

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA APLICADA

THAIS MARTINS DIAS

BACTERIOCINAS EM ALIMENTOS

BELO HORIZONTE

2017

Thais Martins Dias

BACTERIOCINAS EM ALIMENTOS

Monografia de especialização apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Aplicada da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Especialista em Microbiologia.

Orientador: Professor Jacques Robert Nicoli

BELO HORIZONTE

2017

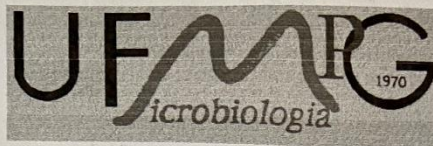
043 Dias, Thais Martins.
Bacteriocinas em alimentos [manuscrito] / Thais Martins Dias. – 2017.
37 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Professor Jacques Robert Nicoli.

Monografia apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Aplicada da Universidade Federal de Minas Gerais, como pré-requisito para a obtenção do Grau de Especialista em Microbiologia.

1. Microbiologia. 2. Bacteriocinas. 3. Alimentos. I. Nicoli, Jacques Robert. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 579



**Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Microbiologia**

Às 13:00 horas do dia 30 de janeiro de 2017, reuniu-se, no Instituto de Ciências Biológicas da UFMG a Banca Debatedora constituída pelo Prof. Jacques Robert Nicoli e pela Dra. Regina Maria Nardi Drummond para avaliar a Monografia intitulada "Bacteriocinas em alimentos", da aluna Thais Martins Dias. Após a apresentação oral pública seguida de uma arguição, a aluna foi APROVADA, considerando as sugestões feitas pela Banca debatedora. Nada mais havendo a tratar, lavrou-se a presente ata, que será assinada pelos membros participantes da Banca Debatedora. Belo Horizonte, 30 de janeiro de 2017.

Dra. Regina Maria Nardi Drummond Regina M. Nardi Drummond

Prof. Jacques Robert Nicoli - Orientador JRN

VLS
Profa. Vera Lucia dos Santos
Coordenadora do Curso de Especialização em Microbiologia
ICB/UFMG

Dedico esse trabalho aos meus pais que sempre me incentivaram a estudar e me aprimorar cada vez mais e aos meus amigos pelo apoio, força e incentivo em todo esse processo.

AGRADECIMENTO

À minha família por terem me apoiado nessa etapa e ao Departamento de Microbiologia da Universidade Federal de Minas Gerais em especial o Professor Jacques Nicoli pela orientação e paciência.

RESUMO

A necessidade de métodos que possam proporcionar a segurança dos alimentos e estender seu tempo de validade faz com que pesquisadores e indústrias busquem novas alternativas para essas finalidades. Apesar de existir diversas tecnologias de conservação já disponíveis, nenhuma delas assegura completamente as qualidades microbiológica e nutricional dos alimentos. Além disso, os consumidores são cada vez mais preocupados com a saúde e conscientes dos possíveis efeitos negativos dos aditivos sintéticos usados na conservação dos alimentos. As bacteriocinas são uma opção como método de controle microbiano em alimentos, podendo ser utilizadas em produtos lácteos, de panificação e em produtos cárneos entre outros. A presente monografia teve como objetivo proceder a um levantamento bibliográfico e analisar as informações publicadas na literatura científica recente sobre o uso de bacteriocinas na preservação de alimentos. Mesmo as informações disponíveis podendo não ser suficientes para estabelecer uma classificação definitiva e os mecanismos por trás da secreção e regulação da produção desses compostos ainda não sendo todos completamente elucidados, o presente levantamento bibliográfico mostra que a utilização das bacteriocinas tem se mostrado eficiente e segura como bioconservantes de alimentos desde sua descoberta. Porém, é importante lembrar que qualquer seja o método de preservação escolhido, ele dificilmente poderá substituir as boas práticas de fabricação fundamentais para a produção de alimentos seguros e devem ser empregadas como parte de um sistema de conservação de alimentos, promovendo um efeito adicional ou sinérgico a outros fatores de conservação.

Palavras-chaves: Bacteriocinas; Preservação; Alimentos.

ABSTRACT

The need for methods that can provide food safety and extend shelf life makes researchers and industries search for new alternatives for these purposes. Although there are several conservation technologies available, none of them fully guarantees the microbiological and nutritional qualities of food. In addition, consumers are increasingly concerned about health and aware of the possible negative effects of synthetic additives used in food preservation. Bacteriocins are an option as a method of microbial control in food, and can be used in dairy products, baking and meat products among others. The objective of this monograph was to carry out a bibliographic survey and analyze the information published in the recent scientific literature on the use of bacteriocins in food preservation. Although the available information may not be sufficient to establish a definitive classification and the mechanisms behind the secretion and regulation of the production of these compounds are not yet fully elucidated, the present bibliographic survey shows that the use of bacteriocins has been shown to be efficient and safe as bioconservants since its discovery. However, it is important to remember that whichever method of preservation is chosen, it hardly can replace the good manufacturing practices that are essential for the production of safe foods and should be used as part of a food preservation system, promoting an additional or synergistic effect to other conservation factors.

Keywords: Bacteriocins; Preservation; Food.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Evolução cronológica da classificação das bacteriocinas	25
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Classificação de colicinas por diferentes sistemas translocadores	27
Tabela 2: Esquema classificatório para microcinas “Gram-negativas”	28
Tabela 3: Esquema classificatório para bacteriocinas “Gram-positivas”	28
Tabela 4: Bacteriocinas e suas aplicações como conservadoras de alimentos	32

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BAL: Bactérias do ácido láctico

EDTA: *Ethylenediaminetetraacetic acid*

FDA: *Food and Drug Administration* (Administração de Alimentos e Drogas)

GRAS: *Generally Recognized as Safe* (Geralmente Reconhecido Como Seguro)

kDa: Kilo daltons

Mcc: Microcina

PMF: Força próton motora

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVO	14
3. METODOLOGIA	15
4. LEVANTAMENTO E DISCUSSÃO DA BIBLIOGRAFIA	16
4.1 Preservação de alimentos	16
4.1.1. Contaminação e deterioração de alimentos	16
4.1.2 Técnicas de preservação	17
4.1.3. Problemas decorrentes das técnicas de preservação e uso de bacteriocinas como alternativa	22
4.2. Generalidades sobre bacteriocinas	23
4.2.1. Micro-organismos produtores e classificação	24
4.2.2. Natureza química e mecanismos de ação	29
4.3 Bacteriocinas: emprego industrial	31
4.3.1. Incorporação em alimentos	32
5. CONCLUSÃO	32
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33

1. INTRODUÇÃO

A contaminação de alimentos é um sério problema que resulta em grandes índices de morbidade. Apesar de existir diversas tecnologias de conservação já disponíveis, nenhuma delas assegura completamente a qualidade microbiológica dos alimentos, além disso, nas últimas décadas, têm sido um desafio para os produtores de alimentos as exigências legais para garantir a segurança alimentar, associada às exigências dos consumidores mais preocupados com a saúde e conscientes dos possíveis efeitos negativos dos aditivos sintéticos usados na conservação dos alimentos. A indústria alimentícia visando à produção de alimentos inócuos e que apresentem vida longa de prateleira e que atenda a demanda por alimentos de boa qualidade, minimamente processados, livres de conservantes químicos, tem pesquisado cada vez mais novas tecnologias de conservação dos alimentos. (CLEVELAND et al, 2001; SCHULZ et al., 2005; VÁSQUEZ et al., 2009).

Muitos alimentos são perecíveis por natureza e necessitam de proteção contra a deterioração durante seu preparo, armazenamento e distribuição a fim de assegurar-lhes o tempo de prateleira desejado. Como os produtos alimentícios são comercializados, frequentemente, em áreas distantes do seu local de produção, por questão de segurança o prazo de validade desses produtos deve ser estendido. O uso de baixas temperaturas na cadeia de distribuição possibilitou o comércio internacional de produtos perecíveis. Contudo, a refrigeração por si só não garante a qualidade e a segurança desses alimentos, necessitando a associação com outros métodos de conservação (HOLLEY e PATEL, 2005).

