

BACTERIOCINAS COMO ALTERNATIVA NA CONSERVAÇÃO DE ALIMENTOS

Cybelle Pereira de Oliveira

Prof.^a Assistente da UFCG/CCTA - *Campus* Pombal, Pb.
Doutoranda no Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFPB,
Campus João Pessoa, Pb. E-mail: cybelleoliveira@ccta.ufcg.edu.br

José Pinto de Siqueira Júnior

Prof. Associado da UFPB/DBM - *Campus* João Pessoa, Pb. E-mail: jpsiq@uol.com.br

João Andrade da Silva

Prof. Associado da UFPB/CTDR - *Campus* João Pessoa, Pb. E-mail: joaoandrade@ctdr.ufpb.br

Resumo - A contaminação de alimentos é um sério problema que resulta em grandes índices de morbidade. Apesar de existem diversas tecnologias de conservação já disponíveis, nenhuma delas assegura completamente a qualidade microbiológica dos alimentos. Com isso, fica evidente a necessidade de se desenvolver alternativas de conservação para que, aliadas às tecnologias existentes, possibilite disponibilizar alimentos de qualidade microbiológica e toxicológica seguras à população. Com esse intuito, a biopreservação é uma alternativa bastante promissora. Trata-se de uma técnica utilizada para estender a vida útil dos alimentos e aumentar a sua segurança por meio da aplicação de uma microbiota protetora, a exemplo das bactérias lácticas e das suas propriedades antibacterianas, com ênfase a produção das bacteriocinas. Bacteriocinas são peptídios ou proteínas antimicrobianas que apresentam ação bactericida ou bacteriostática sobre microrganismos relacionados, sem promover alteração na qualidade sensorial dos alimentos. Grande parte dos estudos dos últimos anos sobre biopreservação está baseada nas bacteriocinas, enfatizando-se sua detecção, produção, purificação, mecanismo de ação, caracterização bioquímica, propriedades bactericidas, microrganismos inibidores ou sensíveis e aplicação com êxito na bioconservação de alimentos, como é o caso da nisina.

Palavras-chave: peptídeos antimicrobianos; bactérias ácido lácticas; bioconservação

BACTERIOCINS AS A FOOD PRESERVATION ALTERNATIVE

Abstract - Food contamination is a serious problem that results in substantial morbidity. Although there are several conservation technologies already available, none of them completely ensures the microbiological quality of food. Thus, it is evident the need to develop alternatives for the conservation of which, together with existing technologies, enables providing quality food microbiological and toxicological secure to the population. To that end, the biopreservacion is a promising alternative. This is a technique used to extend the useful life of foods and increase security by applying a protective microflora, the example of lactic acid bacteria and their antibacterial properties, with emphasis on the production of bacteriocins. Bacteriocins are antimicrobial peptides or proteins that have bactericidal or bacteriostatic action of microorganisms involved, without changes in sensory quality of foods. Most studies in recent years on biopreservacion is based on bacteriocins, with emphasis on detection, production, purification, mechanism of action, biochemical characterization, antibacterial properties, inhibiting or microorganisms sensitive and successful application in bioconservacion of food, as is the case of nisin.

Key words: antimicrobial peptides; lactic acid bacteria; bioconservacion

INTRODUÇÃO

A contaminação de alimentos é um sério problema que resulta em grandes índices de morbidade. Apesar de existem diversas tecnologias de conservação já disponíveis, nenhuma delas assegura completamente a qualidade microbiológica dos alimentos. Com isso, fica evidente a necessidade de se desenvolver alternativas de conservação para que, aliadas às tecnologias existentes, possibilite disponibilizar alimentos de qualidade

microbiológica e toxicológica seguras à população. Com esse intuito, os bioconservadores ou biopreservadores são uma alternativa bastante promissora (SCHULZ; BONELLI; BATISTA, 2005; VÁSQUEZ et al., 2009).

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-lácticas, 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; VÁSQUEZ et al., 2009).

