nos humanos cerca de 35 dias), acumulando-se nos tecidos animais.
- ❖ Podem ser encontrados resíduos no fígado, carne, gordura, ovos e sangue de animais de criação.

Toxicidade da OTA

❖ Nefropatia em suínos



❖ Neoplasia associada à nefropatia



Controlo das micotoxinas

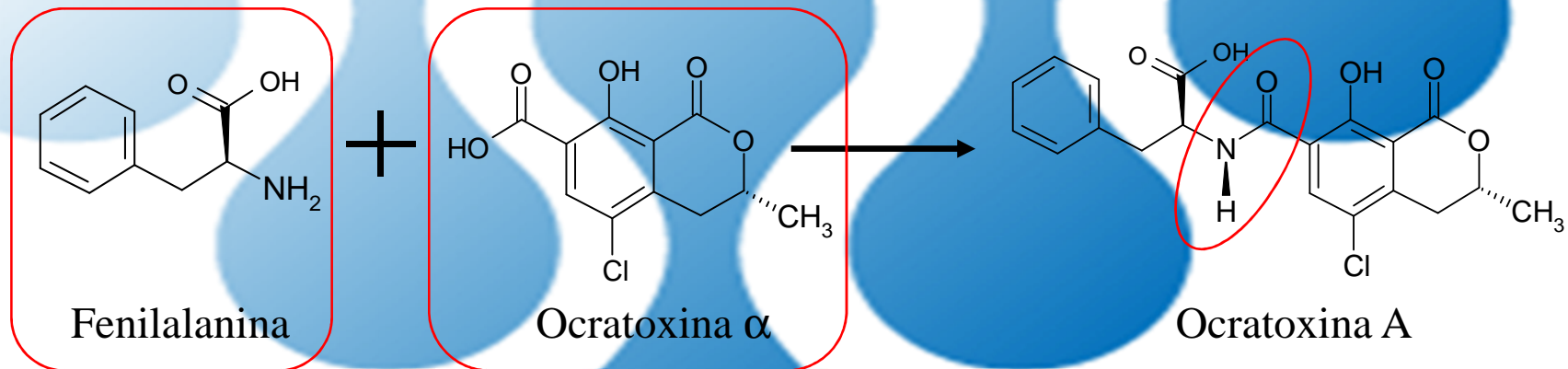


- ❖ Estratégias preventivas que procuram evitar a contaminação
- ❖ Estratégias de remediação que procuram minimizar o impacto
 - ❖ Métodos físicos
 - ❖ Métodos químicos
 - ❖ Métodos biológicos

Controlo das micotoxinas



- ❖ No caso da OTA a sua biodegradação permite detoxifica-la



Bactérias lácticas



- ❖ Possuem propriedade probióticas já bem conhecidas
- ❖ São capazes de controlar o crescimento e de competir com fungos micotoxigénicos uma vez que produzem ácido orgânicos, alguns peptidos e ácidos gordos com actividade antimicrobiana
- ❖ São capazes de adsorverem certas micotoxinas