Garantir a segurança e, ao mesmo tempo, atender à demanda para a conservação de atributos nutricionais e de qualidade têm resultado na crescente busca de conservantes naturais com potencial aplicação em alimentos, que possam ser utilizados sozinhos ou em combinação com outra tecnologia, uma alternativa promissora é o biopreservação.

A biopreservação é uma técnica utilizada para estender a vida útil dos alimentos e aumentar a sua segurança por meio da aplicação de uma microbiota protetora como das bactérias ácido-láticas, utilizando-se de suas propriedades antibacterianas, atribuídas aos produtos finais do seu metabolismo como ácidos orgânicos, peróxido de hidrogênio, diacetaldeídos, reuterina e seus peptídeos antimicrobianos, as bacteriocinas (SCHULZ et al., 2003; COTTER et al., 2005; VÁSQUEZ et al., 2009).

Neste contexto se pode citar as bacteriocinas, que são peptídios ou proteínas antimicrobianas sintetizadas nos ribossomos das células bacterianas e liberadas no meio

extracelular que apresentam ação bactericida ou bacteriostática sobre micro-organismos taxonomicamente relacionados. Por serem consideradas conservantes naturais, seu emprego em alimentos é muito promissor no controle do desenvolvimento de micro-organismos patogênicos e deteriorantes, além disso, não promovem alteração na qualidade sensorial do produto, por isso o crescente interesse da indústria de alimentos sobre o potencial de utilização destes compostos em substituição aos conservantes químicos (CLEVELAND et al, 2001; JONES et al, 2005; NASCIMENTO et al, 2008).

2. OBJETIVO

Proceder a um levantamento bibliográfico e analisar as informações publicadas na literatura científica recente sobre o uso de bacteriocinas na preservação de alimentos.

3. METODOLOGIA

Essa monografia é descritiva, e usou como metodologia um levantamento bibliográfico e análise da literatura no período de 2000 até 2016 utilizando para pesquisa as bases Medline, Scielo, Portal CAPES dentre outras e as seguintes palavras chaves: bacteriocina, alimentos, preservação.

4. LEVANTAMENTO E DISCUSSÃO DA BIBLIOGRAFIA

4.1 Preservação de alimentos

A grande maioria dos alimentos, tanto de origem animal como de origem vegetal se deterioram com muita facilidade e isso levou o homem a desenvolver técnicas que fossem capazes de conservar esses alimentos por mais tempo. Durante os séculos várias técnicas empíricas foram utilizadas e algumas dessas sobrevivem até hoje como: a secagem, defumação, o emprego do sal, do vinagre e do álcool, mas foi no início do século XIX o surgimento do que podemos chamar de técnica moderna de conservação de alimentos. Em 1809, Nicolas Appert depositou a patente do processo de conservação de alimentos pelo calor em recipientes hermeticamente fechados. (GAVA et al., 2009)

As estratégias para aumentar a estabilidade dos produtos alimentícios, que abrange a manutenção das propriedades nutricionais e sensoriais, e conseqüentemente sua durabilidade (prazo de validade ou vida de prateleira), incluem a aplicação de diversos métodos de conservação que têm por objetivo evitar alterações indesejáveis, sejam elas de origem microbiana, enzimática, física ou química. Em função da tecnologia empregada, pretende-se que os alimentos se conservem pelo maior tempo possível, evitando as perdas decorrentes de um sistema de abastecimento deficiente e os efeitos da sazonalidade (LOPES, 2007).

4.1.1. Contaminação e deterioração de alimentos

Os alimentos são excelentes substratos onde se desenvolvem numerosas espécies e variedades de micro-organismos. De todos os micro-organismos as bactérias são as de maior participação nos processos de contaminações de alimentos, pois atuam sob numerosos tipos de substratos, sob diferentes faixas de temperatura e de PH, bem como de condições do meio ambiente.

A contaminação microbiana do alimento acontece direta ou indiretamente. Na forma direta ela ocorre no tecido animal ou vegetal vivo, antes do abate ou colheita. Já na forma indireta, acontece depois do abate ou colheita dos alimentos, por mecanismo cruzado ou não. A higiene pessoal dos manipuladores de alimentos, higiene do ambiente de trabalho e de utensílios utilizados para o preparo de alimentos, são itens imprescindíveis para o cuidado de uma alimentação sem contaminação e de boa qualidade.

Com a multiplicação dos micro-organismos nos alimentos, ocorrem alterações nas características físicas e químicas, podendo ocasionar deterioração. Além disso, os micro-organismos podem transmitir doenças de origem alimentar ao ser humano. Conseqüentemente, mais atenção tem sido direcionada para o desenvolvimento de métodos para a preservação dos alimentos.

Os alimentos alterados, geralmente, desenvolvem uma coloração diferente do original e também odores ruins, sendo rejeitados pelo consumidor. As alterações nos alimentos são todas aquelas modificações, parcial ou total, em suas características sensoriais, nutricionais e/ou estruturais, comprometendo suas qualidades físicas e químicas, estado de higidez e capacidade nutritiva. (FREITAS e FIGUEIREDO, 2007; LOPES, 2007; GAVA et al., 2009; DA SILVA VASCONCELOS, 2010).

4.1.2 Técnicas de preservação

Os alimentos para serem conservados, devem impedir toda alteração devida aos micro-organismos. O desenvolvimento dos micro-organismos é possível somente em ambiente nutritivo, com taxa de umidade, oxigênio, temperatura e outras condições favoráveis. Assim os processos de conservação são baseados na eliminação total ou parcial dos agentes que alteram os produtos ou na modificação do meio de forma que ele se torne não propício a qualquer manifestação de micro-organismos.

Alguns métodos de preservação não alteram muito os produtos enquanto outros modificam bastante o sabor dos alimentos, assim como sua aparência e valores nutritivos, mas todos têm como objetivo tornar o alimento mais seguro para o consumo e mais fáceis de armazenar sem risco de contaminação. (EVANGELISTA, 2000; GAVA, 2009). De acordo com vários autores (EVANGELISTA, 2000; FREITAS e FIGUEIREDO, 2007; UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2006; LOPES, 2007; GAVA et al., 2009; DA SILVA VASCONCELOS, 2010; NUNES et al., 2014) as principais técnicas de preservação existentes são:

1. Conservação pelo calor;
2. Conservação pelo frio;
3. Conservação pelo controle da umidade;
4. Conservação pela adição de um soluto;
5. Conservação por defumação;
6. Conservação por fermentação;

7. Conservação pela adição de aditivos;
8. Conservação por irradiação.

1- Conservação pelo calor:

Baseia-se no emprego de temperaturas ligeiramente acima das máximas que permitem a multiplicação dos micro-organismos, de forma a provocar a sua morte ou a inativação de suas células vegetativas. Os principais métodos de conservação por calor são:

1.1 - Pasteurização:

A pasteurização é um tratamento térmico relativamente suave que utiliza temperaturas inferiores a 100°C, tendo como principal objetivo prolongar a vida de prateleira dos alimentos, por alguns dias, como no caso do leite ou por alguns meses, como ocorre com as frutas enlatadas. Este método tem como princípio, a inativação de enzimas e a destruição dos micro-organismos sensíveis a temperaturas mais elevadas, como as bactérias na sua forma vegetativa, bolores e leveduras, sem modificar significativamente o valor nutritivo e as características organolépticas do alimento submetido a esse tratamento.

1.2 - Esterilização:

A esterilização pelo calor é o tratamento no qual o alimento é aquecido a uma temperatura relativamente elevada durante períodos variados de tempo, suficientes para a destruição de micro-organismos e inativação de enzimas capazes de deteriorar o produto durante o armazenamento. Este tratamento pode ser realizado por diversos processos, e tem ainda como objetivo principal a destruição dos micro-organismos causadores de doenças e deterioradores, mantendo-o livre de germes nocivos à saúde do consumidor.

1.3 - Tindalização:

Nesse processo, o aquecimento é feito de maneira descontínua. Após o acondicionamento das matérias primas alimentícias, a serem submetidas ao tratamento, em recipiente fechado, o produto é submetido ao tratamento térmico. Dependendo de cada produto e do rigor térmico desejado, as temperaturas variam de 60 a 90°C, durante alguns minutos. As células bacterianas que se encontram na forma vegetativa são destruídas, porém os esporos sobrevivem. Depois do resfriamento, os esporos entram em processo de germinação e depois de 24 horas a operação é repetida. O número de operações pode variar de 3 a 12 vezes até a

obtenção da esterilização completa. A vantagem desse processo é que podem ser mantidos praticamente todos os nutrientes e as qualidades organolépticas do produto, em proporções maiores do que quando se utilizam outros tratamentos térmicos.