Bacteriocinas são peptídios ou proteínas antimicrobianas sintetizadas nos ribossomos das células bacterianas e liberadas no meio extracelular que apresentam ação bactericida ou bacteriostática sobre microrganismos taxonomicamente relacionados. 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; MORENO; KUAYE, 2008).

Grande parte dos estudos sobre biopreservação dos últimos anos está concentrada sobre as bacteriocinas, enfatizando-se sua detecção, produção, purificação, mecanismo de ação, caracterização bioquímica, propriedades bactericidas, microrganismos inibidores ou sensíveis e aplicação com êxito na bioconservação de alimentos, como é o caso da nisina (VÁSQUEZ et al., 2009).

Pesquisas com bacteriocinas de bactérias lácticas têm-se expandido nos últimos anos. Suas propriedades antagonistas sobre outros microrganismos aliadas à história de seu uso em produtos fermentados tradicionais as tornam muito atrativas para serem utilizadas como bioconservantes. Como as bactérias lácticas ocorrem naturalmente em muitos alimentos fermentados, suas bacteriocinas podem ser mais facilmente aceitas como aditivos alimentares pelas autoridades de saúde e pelos consumidores (ROSA & FRANCO, 2002). Uma vez que a adição de antibióticos não é permitida em alimentos, as bacteriocinas tornam-se um interessante grupo de biomoléculas com propriedades microbianas que representam uma boa alternativa. O interesse por esses compostos tem estimulado o isolamento e a caracterização de peptídios antimicrobianos produzidos por bactérias lácticas (PARADA et al., 2007).

Desta forma, a busca por bacteriocinas de microrganismos considerados seguros como biopreservativos, como as bactérias lácticas, será de grande valia como potencial inibidor de patógenos e deterioradores alimentares.

BACTERIOCINAS: CONCEITO E HISTÓRICO

Bacteriocinas são peptídios ou proteínas antimicrobianas sintetizadas nos ribossomos das células bacterianas e liberadas no meio extracelular. Essa produção ocorre de forma natural durante a fase logarítmica do crescimento microbiano ou ao final desta, possuindo relação direta com a biomassa produzida. As bacteriocinas apresentam ação bactericida ou bacteriostática sobre microrganismos relacionados cujo espectro de ação é dependente da espécie alvo. A célula produtora sintetiza uma molécula que a torna imune contra sua própria bacteriocina. O crescente interesse da

pesquisa e da indústria de alimentos sobre o tema dá-se devido ao potencial de aplicação das bacteriocinas 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).

Para que o potencial bioconservador de uma bacteriocina possa vir a ser aproveitado na indústria de alimentos, a mesma deverá cumprir alguns requisitos pré-estabelecidos, como ser termoestável, não apresentar risco à saúde do consumidor, apresentar amplo espectro de inibição sobre os principais patógenos de alimentos ou ser altamente específica sobre algum deles, ter efeito benéfico sobre o produto aumentando sua segurança e ser resultante de uma linhagem microbiana produtora com o status *Generally Recognized As Safe* (GRAS) (NASCIMENTO et al., 2008; AGRAWAL & DHARMESH, 2012).

Segundo histórico apresentado por Nascimento et al. (2008), os primeiros registros sobre bacteriocinas datam de 1925, quando André Gratia publicou um estudo referente ao antagonismo promovido por uma linhagem de *Escherichia coli* sobre outras linhagens da mesma espécie. As substâncias responsáveis por esse efeito inibitório foram denominadas de 'colicinas' em referência ao microrganismo produtor original. 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 microrganismos Gram-negativos e Gram-positivos. 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 concentraram uma substância inibidora produzida por uma linhagem de *Lc. lactis* subsp. *lactis*, que apresentava um amplo espectro de atividade, denominando-a de nisina. Esta bacteriocina foi inicialmente purificada e comercializada na Inglaterra em 1953, sendo considerada segura para uso em alimentos pela Organização de Alimentos e Agricultura/Organização Mundial de Saúde (FAO/OMS) em 1969, com o limite máximo de ingestão de 33.000 Unidades Internacionais/kg de peso corpóreo (SCHULZ et al., 2003). Na Europa, em 1983, a nisina foi adicionada à lista de aditivos alimentares e, em 1988, nos EUA, o Food and Drug Administration (FDA) autorizou seu uso em queijos processados. No Brasil, em 1996, o Ministério da Saúde autorizou seu emprego em queijos na concentração de até 12,5mg.kg⁻¹ (NASCIMENTO et al., 2008).