Bactérias lácticas

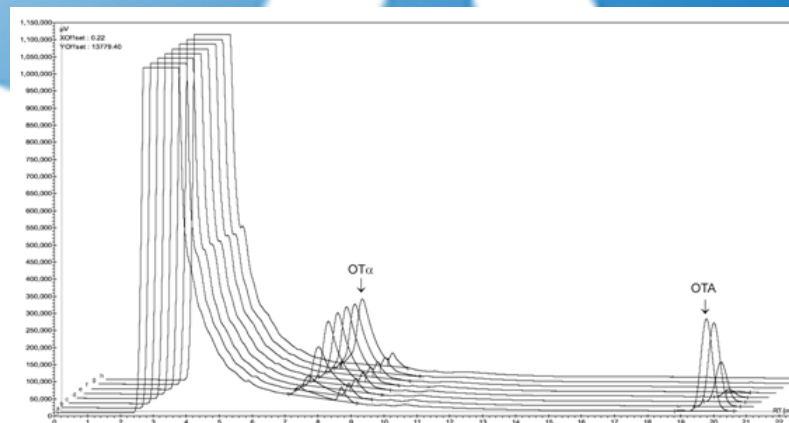
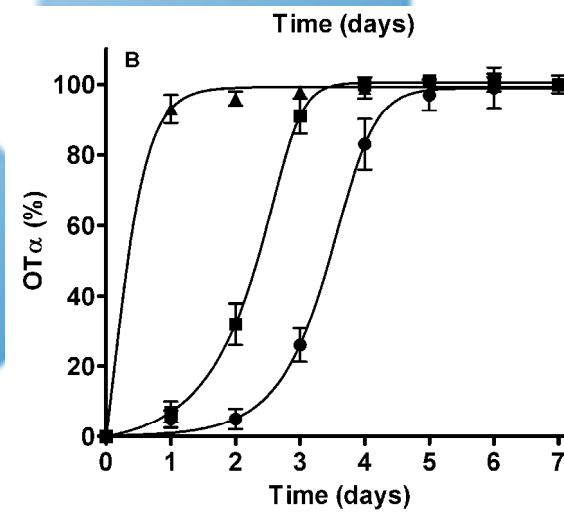
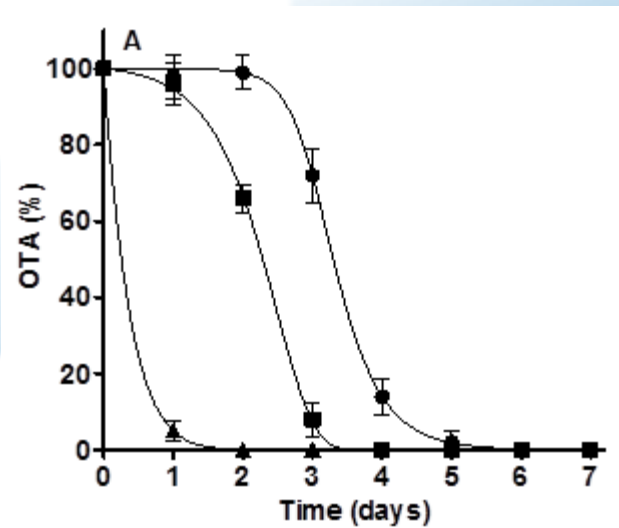


LAB species	strain	OTA (μmL)	OT α (μmL)	OTA eliminated (%)
Controls	-	1.173 \pm 0.033	0	0
<i>Lactobacillus plantarum</i>	CECT 748 ^T	1.013 \pm 0.004	0	14 \pm 0.4
<i>Oenococcus oeni</i>	CECT 217 ^T	0.936 \pm 0.034	0	20 \pm 2.9
<i>Pediococcus parvulus</i>	CECT 7350 ^T	0.986 \pm 0.028	0	16 \pm 2.4
<i>Lactobacillus plantarum</i>	UTAD 346	1.051 \pm 0.007	0	10 \pm 0.6
	UTAD 350	1.023 \pm 0.006	0	13 \pm 0.5
	UTAD 460	1.059 \pm 0.004	0	10 \pm 0.4
	UTAD 461	1.041 \pm 0.007	0	11 \pm 0.6
<i>Oenococcus oeni</i>	UTAD 224	0.988 \pm 0.004	0	16 \pm 0.3
	UTAD 228	0.997 \pm 0.003	0	15 \pm 0.3
	UTAD 244	0.997 \pm 0.006	0	15 \pm 0.5
	UTAD 279	1.008 \pm 0.009	0	14 \pm 0.7
	UTAD 295	0.990 \pm 0.009	0	16 \pm 0.8
	UTAD 296	0.999 \pm 0.005	0	15 \pm 0.4
	UTAD 474	0.993 \pm 0.005	0	15 \pm 0.4
	UTAD 602	1.009 \pm 0.006	0	14 \pm 0.5
	UTAD 653	1.008 \pm 0.010	0	14 \pm 0.9
<i>Pediococcus parvulus</i>	UTAD 111B	0.328 \pm 0.139	0.635 \pm 0.117	72 \pm 11.8
	UTAD 168*	0.133 \pm 0.072	0.810 \pm 0.051	89 \pm 6.2
	UTAD 333	0.037 \pm 0.007	0.949 \pm 0.001	97 \pm 0.6
	UTAD 334*	0.070 \pm 0.059	0.863 \pm 0.035	94 \pm 5.1
	UTAD 335	0.025 \pm 0.001	0.957 \pm 0.007	98 \pm 0.1
	UTAD 473*	0	0.922 \pm 0.034	100 \pm 0