1.4 - Apertização:

A apertização é a aplicação do processo térmico a um alimento convenientemente acondicionado em uma embalagem hermética, resistente ao calor, a uma temperatura e um período de tempo cientificamente determinados, para atingir a esterilização comercial. Este processo corresponde ao aquecimento do produto já elaborado, envasado em latas, vidros, plásticos ou outros materiais e relativamente isentos de ar.

1.5 - Branqueamento:

O branqueamento é o tratamento térmico usualmente aplicado no processamento de vegetais (frutas e hortaliças), e consiste na aplicação de calor (mergulho em água quente ou aplicação de vapor fluente ou superaquecido) em curto espaço de tempo com posterior resfriamento em água gelada. Tem a finalidade principal de inativar enzimas, fixar cor e textura do produto, remover gases dos tecidos e realizar desinfecção parcial do produto. É um método usado como complementar a outros métodos de conservação

2- Conservação pelo frio:

Temperaturas abaixo das que se tem registrados no ambiente são utilizadas para retardar as reações químicas e as atividades enzimáticas, bem como para retardar ou inibir o crescimento e a atividade dos micro-organismos nos alimentos.

2.1 - Refrigeração

A refrigeração é qualquer processo de redução de temperatura de uma substância dentro de um espaço fechado. Os sistemas de refrigeração são utilizados principalmente para armazenar alimentos a baixas temperaturas inibindo assim a ação de bactérias, das reações de fermentação e o aparecimento do bolor provocado pela multiplicação de fungos, bem como para manter uma temperatura estável em máquinas e equipamentos em geral, melhorando o rendimento dos mesmos.

2.2 – Congelamento

O congelamento paralisa a atividade dos micro-organismos, interrompendo os processos vitais, naturais ou de degeneração dos alimentos, e estes permanecem em estado de dormência metabólica até o descongelamento. Existem diferentes métodos de congelamento, mas os melhores exigem rápida redução da temperatura visando preservar as características sensoriais do alimento, tais como, aparência, sabor, cor, textura e odor. É considerado um processo de conservação caro, pois há necessidade de manter o produto à baixa temperatura desde a produção, estocagem, distribuição e armazenamento na casa do consumidor.

3 - Conservação pelo controle da umidade:

Uma das principais causas da deterioração de alimentos frescos e processados é a quantidade de água livre neles presentes. A diminuição da atividade de água de legumes, frutas e hortaliças pode ser obtida por intermédio das técnicas de desidratação, com consequente redução de peso, maior estabilidade e menor custo de estocagem dos produtos.

3.1 - Secagem natural

Consiste na exposição do alimento ao sol. É um processo simples e barato, mas tem a desvantagem de ser realizado sem controle de temperatura, umidade relativa e fluxo de ar. Trata-se de um processo lento, cujos resultados são imprevisíveis, pois dependem das condições climáticas da região.

3.2 - Desidratação ou secagem artificial

É a secagem pelo calor produzido artificialmente em condições de temperatura, umidade e circulação de ar, cuidadosamente controladas. O ar é o meio de secagem mais usado pela sua abundância, conveniência e porque o seu controle no aquecimento do alimento não apresenta maiores problemas. O ar conduz o calor ao alimento, provocando evaporação da água, sendo também o veículo no transporte do vapor úmido liberado do alimento. A velocidade de evaporação da água do alimento, além da velocidade do ar, depende de sua área superficial e porosidade numa razão diretamente proporcional.

4 - Conservação pela adição de solutos:

Os principais solutos utilizados neste método são o sal (cloreto de sódio) e o açúcar (sacarose). A adição elevada de quantidades de açúcar ou sal ao alimento pode reter quantidades variadas de água e eleva a pressão osmótica. A preservação de frutas pela adição de açúcar,

transformando-se em geleia, doces em massa e outros produtos similares ocorre pela elevada concentração de açúcar. Estes produtos contêm em média de 25 a 33% de umidade, mas podem ser conservados sem maiores problemas. O sal também é bastante eficaz na preservação de carnes e peixes.

5 - Conservação por defumação:

Consiste no processo de aplicação de fumaça aos produtos alimentícios, produzida pela combustão incompleta de algumas madeiras previamente selecionadas. Normalmente é realizado em conjunto com a salga, a cura, a fermentação e outros processos. Em carnes, o contato com o calor e a fumaça provoca a perda da água, uma superfície fica ressecada e a coloração estabilizada. A perda de água e a ação dos constituintes da fumaça conferem ao alimento barreiras físicas e químicas eficientes contra a penetração e a atividade de micro-organismos. Essa capa protetora pode ser devido à desidratação que se processa na superfície do produto, principalmente na defumação a quente, à coagulação proteica que ocorre durante a defumação e ao depósito das substâncias antimicrobianas que existem na fumaça, que se condensam e ficam depositadas na superfície do produto.

6 - Conservação por fermentação:

É um processo que utiliza o crescimento controlado de micro-organismos selecionados, capazes de modificar sua textura, sabor e aroma, como também suas propriedades nutricionais.

6.1 - Fermentação alcoólica:

A fermentação alcoólica é usada na elaboração de bebidas alcoólicas entre as quais temos as fermentadas (vinhos e cervejas) e as fermento-destiladas (aguardente, rum, uísque, conhaque, tequila, gin, etc.). Transformam-se açúcares solúveis em etanol como produto principal. A transformação de glicose ou outro monossacarídeo em duas moléculas de álcool e gás carbônico é feita graças a presença de certas enzimas sintetizadas por leveduras. Entre as leveduras mais utilizadas na fermentação alcoólica encontra-se *Saccharomyces cerevisiae*, usada na elaboração de vinhos, e na produção de cervejas são utilizadas ainda as espécies *S. carlsbergensis* e *S. uvarum*.

6.2 - Fermentação acética:

Na indústria de alimentos é largamente utilizada a produção de vinagre, pela oxidação do álcool por bactérias acéticas, como *Acinetobacter* e *Gluconobacter*. Porém, se várias espécies acéticas podem oxidar o álcool a ácido acético, mas muitas delas também podem posteriormente oxidar o ácido acético a gás carbônico e água, o que é indesejável, quando se tem como objetivo a produção do vinagre.

6.3 - Fermentação láctica:

A fermentação láctica é largamente utilizada na preservação dos alimentos. Importantes produtos de origem vegetal como picles, chucrute e azeitonas e de origem animal como queijo e salames são elaborados por meio da fermentação láctica. Na fermentação de produtos pouco ácidos como leite e carnes, realizada com objetivo de aumentar a concentração de micro-organismos fermentadores, para reduzir o tempo de fermentação e inibir o crescimento de germes patogênicos e deterioradores, adiciona-se uma determinada quantidade de micro-organismos selecionados, com o objetivo de iniciar a fermentação.

7 - Conservação pela utilização de aditivos:

Consiste na adição ao alimento de produtos químicos com propriedades de preservação. Os aditivos podem contribuir muito para a conservação dos alimentos, mas essa prática deve ser encarada com bastante atenção, uma vez que, a ingestão excessiva desses aditivos químicos pode provocar perturbações no equilíbrio fisiológico do consumidor.

8 - Conservação por irradiação:

A irradiação de alimentos é uma técnica utilizada pela indústria nas quais determinados tipos de alimentos são expostos à radiação ionizante de maneira controlada por tempo adequado. Esse processo pode ser feito com o alimento já embalado ou não, e tem como finalidade a eliminação micro-organismos patogênicos, e, em alguns casos, retardar o amadurecimento de alguns vegetais, especialmente frutas e legumes.

4.1.3. Problemas decorrentes das técnicas de preservação e uso de bacteriocinas como alternativa

Atualmente os consumidores estão cada vez mais atentos ao risco que constitui a presença de aditivos químicos e de micro-organismos patogênicos nos alimentos, despertando

assim o interesse pela procura de conservantes naturais. Esta percepção, em conjunto com a exigência crescente de alimentos minimamente processados com vida de prateleira prolongada, tem estimulado a pesquisa para encontrar conservantes naturais e eficazes (BALCIUNAS et al., 2013).