Na natureza, a produção de bacteriocinas pode ser detectada tanto em diferentes microrganismos Gram-positivos quanto em Gram-negativos, porém os Gram-positivos estão relacionados com uma maior diversidade e abundância de produção que as bactérias Gram-negativas. Contudo, as bacteriocinas produzidas por bactérias ácido-lácticas (BAL) têm concentrado atenção considerável por parte dos pesquisadores e da indústria devido ao seu potencial como biopreservativo em alimentos, decorrente

da ação inibitória sobre patógenos e deterioradores de alimentos, e também como potencial de aplicação na terapêutica (KAUR et al., 2011).

Parada et al. (2007) mencionam que as bacteriocinas formam um grupo bastante heterogêneo considerando seu espectro antibacteriano de ação, espécies produtoras, peso molecular, estabilidade, propriedades físico-químicas e modo de ação. Há um tipo mais clássico, onde o espectro de ação antimicrobiano é efetivo apenas contra espécies homólogas, e um segundo tipo, menos comum, que possuem um amplo espectro de ação contra microrganismos Gram-positivos. Bacteriocinas ativas contra bactérias Gram-negativas não são frequentes, pois a membrana externa dessas bactérias funciona como uma barreira permeável para a célula, dificultando e/ou impedindo que essas moléculas alcancem à membrana citoplasmática microbiana. Todavia Parada et al. (2007) cita alguns estudos que mencionaram atividade bacteriocinogênica contra bactérias Gram-negativas, como plantaricin 35d produzida por *Lactobacillus plantarum* e ativo contra *Aeromonas hydrophila*, a inibição de *Escherichia coli* por uma bacteriocina produzida por *Lactobacillus paracasei* subsp. *Paracasei* e algumas outras.

BACTERIOCINAS DE BACTÉRIAS ÁCIDO-LÁCTICAS: CLASSIFICAÇÃO E BIOSÍNTESE

Bactérias lácticas são microrganismos anaeróbios, anaeróbios facultativos ou microaerófilos, Gram-positivos, sem motilidade e se apresentam na forma de cocos ou de bacilos não esporulados (MATA et al., 2008). Despertam interesse devido ao seu potencial de utilização no biocontrole em alimentos. Elas podem exercer a atividade inibitória frente a outras bactérias devido à competição direta por nutrientes e/ou pela produção de compostos antagonísticos como ácidos orgânicos, peróxido de hidrogênio, diacetil e bacteriocinas (SARIKA et al., 2010).

As bacteriocinas de bactérias lácticas são geralmente estáveis ao calor, são degradadas pela ação de enzimas proteolíticas do trato intestinal humano e não induzem alterações nas propriedades organolépticas dos alimentos. Essas características conferem a essas bacteriocinas interesse especial, devido ao seu potencial biopreservativo em alimentos e representa uma opção atrativa para a indústria, podendo contribuir para o aumento da vida de prateleira dos alimentos. Além disso, a ação combinada do ácido láctico e da bacteriocina também pode ser efetiva contra bactérias oportunistas indesejáveis em alimentos fermentados (DELBONI, 2009)

As bacteriocinas de BAL investigadas até o momento diferem em seus espectros de atividade, características bioquímicas e determinantes genéticos. A maioria delas possui baixa massa molecular (3 a 10 kDa), alto ponto isoelétrico e contém regiões hidrofílicas e hidrofóbicas (CARRIM, 2005). Segundo Schulz et al. (2003), Carrim (2005) e Rajaram et al. (2010) estas

bacteriocinas podem ser subdivididas em 4 classes, baseadas na sua estrutura primária, peso molecular, estabilidade ao calor e organização molecular. Em função das semelhanças observadas nas suas características, essa classificação acabou sendo adotada também para substâncias produzidas por outras bactérias Gram-positivas.