Bactérias lácticas



❖ Exemplo da biodegradação da OTA por *Pediococcus parvulus*



Bactérias lácticas



❖ Testes em Vinho sintético e Mosto de Uvas

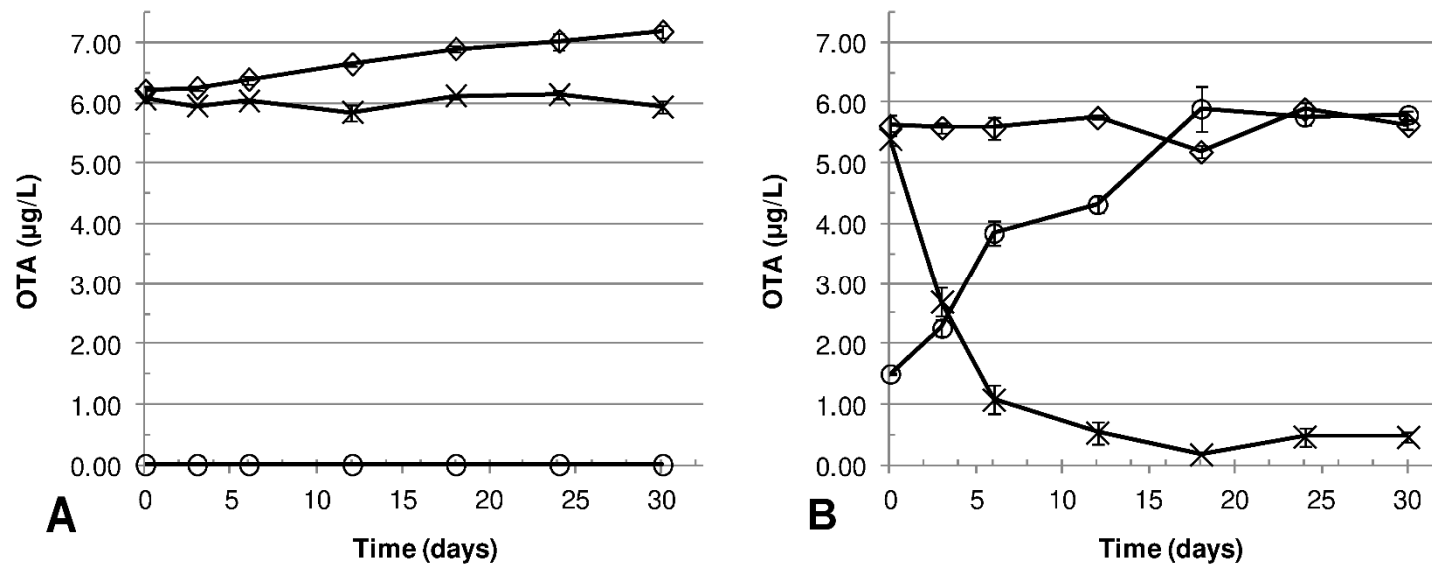


Fig. 1. OTA and OT α levels detected over time in (A) synthetic wine and (B) grape must that were supplemented with 7.0 μg of OTA/L and inoculated with *P. parvulus* UTAD 473. (◇) OTA in controls, (×) OTA in wine or grape must, and (○) OT α in wine or grape must.

Conclusões

- ❖ Estes resultados traduziram-se num pedido de patente
- ❖ “*Method and kit for ochratoxin A detoxification using novel *Pediococcus parvulus* strains*”

Luís Abrunhosa Nov-14



inpi Instituto Nacional da Propriedade Industrial

Campo das Caboias - 1149-035 Lisboa - Portugal
Tel: +351 218818100 / Linha Azul: 808 200689 / Fax: +351 218875308 / Fax: +351 218860066 / E-mail: atm@inpi.pt / www.inpi.pt