As bacteriocinas são uma das várias opções de métodos de controle microbiano em alimentos, podendo ser utilizadas em produtos lácteos, de panificação e em produtos cárneos. O estudo das bacteriocinas tem comprovado sua eficiência, desde sua descoberta, principalmente na redução dos micro-organismos patogênicos, causadores de doenças veiculadas à ingestão de alimentos contaminados, com a vantagem de não causar efeito negativo ao organismo humano, sendo eliminadas por enzimas responsáveis pela digestão. A bacteriocina mais utilizada comercialmente é a nisina, uma vez que diversos órgãos responsáveis por estudos toxicológicos em alimentos comprovaram que o uso desta é considerado seguro. Porém, é importante ressaltar que as boas práticas de fabricação ainda são fundamentais para garantir um alimento seguro (REBELLO e GASPAR, 2010)

4.2. Generalidades sobre bacteriocinas

As bacteriocinas são proteínas sintetizadas nos ribossomos das células bacterianas e liberadas no meio extracelular, onde têm ação bacteriostática ou bactericida sobre outras bactérias. São produzidas de forma natural durante a fase logarítmica do crescimento microbiano ou ao final desta, possuindo relação direta com a biomassa produzida. Podem ser produzidas tanto por bactérias Gram-negativas como no caso das colicinas em *Escherichia coli*, quanto por bactérias Gram-positivas como os lantibióticos que são produzidos por bactérias do ácido láctico (BAL). Essas proteínas são um grupo heterogêneo com variações no tamanho, modo de ação, peso molecular, propriedades bioquímicas e espectro de atividade. (RILEY e WERTZ, 2002; VÁSQUEZ et al., 2009).

São consideradas como conservantes naturais por se evidenciar que estas sejam degradadas pelas proteases gastrointestinais podendo assim, serem utilizadas como estratégia para controle de micro-organismos patogênicos e deterioradores, sem prejuízos aparentes à saúde do consumidor (ALLENDE et al., 2007). Além disso, não promovem alteração na qualidade sensorial do produto, observando-se o crescente interesse da indústria de alimentos sobre o potencial de utilização destes compostos em substituição aos conservantes químicos (NASCIMENTO et al., 2008).

Segundo histórico apresentado por Nascimento et al. (2008), os primeiros registros sobre bacteriocinas são da publicação de André Gratia em 1925, um estudo referente ao antagonismo promovido por uma linhagem de *E. coli* contra outras linhagens da mesma espécie. As substâncias responsáveis por esse efeito inibitório foram denominadas de ‘colicinas’ em referência ao micro-organismo produtor original. Em 1928, Rogers evidenciou a capacidade de certas linhagens de *Lactococcus* de promover a inibição de outras bactérias lácticas. Somente em 1947, Mattick e Hirsch isolaram uma substância inibidora produzida por uma linhagem de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, que apresentava um amplo espectro de atividade, denominando-a de nisina. Com a descoberta de que a produção desses compostos não se limitava ao grupo dos coliformes, Jacob et al. em 1953, propuseram o termo ‘bacteriocina’ para as proteínas antimicrobianas produzidas por micro-organismos Gram-negativos e Gram-positivos. (NASCIMENTO et al., 2008).

A nisina foi comercializada pela primeira vez na Inglaterra em 1953, no entanto, somente em 1988 foi aprovado pelo *Food and Drug Administration* (FDA) (Administração de Alimentos e Drogas) nos EUA, como substância segura ou *Generally Recognized As Safe* (GRAS) (Geralmente Reconhecido Como Seguro) e, desde então, tem sido aprovada para uso em mais de 48 países (DEEGAN et al., 2006). No Brasil, em 1996, foi autorizado seu emprego em queijos na concentração de até 12,5 mg/kg (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1996)

4.2.1. Micro-organismos produtores e classificação

A classificação das bacteriocinas ainda é bastante controversa, sendo comuns duas designações para uma mesma bacteriocina, dependendo do autor (Figura 1). Bacteriocinas produzidas por BAL podem ser agrupadas em quatro grandes grupos, com base em sua estrutura, como, por exemplo, similaridades entre a sequência primária, propriedades físico-químicas, sequência-líder e número de peptídeos que constituem sua atividade. Podem ser também agrupadas, principalmente, com base em seu modo de ação (AYMERICH et al., 1996). As bacteriocinas de BAL já foram agrupadas de diversas maneiras, porém ainda há falta de consenso quanto à sua classificação.

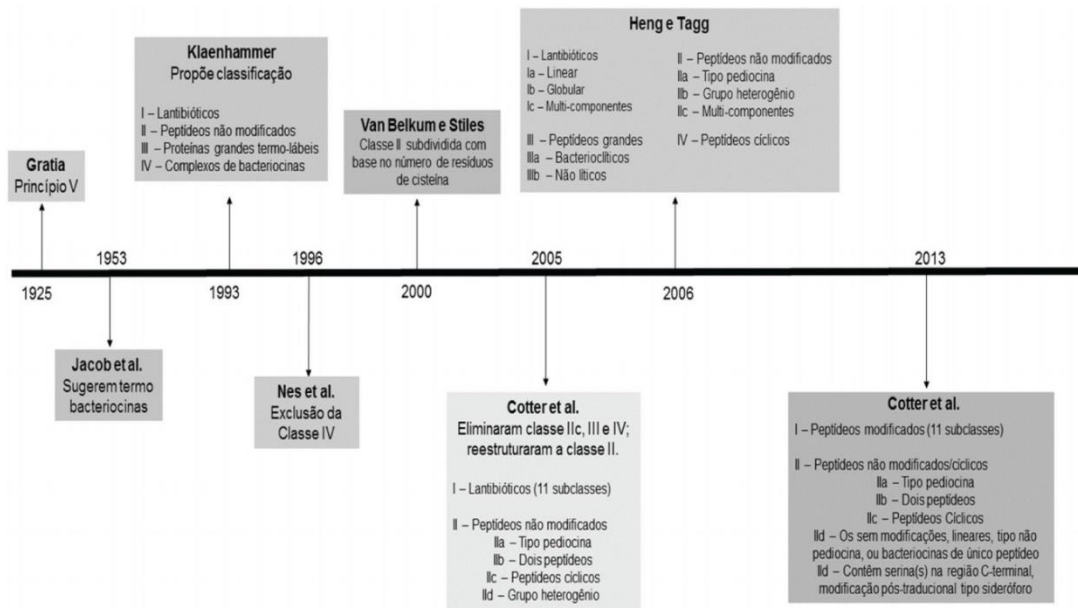


Figura 1 (Adaptada): Evolução cronológica da classificação das bacteriocinas. (OGAKI et al., 2015)

Segundo Ogaki et al. (2015), Klaenhammer (1993) definiu inicialmente quatro classes de bacteriocinas produzidas por BAL. A Classe I refere-se aos lantibióticos, que constitui um grupo de peptídeos pequenos, sintetizados nos ribossomos, que sofrem extensa modificação pós-traducional. Estes contêm resíduos de lantionina e β -metil lantionina, bem como outros aminoácidos, como didehidroalanina e didehidrobutirina. A Classe II inclui os peptídeos pequenos (de 4 a 6 kDa), termoestáveis, sintetizados nos ribossomos, e que não sofrem extensa modificação pós-traducional, exceto a clivagem do peptídeo durante o transporte para fora da célula. A Classe II é dividida em três subgrupos: IIa, IIb e IIc. As bacteriocinas de Classe III são peptídeos termolábeis maiores que 30 kDa e as da Classe IV compreendem complexos de bacteriocinas que contêm lipídeos essenciais ou porções de carboidratos ligados a proteínas.