A Classe I é a dos lantibióticos, caracterizados pela presença de lantionina e β -metil lantionina, com peso molecular inferior a 5 kDa, sendo alguns representantes desse grupo a nisina, lacticina 481, carnocina UI49, lactocina S. Na Classe II estão agrupados pequenos peptídeos (<10 kDa) relativamente estáveis ao calor, que não contêm lantionina, como a pediocina pA-1, sakacinas A e P, curvacina A e outras. A Classe III encontra-se associada a grandes proteínas termolábeis (>30 kDa) que podem ser representadas pelas helveticinas J, acidophilucina A e lactacinas A e B. Já na classe IV, encontramos bacteriocinas complexas que contêm porções lipídicas ou de carboidratos, além da porção protéica, como a plantaricina S, leuconocina S, lactocina 27, pediocina SJ 1 (CLEVELAND et al (2001); RAJARAM et al., 2010).

Os aspectos bioquímicos e genéticos envolvidos na biossíntese de bacteriocinas das classes I e II têm sido extensivamente investigados, dada sua conhecida atividade letal contra patógenos alimentares. A síntese de bacteriocinas envolve quatro diferentes genes: o responsável pela produção do pré-peptídeo ou pré-bacteriocina; aquele responsável pela produção da proteína que confere imunidade à célula produtora; o da produção das proteínas do transporte ABC que externalizam a bacteriocina e, por fim, o gene que codifica uma proteína acessório, não pertencente ao transporte ABC, mas necessária para a excreção da bacteriocina. A específica função dessa proteína acessório não é conhecida (ROSA & FRANCO, 2002).

As bacteriocinas são sintetizadas, primeiramente, na forma de pré-peptídeos ou pré-bacteriocinas biologicamente inativos. Esses pré-peptídeos contêm uma sequência de 18 a 27 aminoácidos, apresentando 2 glicinas na região N-terminal. As funções dessa sequência de aminoácidos são evitar que a bacteriocina seja biologicamente ativa dentro da célula produtora e servir como sinal de reconhecimento para o sistema de transporte que envolve as proteínas do transporte ABC e uma proteína acessória. As duas glicinas presentes na sequência de aminoácidos são as responsáveis pelo reconhecimento da pré-bacteriocina no sistema de transporte. Após o reconhecimento do pré-peptídeo, a sequência de aminoácidos é removida e a bacteriocina é excretada da célula (ROSA & FRANCO, 2002).

As bacteriocinas são sintetizadas, primeiramente, na forma de pré-peptídeos ou pré-bacteriocinas biologicamente inativos. Esses pré-peptídeos contêm uma sequência de 18 a 27 aminoácidos, apresentando 2 glicinas na região N-terminal. As funções dessa sequência de aminoácidos são evitar que a bacteriocina seja

biologicamente ativa dentro da célula produtora e servir como sinal de reconhecimento para o sistema de transporte que envolve as proteínas do transporte ABC e uma proteína acessória. As duas glicinas presentes na seqüência de aminoácidos são as responsáveis pelo reconhecimento da pré-bacteriocina no sistema de transporte. Após o reconhecimento do pré-peptídeo, a seqüência de aminoácidos é removida, e a bacteriocina, excretada da célula (ROSA & FRANCO, 2002).