Nº	CÓDIGO	DATA E HORA DE RECEÇÃO	MODALIDADE	PROCESSO RELACIONADO
20141000023478	0198	2014/03/21-10:03:15	PAT	107534 D

PAGAMENTO CONFIRMADO

PEDIDO DE PATENTE, MODELO DE UTILIDADE OU DE TOPOGRAFIA DE PRODUTOS SEMICONDUTORES

1 REQUERENTES	
Código 2208825 Nome UNIVERSIDADE DE TRÁS-OS-MONTES E ALTO DOURO Endereço EDIFÍCIO DA BIBLIOTECA CENTRAL, QUINTA DE PRADOS Localidade VILA REAL Telefone 259350763 E-mail CARLAM@UTAD.PT Atividade (CAE) NIF	Nacionalidade PORTUGUESA Código Postal 5001-801 Fax 259350341 Telemóvel
Código 921228 Nome UNIVERSIDADE DO MINHO Endereço LARGO DO PAÇO Localidade BRAGA Telefone 253510595 E-mail GAPI@TECMINHO.UMINHO.PT Atividade (CAE) NIF	Nacionalidade PORTUGUESA Código Postal 4704-553 Fax
2 MODALIDADE / TIPO DE PEDIDO	
Modalidade: PEDIDO PROVISÓRIO DE PATENTE Realização de pesquisa pelo INPI: SIM	
3 EPÍGRAFE OU TÍTULO	
METHOD AND KIT FOR OCHRATOXIN A DETOXIFICATION USING NOVEL PEDIOCOCCUS PARVULUS STRAINS	
4 RESUMO	
5 FIGURAS	

Conclusões



International Journal of Food Microbiology 188 (2014) 45–52

Contents lists available at ScienceDirect

International Journal of Food Microbiology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ijfoodmicro

Biodegradation of ochratoxin A by *Pediococcus parvulus* isolated from Douro wines

Luís Abrunhosa^{a,*}, António Inês^b, Ana I. Rodrigues^a, Ana Guimarães^a, Vânia L. Pereira^b, Pier Parpot^c, Arlete Mendes-Faia^b, Armando Venâncio^a

^a CEB-Centre of Biological Engineering, University of Minho, Campus de Guverna, 4710-057 Braga, Portugal
^b Institute for Biotechnology and Bioengineering, Centre of Genomics and Biotechnology, IMB/CGB-UTAD, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, School of Life Sciences and Environment, Edifício de Ecologia, Apartado 1011, 5001-801 Vila Real, Portugal
^c Centre of Chemistry, University of Minho, Campus de Guverna, 4710-057 Braga, Portugal

ARTICLE INFO

Article history:
Received 25 March 2014
Received in revised form 15 July 2014
Accepted 16 July 2014
Available online 23 July 2014

Keywords:
Pediococcus parvulus
Ochratoxin A
Biodegradation
Detoxification

ABSTRACT

Lactic acid bacteria (LAB) are a promising solution to reduce exposure to dietary mycotoxins because of the unique mycotoxin decontaminating characteristic of some LAB. Ochratoxin A (OTA) is one of the most prominent mycotoxins found in agricultural commodities. The present work reports on the ability of *Pediococcus parvulus* strains that were isolated from Douro wines that spontaneously underwent malolactic fermentation to detoxify OTA. These strains were identified and characterised using a polyphasic approach that employed both phenotypic and genotypic methods. When cultivated on OTA-supplemented MRS media, OTA was biodegraded into OTα by certain *P. parvulus* strains. The presence of OTα was confirmed using LC-MS/MS. The conversion of OTA into OTα indicates that the OTA amide bond was hydrolysed by a putative peptidase. The rate of OTA biodegradation was found to be dependent on the inoculum size and on the incubation temperature. Adsorption assays with dead *P. parvulus* cells showed that approximately $1.3\% \pm 1.0$ of the OTA was adsorbed onto cells wall, which excludes this mechanism in the elimination of OTA by strains that degrades OTA. Under optimum conditions, 50% and 90% of OTA were degraded in 6 and 19 h, respectively. Other LAB strains that belonged to different species were tested but did not degrade OTA. OTA biodegradation by *P. parvulus* UTAD 473 was observed in grape must. Because some *P. parvulus* strains have relevant probiotic properties, the strains that were identified could be particularly relevant to food and feed applications to counteract the toxic effects of OTA.

© 2014 Elsevier B.V. All rights reserved.