No sistema de classificação proposto por Nes et al. (1996) os autores excluíram as bacteriocinas de Classe IV, por não terem sido caracterizadas. Já na classificação proposta por Van Belkum e Stiles (2000), as bacteriocinas de Classe II foram subdivididas com base no número de resíduos de cisteína. Nesta classificação, as bacteriocinas secretadas pela via pré-peptídeo translocase (Sec) não seriam classificadas como um grupo separado, devido à diversidade de bacteriocinas secretadas por esta via. Uma classificação simplificada em três grupos principais foi sugerida por Cotter et al. (2005), sendo a Classe I, os lantibióticos (bacteriocinas que contêm lantionina); a Classe II, os não lantibióticos (bacteriocinas que não contêm lantionina); a Classe III, as bacteriolisinas (peptídeos líticos), e a Classe IV (bacteriocinas com porções não proteicas) não foi incluída na classificação. Já as bacteriocinas

circulares, segundo tal classificação, pertencem à Classe II de peptídeos não modificados, de subclasse IIc. Porém, tem-se sugerido uma nova classe IV ou V, que agregue essas bacteriocinas, já que estas se distinguem das demais produzidas por Gram-positivas, e por serem consideradas um grupo único devido à sua homogeneidade (GABRIELSEN et al., 2012).

Ponderando-se a necessidade de uma classificação universal, Heng e Tagg (2006) construíram um esquema de classificação que incluía elementos adotados por Klaenhammer (1993) e Cotter et al. (2005). Também propuseram a subdivisão da Classe I em Ia (lantibióticos lineares), Ib (globulares) e Ic (multicomponentes). Com base na classificação universal proposta por Heng e Tagg (2007), Nes et al. (2007) também propuseram duas classes para incluir bacteriocinas produzidas por *Enterococcus* e *Streptococcus*. Porém, não detalharam a Classe III, que inclui peptídeos termolábeis que degradam a parede de células-alvo, pois a inclusão desta terceira classe tem sido questionada. Segundo essa classificação, a Classe I inclui os lantibióticos e a Classe II é subdividida em IIa (peptídeos tipo pediocina), IIb (bacteriocinas com dois peptídeos), IIc (bacteriocinas sem peptídeos-líder) e IId (peptídeos cíclicos). Considerando-se as inúmeras divergências com as classificações das bacteriocinas, uma nova classificação foi proposta recentemente por Cotter et al. (2013). Essa nova classificação separa as bacteriocinas produzidas por Gram-positivas das que são produzidas por Gram-negativas. As bacteriocinas de Gram-positivas são divididas em apenas duas Classes, I e II, excluindo as Classes III e IV propostas até então. A Classe III seria inclusa na Classe II em uma nova subdivisão IIc e a Classe IV não entraria na classificação, pois a designação de bacteriocinas corresponderia apenas aos peptídeos pequenos ribossomalmente sintetizados, não incluindo outras proteínas antimicrobianas grandes. Segundo a nova classificação, a Classe I corresponde às bacteriocinas que sofrem extensas modificações pós-traducionais e a Classe II engloba as bacteriocinas que não sofrem tais modificações e também as que sofrem modificações modestas, como a formação de pontes dissulfeto, a circularização ou a adição de N-formilmetionina. Já as bacteriocinas de Gram-negativas pertenceriam a dois grupos distintos, um de peptídeos pequenos, como as microcinas (Tabela 2), e um segundo de peptídeos grandes, as colicinas (Tabela 1). As Classes I e II de bacteriocinas de Gram-positivas (Tabela 3) também teriam subdivisões com base nas modificações que sofrem após a tradução. Em uma publicação recente, autores como Yang et al. (2014) já adotaram essa nova classificação. (OGAKI et al. 2015.)

Tabela 1 (Adaptada): Classificação de colicinas por diferentes sistemas translocadores: Tol e Ton-dependência na *E. coli*. (YANG et al., 2014)

Colicinas	Atividade antibacterial	Receptor	Translocadores	Peso molecular (Da)	Produtora de cepa	Referências
GRUPO A						
A	Formação de poro	BtuB	OmpF, TolABQR	62969	<i>Citrobater freudii</i>	Varenne et. al., 1981; Morlon et al. 1983
E1	Formação de poro	BtuB	TolC, TolAQ	57279	<i>Escherichia coli</i>	Yamada et al., 1982
K	Formação de poro	Tsx	OmpAF, TolABQR	59611	<i>Escherichia coli</i>	Pilsl; Braun, 1995a, b, c
N	Formação de poro	OmpF	OmpF, TolAQR	41696	<i>Escherichia coli</i>	Pugsley, 1987
S4	Formação de poro	OmpW	OmpF, TolABQR	54085	<i>Escherichia coli</i>	Pilsl et al., 1999
U	Formação de poro	OmpA	OmpF, TolABQR	66289	<i>Shigella boydii</i>	Smajs et al., 1997
28b	Formação de poro	OmpA	OmpF, TolABQR	47505	<i>Serratia marcescens</i>	Guasch et al., 1995 GenBank: CAA44310.1
E2	DNase	BtuB	OmpF, TolABQR	61561	<i>Escherichia coli</i> <i>Shigella sonnei</i>	Herschman; Helinski, 1967; Cursino et al., 2002
E7	DNase	BtuB	OmpF, TolABQR	61349	<i>Escherichia coli</i>	Chak et al., 1991; Cursino et al., 2002
E8	DNase	BtuB	OmpF, TolABQR	~7000	<i>Escherichia coli</i>	Toba er al., 1988
E9	DNase	BtuB	OmpF, TolABQR	61587	<i>Escherichia coli</i>	Chak et al., 1991; Macdonald et al., 2002
E3	16rRNase	BtuB	OmpF, TolABQR	57960	<i>Escherichia coli</i>	Herschman; Helinski, 1967; Cursino et al., 2002
E4	16rRNase	BtuB	OmpF, TolABQR	ND	<i>Escherichia coli</i>	Males; Stocker, 1982
E6	16rRNase	BtuB	OmpF, TolABQR	58011	<i>Escherichia coli</i>	Akutsu et al., 1989; Cursino et al., 2002
DF13	16rRNase	IutA	OmpF, TolAQR	59293	<i>Escherichia coli</i>	van den Elzen et al., 1983
E5	tRNase	BtuB	OmpF, TolABQR	58254	<i>Escherichia coli</i> <i>Shigella sonnei</i>	Males; Stocker, 1982 GenBank: KF925332.1
GRUPO B						
B	Formação de poro	FepA	TonB-ExBD	54742	<i>Escherichia coli</i>	Scharamm et al., 1987
1a	Formação de poro	Cir	TonB-ExBD	69429	<i>Escherichia coli</i>	Konisky; Richards, 1970 GenBank: AAA23182.2
1b	Formação de poro	Cir	TonB-ExBD	69923	<i>Escherichia coli</i> <i>Shigella sonnei</i>	Konisky; Richards, 1970 GenBank: AAA23182.1
5	Formação de poro	Tsx	TolC, TonB-ExbBD	53137	<i>Escherichia coli</i>	Pilsl; Braun, 1995a
10	Formação de poro	Tsx	TolC, TonB-ExbBD	53342	<i>Escherichia coli</i>	Pilsl; Braun, 1995b
D	tRNase	FepA	TonB-ExBD	74683	<i>Escherichia coli</i>	Roos et al., 1989
M	Peptidoglycanase	FhuA	TonB-ExBD	29453	<i>Escherichia coli</i>	Kock et al., 1987

ND, não determinado.