MECANISMO DE AÇÃO DAS BACTERIOCINAS

O mecanismo de ação das bacteriocinas pode ocorrer de diferentes formas, sendo mais depende dos fatores relacionados à espécie bacteriana e de suas condições de crescimento do que uma característica relacionada à sua própria molécula. A ação pode promover um efeito letal bactericida, sem lise ou com lise celular, ou ainda inibir a multiplicação microbiana, com efeito bacteriostático (SCHULZ et al., 2003).

A maioria das bacteriocinas de BAL caracterizadas aparenta ter um mecanismo de ação comum, no qual se ligam à receptores na membrana celular da bactéria alvo. Em seguida ocorre inserção das bacteriocinas na membrana causando dissipação da força próton-motriz e agregação de monômeros, com modificações no potencial de membrana e no gradiente de

concentração de H⁺. Tais efeitos, em microrganismo vivo, levam à formação de poros na membrana citoplasmática provocando a saída de compostos pequenos ou altera a força próton-motora necessária para a produção de energia e síntese de proteínas, o que pode acarretar na perda de viabilidade da célula-alvo (MARTINS et al., 2006; DELBONI, 2009).

Até o presente, a nisina consiste na única bacteriocina utilizada comercialmente como agente natural de conservação de alimentos. De um modo geral, a ação da nisina sobre células de microrganismos Gram-positivos ocorre em duas etapas. A primeira envolve a adsorção não-específica da nisina sobre a parede celular de microrganismos Gram-positivos, fenômeno reversível e dependente do pH (3,0-6,5), da composição fosfolipídica da membrana citoplasmática dos microrganismos sensíveis, da presença de cátions divalentes e trivalentes (Mg²⁺, Ca²⁺ e Gd³⁺) e da concentração utilizada. Em uma segunda etapa, a nisina torna-se insensível às proteases e as células sofrem mudanças irreversíveis. Ela seria fortemente atraída aos fosfolipídios na membrana, formando poros ou canais de 0,2-1,0nm de diâmetro. A simultânea despolarização da membrana causaria um rápido efluxo de moléculas essenciais (íons K⁺, aminoácidos e ATP), levando a uma série de alterações que resultariam na lise celular (MORENO et al, 1999).

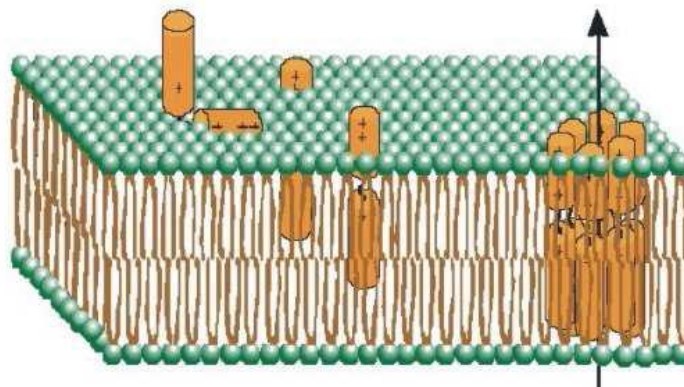


Figura 1 Mecanismo de ação da nisina
Fonte: SCHULZ et al. (2003).

DETECÇÃO DA PRODUÇÃO, EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE BACTERIOCINAS

O estudo das bacteriocinas inicia-se com a detecção de linhagens microbianas produtoras. Para isso, existem várias metodologias relacionadas, incluindo sua produção e purificação, uma vez que a natureza química das bacteriocinas é extremamente heterogênea (CARRIM, 2005).

Segundo Carrim (2005), existem métodos simples de identificar diferentes agentes causadores de

efeitos inibitórios. Estes devem ser aplicados antes que o antagonismo seja atribuído às bacteriocinas. Tais métodos incluem principalmente o uso de catalase no meio onde será detectada a atividade ou a incubação da cepa produtora, em anaerobiose, para eliminar a atividade do peróxido de hidrogênio, bem como a neutralização do pH do sobrenadante que contém o agente antimicrobiano, evitando desta forma a ação inibitória por ácidos orgânicos.

Para a extração de substâncias semelhantes à bacteriocinas, a maioria dos métodos utiliza-se do

crescimento da cepa produtora no meio de cultura apropriado, seguido da retirada dessas células do meio quer seja por filtração ou por centrifugação, e posterior precipitação das bacteriocinas por ação do sulfato de amônio (0 a 20%). Entretanto, essa técnica utilizada isoladamente não proporciona um bom produto final, uma vez que muitas outras proteínas do meio podem também ser precipitadas e o rendimento não é muito alto. Para purificação adicional de bacteriocinas precipitadas, especialmente na determinação de composição e seqüência de aminoácidos, têm-se utilizado técnicas de cromatografia (CARRIM, 2005).

Geralmente, o processo de purificação inicia-se com a centrifugação da cultura com o intuito de separar as células microbianas do sobrenadante, que é posteriormente concentrado através da precipitação com sulfato de amônio. Em etapas sucessivas, são utilizados métodos cromatográficos como cromatografia em gel, de troca-iônica, de interação hidrofóbica e de fase reversa. A extração com solventes orgânicos também pode ser realizada. Apesar destas técnicas resultarem em compostos altamente puros, o rendimento final é baixo e geralmente inferior a 20%, funcionando bem para pequenas quantidades de sobrenadantes, mas tornando-se inviável para uma produção em escala semi-industrial. Alguns pesquisadores têm utilizado a propriedade de adsorção das bacteriocinas nas células produtoras para purificar essas substâncias. Um exemplo consiste em aquecer a cultura após a produção da bacteriocina (para matar as bactérias) sendo previamente ajustado o pH (a adsorção da bacteriocina é pH dependente), deixando-a posteriormente uma noite à 4°C sob agitação magnética, a fim de permitir a adsorção da bacteriocina às células mortas. Após a separação das células do sobrenadante, estas são lavadas e re-suspendidas em tampão adequado e agitadas novamente sob refrigeração para permitir a liberação da bacteriocina adsorvida, obtendo-a assim do sobrenadante (OLIVEIRA, 2004).

FATORES QUE INFLUENCIAM NA PRODUÇÃO DE BACTERIOCINAS

A produção das bacteriocinas ativas pode ser influenciada pelas condições de incubação como a temperatura, o pH e o tempo. A composição do meio de crescimento também afeta grandemente essa produção e em geral os meios complexos, que contém uma rica fonte de nitrogênio, ou o aumento de nutrientes, são ótimos para uma maior produção bacteriocinogênica. Entretanto, o acréscimo de outras substâncias como tween 80, pode não só inibir a produção das bacteriocinas como prejudicar a posterior purificação destas (CARRIM, 2005).

Conforme Schulz et al. (2005) e Nascimento et al. (2008), a atividade das bacteriocinas no alimento não é uniforme e constante e depende da composição química e das condições físicas dos alimentos, como a mudança na solubilidade e na carga eletrostática, a sua ligação aos componentes do alimento, ação do pH, inativação por

proteases e mudanças na parede ou na membrana celular dos microrganismos-alvo como resposta a fatores ambientais. A eficiência inibitória das bacteriocinas também está relacionada ao nível de contaminação do alimento pelo microrganismo-alvo. Se a contaminação inicial for muito elevada, a atividade da bacteriocina é restrita, não impedindo o desenvolvimento do microrganismo.

Sakira et al. (2010) avaliando a produção de bacteriocinas por um novo isolado de *Lactobacillus rhamnosus* GP1 sobre diferentes condições de cultivo, obtiveram uma melhor atividade antagonística da suspensão de bacteriocinas com um amplo espectro de ação ao utilizar o meio MRS como caldo de crescimento, enfatizando a influência da composição do meio na produção do composto antimicrobiano.