Tabela 2 (Adaptada): Esquema classificatório para microcinas “Gram-negativas”. (YANG et al., 2014)

Classificação	Características	Microcinas	Peso molecular (Da)	Produtora de cepa	Referências
Classe I	Peptídeos com modificação pós-traducional. Baixo peso molecular (<5kDa)	B17	3094	<i>Escherichia coli</i>	Collin et al., 2013
		C7/C51	1177	<i>Escherichia coli</i>	Severinov et al., 2007
		C93	<1000	<i>Escherichia coli</i>	Martinez; Perez-Diaz, 1986
		J25	2107	<i>Escherichia coli</i>	Wilson et al., 2003
Classe II	Peptídeos maiores (5-10kDa). Com ou sem modificações pós-traducionais				
classe IIa	Requer mais de um gene para sintetizar e reunir peptídeos funcionais	L	8884	<i>Escherichia coli</i>	Pons et al., 2004
		V	8741	<i>Escherichia coli</i>	Fath et al., 1994
		N/24	7274	<i>Escherichia coli</i>	Corsini et al., 2010
classe IIb	Peptídeos lineares com ou sem modificações pós-traducionais na terminação C	E492	7886	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Pons et al., 2002
		M	7284	<i>Escherichia coli</i>	Vassiliadis et al., 2010
		H47	4865	<i>Escherichia coli</i>	Vassiliadis et al., 2010

Tabela 3 (Adaptada): Esquema classificatório para bacteriocinas “Gram-positivas”. (YANG et al., 2014)

Classificação/Características	Bacteriocina	Peso molecular (Da)	Produtora de cepa	Referências
CLASSE I				
As bacteriocinas têm modificação pós-traducional, peptídeos lineares ou globulares contendo lantionina, lantionina β-metil, e aminoácidos desidratados	Nisin A	3352	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactic</i>	Fiel et al., 2012
	Nisin U	3029	<i>Streptococcus uberis</i>	Severinov et al., 2007
	Nisin Z	3493	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactic</i>	Mulders et al., 1991
	Mersacidin	1824	<i>Bacillus</i> sp. Y85,54728	Chatterjee et al., 1992
	Labyrinthopeptin A2	1922	<i>Actinomadura</i> sp.	Mindl et al., 2010
	subtilosin A	3399	<i>Bacillus subtilis</i> 168	Babasaki et al., 1985
CLASSE II				
Classe heterogêneas de pequenos peptídeos termoestáveis, não-modificados, não contendo lantionina.				
Classe IIa (pediocina PA-1 semelhante à bacteriocinas)	pediocina PA-1	4629	<i>Perdiococcus acidilactici</i> PAC-1.0	Hernderson et al., 1992
	carnobacteriocin X	3602	<i>Carnobacterium maltaromaticum</i> C2	Tulini et al., 2014
Classe IIb (composta de dois peptídeos)	lactacin F	4755	<i>Lactobacillus</i> spp.	Fremaux et al., 1993
	ABP-118	4096	<i>Lactobacillus salivarius</i> subsp. <i>salivarius</i> UCC118	Flynn et al., 2002
Classe IIc (peptídeo circular)	carnocyclin A	5862	<i>Carnobacterium maltaromaticum</i> UAL307	Martin-Visscher et al., 2008
Classe IId (peptídeo único, linear não semelhante à pediocina)	enterocin AS-48	7149	<i>Enterococcus faecalis</i>	Samyn et al., 1994
	epidermicin NI01	6074	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Sandiford; Upton, 2012
	lactococcin A	5778	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>Cremoris</i>	Holo et al., 1991
CLASSE III				
Proteínas grandes e termoinstáveis	Caseicin 80	~42000	<i>Lactobacillus casei</i> B80	Muller; Radler, 1993
	Enterolisin A	34501	<i>Enterococcus faecalis</i> LMG233	Nilsen et al., 2003
	Helveticin J	37511	<i>Lactobacillus helveticus</i> 481	Joerger; Klaenhammer, 1990

4.2.2. Natureza química e mecanismos de ação

A maioria das bacteriocinas interage com lipídeos aniônicos presentes na membrana plasmática das bactérias-alvo, sendo ativas principalmente contra bactérias Gram-positivas, já que estas são caracterizadas por um elevado teor de lipídeos aniônicos na membrana (ZACHAROF e LOVITT, 2012; GUILHELMELLI et al., 2013). A maioria das bacteriocinas age permeabilizando a membrana por meio da formação de poros, o que promove a dissipação da força próton motora (PMF) e a inibição do transporte de substratos. A PMF está envolvida em diversos processos na membrana citoplasmática, tais como o transporte de íons e metabólitos, e a síntese de ATP. Outras bacteriocinas podem inibir também bactérias Gram-negativas; porém, estas necessitam transpor a membrana externa da parede celular e alcançar a membrana plasmática da célula-alvo para atuarem. Em contato com a membrana plasmática, são capazes de interferir na síntese de DNA, RNA e proteínas, como os seguintes exemplos de microcinas (Mcc): a MccB17 inibe a DNA-girase, a MccJ25 inibe a RNA polimerase e a MccC7-C51 inibe a aspartil-RNAt sintase. Há também outros mecanismos de ação como a MccE4492 que atua por meio da formação de poros (COTTER et al., 2013).

Os lantibióticos possuem um amplo espectro de ação e geralmente formam poros instáveis; porém, algumas moléculas de ancoragem presentes na membrana-alvo podem funcionar como receptores, aumentando a condutividade e a estabilidade dos poros (MOLL et al., 1999). Alguns membros da Classe I, como a nisina, apresenta pelo menos três tipos de atividade antimicrobiana além da formação de poros na membrana citoplasmática: é capaz de inibir a germinação de esporos bacterianos, a biossíntese da parede celular e a atividade de enzimas autolíticas (MOLL et al., 1999).

As bacteriocinas de Classe II são termoestáveis com espectro restrito de atividade, sendo os receptores na membrana da célula-alvo que determinam sua especificidade de ligação. Em geral, possuem uma estrutura helicoidal anfílica, o que lhes permite se inserir na membrana da célula-alvo, conduzindo à despolarização por dissipação da PMF, com consequente desequilíbrio no conteúdo intracelular (MOLL et al. 1999; COTTER et al., 2005).

Um exemplo do mecanismo de ação das bacteriocinas Classe II é o da lactococcina: os monômeros de lactococcina se ligam a um receptor de membrana (manose-fosfotransferase - ManPTS), se inserem e dão origem aos poros (COTTER et al., 2013). Porém, estudos recentes identificaram que bacteriocinas cíclicas, subclasse IIc (garvicina ML) e bacteriocinas subclasse

Iid (lactococcina LsbB) possuem receptores de membrana diferentes de Man-PTS (COTTER, 2014).

Bacteriocinas da subclasse IIc, como a enterocina AS-48, a garvicina e a circularina, possuem uma estrutura globular compacta composta por porções helicoidais repetidas ao redor de um núcleo hidrofóbico, característica que as tornam altamente estáveis e resistentes a alta temperatura, maiores variações de pH e ação proteolítica (GABRIELSEN et al., 2012). Recentemente, estudos relataram que a atividade antimicrobiana de bacteriocinas cíclicas, como a garvicina ML, está intimamente relacionada ao receptor ABC de membrana transportador de maltose, que pode atuar como permease ou molécula de ancoragem para a ligação e a atividade da bacteriocina (GABRIELSEN et al., 2012; COTTER, 2014). Já, outras bacteriocinas, como a lactococcina LsbB, que pertencente à subclasse Iid, possuem, como receptor as metalopeptidases zinco-dependentes presentes na membrana plasmática das células-alvo (UZELAC et al., 2013).

Bacteriocinas da Classe III ou bacteriolisinas, como a lisostafina, podem funcionar diretamente sobre a parede celular de bactérias Gram-positivas-alvo, causando sua lise (COTTER et al., 2005).

A bactéria produtora de bacteriocina possui um mecanismo de imunidade que a protege da ação de suas próprias bacteriocinas para evitar a lise da própria célula e de células análogas (BENZ e MEINHART, 2014). A proteção é conferida por um peptídeo de imunidade expresso concomitantemente às bacteriocinas (ABEE et al., 1995; BENZ; MEINHART, 2014). A proteína de imunidade pode estar fracamente associada ou não associada às proteínas receptoras de membrana (manose fosfotransferase - Man-PTS). Quando a bacteriocina é produzida, a proteína de imunidade se liga ao receptor evitando que a bacteriocina se ligue a este e forme poros na membrana citoplasmática, o que provocaria a lise celular da produtora (NES et al., 2007).

Devido aos seus efeitos antimicrobianos, frequentemente as bacteriocinas são confundidas com antibióticos, o que muitas vezes, por prejulgamento, pode inviabilizar seu uso em alimentos e na medicina. Porém, existem algumas características que as distinguem dos antibióticos (ANANOU et al., 2007; GILLOR et al., 2008; COTTER et al., 2013):

- i) são sintetizadas nos ribossomos;
- ii) possuem um espectro bactericida restrito;
- iii) possuem toxicidade desconhecida em células eucarióticas;
- iv) as células produtoras possuem imunidade às bacteriocinas que produzem;

- v) são, em geral, termorresistentes;
- vi) são inativas na presença de enzimas proteolíticas do trato gastrointestinal.