NISINA E BACTERIOCINAS EM ALIMENTOS

As bacteriocinas podem ser introduzidas nos alimentos por três diferentes maneiras: em alimentos fermentados, podem ser produzidas *in situ* pela adição de culturas lácticas bacteriocinogênicas no lugar das tradicionais culturas iniciadoras; pela adição destas culturas como adjuntas; ou pela adição direta de bacteriocinas purificadas ao alimento (NASCIMENTO et al., 2008).

A eficácia da ação de diferentes bacteriocinas já foi testada em vários alimentos, principalmente em produtos cárneos e laticínios, com relativo sucesso. 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. O uso de bacteriocinas purificadas, microrganismos produtores de bacteriocinas ou expressão genética de bacteriocinas em microrganismos produtores de alimentos nos Estados Unidos está sob jurisdição da *Food and Drug Administration* (FDA) e são regulamentados como ingredientes alimentares sob o *Federal Food, Drug and Cosmetic Act* (FFDCA). No FFDCA, as substâncias são reconhecidas como seguras (*substances generally recognized as safe* - GRAS) por especialistas qualificados (SCHULZ et al., 2003).

De acordo com Gálvez et al. (2007) muitas bacteriocinas de BAL oferecem aplicação potencial na preservação de alimentos e o uso de bacteriocinas na industrial alimentar pode ajudar a reduzir a adição de conservantes químicos bem como a intensidade dos tratamentos químicos, resultando em alimentos mais naturalmente preservados e ricos em propriedades organolépticas e nutricionais.

A aplicação de uma bacteriocina como um aditivo em alimentos demanda uma exaustiva avaliação dos seus efeitos tóxicos anterior a sua aceitação legal. Por esse motivo, a nisina é a única bacteriocina utilizada comercialmente, até o momento, como agente natural de conservação de alimentos (SOBRINO-LÓPEZ & BELLOSO, 2008), sendo estudada desde meados de 1950

(NASCIMENTO et al., 2008). Estudos de toxicidade aguda, sub-crônica, crônica, de resistência cruzada e sensibilidade alérgica indicaram que a nisina é segura para o consumo humano com uma dose diária aceitável de 2,9 mg/pessoa/dia (SCHULZ et al., 2003), sendo sua DL50 (dose letal capaz de matar 50% da população de animais testados) similar à do cloreto de sódio, 3.330.000 UI.kg⁻¹ (NASCIMENTO et al., 2008). Esta bacteriocina é produzida por certas linhagens de *Lactococcus lactis*, cujo nome é derivado do termo "N-inhibitory substances" (NiS) adicionado ao sufixo INA (SCHULZ et al., 2003). É um peptídeo composto por 34 resíduos de aminoácidos, com massa molecular de 3,5 KDa e classificada como bacteriocina classe-Ia ou lantibiotic (NASCIMENTO et al., 2008).

Diversos países permitem o uso de nisina em produtos como leite, queijo, produtos lácteos, tomates e outros vegetais enlatados, sopas enlatadas, maionese e alimentos infantis (SCHULZ et al., 2005; NASCIMENTO et al., 2008). No Brasil, a nisina é aprovada para uso em todos os tipos de queijo no limite máximo de 12,5 mg/kg, sendo este país o pioneiro na utilização desta bacteriocina em produtos cárneos, como a sua aplicação na superfície externa de salsichas de diferentes tipos. O produto pode ser aplicado como solução comercial de nisina a 0,02% em solução de ácido fosfórico grau alimentício (SCHULZ et al., 2005).

De modo geral, a nisina possui um amplo espectro de ação. Atua sobre *Clostridium*, *Actinomyces*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Listeria*, *Micrococcus*, *Propionibacterium*, *Streptococcus* e *Staphylococcus*. É ativa frente a bactérias Gram-positivas e seus esporos e apenas contra alguns microrganismos Gram-negativos. Isto se dá porque a parede celular das bactérias Gram-negativas atua como uma barreira de permeabilidade celular, impedindo que a nisina atinja a membrana citoplasmática. Contudo, a presença de agentes quelantes, pressão hidrostática ou injúria celular podem desestruturar a parede, deixando a membrana celular exposta à ação da bacteriocina (CARRIM, 2005; SCHULZ et al., 2005).