4.3 Bacteriocinas: emprego industrial

Cada vez mais a indústria de alimentos se interessa mais pelo uso das bacteriocinas devido ao seu potencial de aplicação na preservação de alimentos, uma vez que poderá substituir ou reduzir a adição de conservantes químicos, sem interferir na qualidade sensorial e nutricional do alimento (VÁSQUEZ et al., 2009; KAUR et al., 2011; ACUÑA et al., 2012).

A eficácia da ação de diferentes bacteriocinas já foi testada em vários alimentos, principalmente em produtos cárneos e laticínios, com relativo sucesso (Tabela 4). No entanto, a autorização para que uma dada bacteriocina seja regulamentada para uso em alimentos depende dos alimentos nos quais ela será adicionada e seu propósito nos mesmos. (SCHULZ et al., 2003).

Em geral, para que uma bacteriocina possa ser empregada na indústria de alimentos deve cumprir alguns requisitos como:

- a) deve ser resultante de uma linhagem microbiana produtora com o status GRAS que assim não apresenta risco à saúde do consumidor;
- b) deve apresentar amplo espectro de inibição sobre os principais patógenos de alimentos ou ser altamente específica para alguns deles;
- c) deve ser termoestável e ter efeito benéfico sobre o produto, aumentando sua segurança sem afetar a qualidade nutricional e sensorial (HOLZAPFEL et al., 1995; NASCIMENTO et al., 2008).

Atualmente existe uma ampla coleção de bacteriocinas que têm sido investigadas como potenciais agentes antimicrobianos para utilização na indústria alimentar, contudo, além da nisina apenas mais duas bacteriocinas estão disponíveis comercialmente. Ambas são produzidas por *Pediococcus* spp. (pediocinas) e usadas em processos de fermentação, com as designações ALTA 2351® (pediocina PA-1) e ALTA 2341®. A ALTA 2341® é uma pediocina produzida pela Quest International (Sarasota, EUA) a partir de *P. acidilactici* e apresenta uma boa atividade contra *L. monocytogenes*, sendo que o fabricante solicitou a sua aprovação pela FDA (MILLS et al., 2011; SABO et al., 2014).

Tabela 1 (Adaptada): Bacteriocinas e suas aplicações como conservadoras de alimentos. (OGAKI, 2015)

Bacteriocina	Alvo bacteriano	Produto	Referência
Enterocina AS-48	<i>L. monocytogenes</i> e <i>Salmonella entérica</i>	Embutidos fermentados	Ananou et al., 2010
Enterocina AS-48	<i>L. monocytogenes</i> , <i>B. cereus</i> e <i>S. aureus</i>	Sucos naturais de vegetais e sucos de frutas comerciais	Grande et al., 2005
Bacteriocina HKT-49	<i>Aeromonas hydrophilia</i> e <i>S. aureus</i>	Vegetais	Kumar et al., 2012
Enterocina AS-48	<i>S. aureus</i>	Produtos lácteos	Muñoz et al., 2007
Nisina	<i>L. monocytogenes</i>	Presunto	Ruiz et al., 2010
BLS P34 <i>Bacillus</i> sp. P34	<i>L. monocytogenes</i>	Salsicha de frango	Sant'Anna et al., 2014

4.3.1. Incorporação em alimentos

As bacteriocinas podem ser aplicadas nos alimentos pelo menos de três formas diferentes:

- 1) podem ser inoculados por uma estirpe produtora de bacteriocina apropriada para a produção de bacteriocinas *in situ*, como cultura iniciadora (*starter*), que pode ser usada em substituição das tradicionais, ou em simultâneo;
- 2) podem ser adicionadas, ao alimento, sob a forma de um ingrediente concentrado, resultante da fermentação de uma cultura produtora,
- 3) podem ser adicionadas purificadas ou semi-purificadas como conservante alimentar (COTTER et al., 2005; NASCIMENTO et al., 2008).

Segundo Gálvez et al. (2007), a produção de bacteriocina *in situ* oferece mais vantagens em relação à produção *ex situ* no que refere a aspetos económicos e legais. Vários trabalhos têm demonstrado que as bacteriocinas tem um bom potencial na biopreservação alimentar, sendo usada isoladamente ou em conjunto com outros métodos de conservação. Entretanto, estudos comprovam que muitas bacteriocinas demonstraram ter um efeito mais eficaz quando utilizadas em sinergia com outros agentes antimicrobianos (p. ex. NaCl, ácidos orgânicos, agentes quelantes, óleos essenciais e outras bacteriocinas) (GÁLVEZ et al., 2007; MILLS et al., 2011). Um bom exemplo desta relação é a nisina, que tem maior eficácia contra bactérias Gram negativas quando utilizada em conjunto com o EDTA.

5. CONCLUSÃO

O anseio do consumidor por alimentos que possam proporcionar segurança e estender sua vida útil faz com que pesquisadores e indústrias busquem novos métodos para satisfazê-los. As bacteriocinas são uma das melhores opções de métodos de controle microbiano em alimentos, podendo ser utilizadas em produtos lácteos, de panificação e em produtos cárneos entre outros. Mesmo as informações disponíveis podendo não ser suficientes para estabelecer uma classificação definitiva e os mecanismos por trás da secreção e regulação da produção desses compostos ainda não sendo todos completamente elucidados, a utilização das bacteriocinas tem se mostrado eficiente e segura como bioconservantes de alimentos desde sua descoberta. Porém, é importante lembrar que as substâncias antimicrobianas dificilmente poderão substituir as boas práticas de fabricação fundamentais para a produção de alimentos seguros e devem ser empregadas como parte de um sistema de conservação de alimentos, promovendo um efeito adicional ou sinérgico a outros fatores de conservação.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEE, T.; KROCKEL, L.; HILL, C. Bacteriocins: modes of action and potentials in food preservation and control of food poisoning. **International Journal of Food Microbiology**, v. 28, p. 169-185, 1995.

ACUÑA, L.; PICARIELLO, G.; SESMA, F.; MORERO, R. D.; BELLOMIO, A. A new hybrid bacteriocin, Ent35-MccV, displays antimicrobial activity against pathogenic Gram-positive and Gram-negative bacteria. **The Federation of European Biochemical Societies Open BIO**, v.2, p.12-19, 2012.

ALLENDE, A.; MARTÍNEZ, B.; SELMA, M. V.; GIL, M. I.; SUÁREZ, J. E.; RODRÍGUEZ, A. Growth and bacteriocin production by lactic acid bacteria in vegetable broth and their effectiveness at reducing *Listeria monocytogenes* in vitro and in fresh-cut lettuce. **Food Microbiology**, v. 24, p. 759-766, 2007.

ANANOU, S.; MAQUEDA, M.; MATÍNEZ-BUENO, M.; VALDIVIA, E. Biopreservation, ecological approach to improve the safety and shelf-life of foods. **Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology**, v. 1, p. 475-486, 2007.

AYMERICH, T.; HOLO, H.; HAVARSTEIN, L.S.; HUGAS, M.; & NES, I. F. Biochemical and genetic characterization of enterocin A from *Enterococcus faecium*, a new antilisterial bacteriocin in the pediocin family of bacteriocins. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, p. 1676-1682, 1996.

BALCIUNAS, E. M.; CASTILLO MARTINEZ, F. A.; TODOROV, S. D.; FRANCO, B. D. G. M.; CONVERTI, A.; OLIVEIRA, R. P. S.; MARTINEZ, F. A. C.; TODOROV, S. D.;

FRANCO, B. D. G. M.; COVERTI, A.; OLIVEIRA, R. P. S. Novel biotechnological applications of bacteriocins: a review. **Food Control**, v. 32, p. 134-142, 2013.

BENZ, J.; MEINHART, A. Antibacterial effector/immunity systems: it's just the tip of the iceberg. **Current Opinion in Microbiology**, v. 17, p. 1-10, 2014.

CLEVELAND, J.; MONTVILLE, T. J.; NES, I. F.; CHIKINDAS, M. L. Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. **International Journal of Food Microbiology**, v. 71, p. 1-20, 2001

COTTER, P. D., HILL, C., ROSS, R. P. Bacteriocins: developing innate immunity for food. **Nature Review Microbiology**, v. 3, p. 777-788. 2005

COTTER, P. D.; ROSS, R. P.; HILL, C. Bacteriocins: a viable alternative to antibiotics? **Nature Reviews Microbiology**, v.11, n. 2, p. 95-105, 2013.

COTTER, P. D. An 'Upp'-turn in bacteriocin receptor identification. **Molecular Microbiology**, v. 92, p. 1159-1163, 2014.

DA SILVA VASCONCELOS, M. A.; DE MELO FILHO, A. B. **Conservação de Alimentos**. Programa Escola Técnica Aberta do Brasil (ETEC – Brasil). Recife: EDUFRPE, 130 p. 2010,

DEEGAN, L. H.; COTTER, P. D.; HILL, C.; ROSS, P. Bacteriocins: Biological tools for bio-preservation and shelf-life extension. **International Dairy Journal**, v. 16, p.1058-1071, 2006

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de Alimentos**. 2 ed. São Paulo. Atheneu, 2000. 672 p.

FREITAS, A. L.; FIGUEIREDO, P. Conservação de alimentos. **Livro de apoio a disciplina Conservação de alimentos**. Lisboa, 2000.

GABRIELSEN, C.; BREDE, D. A.; HERNÁNDEZ, P. E.; NES, I. F.; DIEP, D. B. The maltose ABC transporter in *Lactococcus lactis* facilitates high-level sensitivity to the circular bacteriocin garvicin ML. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 56,p. 2908-2915, 2012.

GÁLVEZ, A.; ABRIOUEL, H.; LÓPEZ, R. L.; OMAR, N. B. Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. **International Journal of Food Microbiology**, v. 120, p. 51-70, 2007.

GAVA, A. J.; SILVA, C.A.B.S.; FRIAS, J.R.G. Tecnologia de alimentos : princípios e aplicações. São Paulo, SP: **Nobel**, 2009.

GILLOR, O.; ETZION, A.; RILEY, M. A. The dual role of bacteriocins as anti- and probiotics. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 81, p. 591-606, 2008.

GUILHELMELLI, F.; VILELA, N.; ALBUQUERQUE, P.; DERENGOWSKI, L. S.; SILVA-PEREIRA, I.; KYAW, C. M. Antibiotic development challenges: the various mechanisms of action of antimicrobial peptides and of bacterial resistance. **Frontiers in Microbiology**, v. 4, p. 1-12, 2013.

HENG, N. C. K.; TAGG, J. R. What's in a name? Class distinction for bacteriocins. **Nature Reviews Microbiology** 4, doi:10.1038/nrmicro1273-c1 . 2006

HOLLEY, R. A.; PATEL, D. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. **Food Microbiology**, v. 22, p. 273-292, 2005.

HOLZAPFEL, W. H.; GEISEN, R.; SCHILLINGER, U. Ecological preservation of foods with reference to protective cultures, bacteriocins and food-grade enzymes. **International Journal of Food Microbiology**, v. 24, p. 343-362, 1995.

JONES, E.; SALIN, V., & WILLIAMS, G. W. Nisin and the market for commercial bacteriocins. **Consumer and Product Research CP-01-05, Texas Agribusiness Market Research Center, Texas A&M University, College Station, Tex, USA**, 2005.

KAUR, G.; MALIK, R. K.; MISHRA, S. K.; SINGH, T. P.; BHARDWAJ, A., SINGROHA, G.; ...& KUMAR, N. Nisin and class IIa bacteriocin resistance among *Listeria* and other foodborne pathogens and spoilage bacteria. **Microbial Drug Resistance**, v. 17, p. 197-205, 2011.

KLAENHAMMER, T.R. Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 12, p. 39-86, 1993.

LOPES, R. L. T. Conservação de alimentos. **Dossiê Técnico. Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais: CETEC**, 2007.

MILLS, S., STANTON, C., HILL, C., ROSS, R. P. New developments and applications of bacteriocins and peptides in foods. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 2, p. 299-329, 2011.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria nº 29, de 22 de janeiro de 1996. Resolve aprovar a extensão de uso da nisina com a função deconservador para queijos pasteurizados no limite máximo de 12.5mg/kg. Diário Oficial, Brasília, 23 jan. 1996, Seção 1.

MOLL, G. N.; KONINGS, W. N.; DRIESSEN, A. J. M. Bacteriocins: mechanism of membrane insertion and pore formation. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 76, p. 185–198, 1999.

NASCIMENTO, M. S.; MORENO, I.; KUAYE, A. Y. Bacteriocinas em alimentos: uma revisão. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.11, p.120-127, 2008.

NES, I. F.; DIEP, D. B.; HAVARSTEIN, L. S.; BURBERG, M. B.; EIJSINK, V.; & HOLO, H. Biosynthesis of bacteriocins in lactic acid bacteria. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 70, p. 113-128, 1996.

NES, I. F.; DIEP, D. B.; HOLO, H. Bacteriocin diversity in *Streptococcus* and *Enterococcus*. **Journal of Bacteriology**, v. 189, p. 1189-1198, 2007.

NUNES, P.; CARLA, E.; KELLY, G.; LOPES, M.; & CARNEIRO, P. F. P. Os Mitos e as Verdades da Irradiação de Alimentos. **Caderno de Graduação-Ciências Biológicas e da Saúde-FACIPE**, v. 1, n. 3, p. 103-110, 2014.

OGAKI, M.B.; FURLANETO, M.C.; MAIA, L.F.. Review: General aspects of bacteriocins. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 18, p. 267-276, 2015.

REBELLO, F.F.P.; GASPAR, A. Microorganismos e seus metabólitos utilizados na indústria de alimentos. **Revista Agrogeoambiental**, v. 2, p.135-142, 2010.

RILEY, M. A.; WERTZ, J. E. Bacteriocin diversity: ecological and evolutionary perspectives. **Biochimie**, v. 84, p. 357–364, 2002.

SABO, S., VITOLO, M., GONZÁLEZ, J. M. D., OLIVEIRA, R. P. D. S. Overview of *Lactobacillus plantarum* as a promising bacteriocin producer among lactic acid bacteria. **Food Research International**, v. 64, 527-536, 2014.

SCHULZ, D., PEREIRA, M. A., BONNELLI, R. R., NUNES, M. M., BATISTA, C. R. V. Bacteriocinas: mecanismo de ação e uso na conservação de alimentos. **Alimentação e Nutrição**. v. 14, 229-235, 2003.

SCHULZ, D.; BONELLI, R. R.; BATISTA, C. R. V. Bacteriocinas e enzimas produzidas por *Bacillus sp.* para conservação e processamento de alimentos. **Alimentos e Nutrição**. v.16, p. 403-411, 2005.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. Divulgação da tecnologia de irradiação de alimentos e outros materiais. **São Paulo: USP**, 2006. Disponível em: <http://www.cena.usp.br/irradiação/> Acesso em: 29 dez 2016.

UZELAC, G.; KOJIC, M.; LOZO, J.; ALEKSANDRZAK-PIEKARCZYK, T.; GABRIELSEN, C.; KRISTENSEN, T.; NES, I. F.; DIEP, D. B.; TOPISIROVIC, L.; NES, I. F.; DIEP, D. B.; TOPISIROVICA, L. A Zn-dependent metallopeptidase is responsible for sensitivity to lsbB, a class II leaderless bacteriocin of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* BGMN1-5. **Journal of Bacteriology**, v. 195, p. 5614-5621, 2013.

VAN BELKUM, M. J.; STILES, M. E. Nonantibiotic antibacterial peptides from lactic acid bacteria. **Natural Product Reports**, v. 17, p. 323-335, 2000

VÁSQUEZ M. S. M., SUÁREZ M, H., ZAPATA B, S. Utilización de sustancias antimicrobianas producidas por bacterias ácido lácticas en la conservación de la carne. **Revista Chilena de Nutrición**, v. 36, p. 64-71. 2009

YANG, S. C., LIN, C. H., SUNG, C. T., FANG, J. Y. Antibacterial activities of bacteriocins: application in foods and pharmaceuticals. **Frontiers in Microbiology** v. 5, p. 241, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00241>

ZACHAROF, M. P.; LOVITT, R. W. Bacteriocins produced by lactic acid bacteria: a review article. **Asia-Pacific Chemical Biological and Environmental Engineering Society**, v. 2, p. 50-56, 2012.