Outras bacteriocinas, além da nisina, vêm sendo estudadas com um futuro promissor na área de alimentos. Provavelmente, a pediocina será a segunda bacteriocina a ser utilizada pela indústria de alimentar (RAJARAM et al., 2010). Outras bacteriocinas com perspectivas promissoras são a lacticin 3147, enterocin AS-48 e a variacina (GÁLVEZ et al., 2007).

Gálvez et al. (2007) enfatizam que as bacteriocinas poderão ser utilizadas no desenvolvimento de embalagens bioativas em alimentos. Além disso, o autor reforça que muitas bacteriocinas demonstraram efeitos aditivos e sinérgicos em combinação com outros agentes antimicrobianos, incluindo preservativos químicos, compostos fenólicos naturais, bem como outras proteínas antimicrobianas, dados relevantes quando a resistência microbiana é ressaltada.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do exposto, enfatiza-se que a busca por biopreservativos é de relevante importância para a área de alimentos como novas alternativas no controle do crescimento microbiano e que as bacteriocinas são potencialmente promissoras aos moldes da nisina, que a anos tem sido aplicada com eficácia e segurança.

REFERÊNCIAS

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**, n.2, p.12-19, 2012.

AGRAWAL, R.; DHARMESH, S. An anti-*Shigella dysenteriae* bacteriocin from *Pediococcus pentosaceus* MTCC 5151 cheese isolate. **Turkish Journal of Biology**, v.36, p. 177-185, 2012.

CARRIM, A. J. I. **Bioprospeção de microrganismos endofíticos com atividade enzimática e bacteriocinogênica em isolados de *Jacarandá decurrens* Cham. (Carobinha do campo)**. Goiânia, 2005. 78 f. Dissertação (Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública). Universidade Federal de Goiás.

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

DELBONI, R. R. **Dinâmica populacional de microrganismos e a conservação de alimentos**. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 2009. Dissertação de mestrado.

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

MATA, P. C.; ARLINDO, S.; BOEHME, K.; MIGUEL, T.; PASCOAL, A. VELAZQUEZ, J. B. Current applications and future trends of lactic acid bacteria and their bacteriocins for the biopreservation of aquatic food products. **Food and Bioprocess Technology**, v.1, p.43-63, 2008.

MARTINS, A. D. O.; MENDONÇA, R.C.S.; SILVA, D. L.; RAMOS, M. S.; MARTINS, M. C.; DONZELE, J. L.; ANDRADE, N. J. Resistência de bactérias lácticas, isoladas de fezes de suínos e sua capacidade antagonista

- frente a microrganismos indicadores. **Revista de Ciências Agroveterinárias**. Lages, v.5, n.1, p. 53-59, 2006.
- MORENO, I.; LERAYER, A. L.; BALDINI, V. L. S.; LEITÃO, M. F. F. Efeito e modo de ação das bacteriocinas produzidas por *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ITAL 383, ATCC 11454 e CNRZ 150 contra *Listeria innocua* LIN 11. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, vol.19, n.1, 1999.
- NASCIMENTO, M. S.; MORENO, I.; KUAYE, A. Y. Bacteriocinas em alimentos: uma revisão. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.11, n.2, p.120-127, 2008.
- OLIVEIRA, F. C. **Produção, caracterização, purificação parcial e aplicação de um peptídeo antimicrobiano produzido por *Bacillus licheniformis* P40**. Rio Grande do Sul: Universidade Estadual de Campinas, 2004. Dissertação de mestrado.
- PARADA, J. L.; CARON, C. R.; MEDEIROS, A. B. P.; SOCCOL, C. R. Bacteriocins from lactic acid bacteria: purification, properties and use as biopreservatives. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.50, n.3, p.521-542, 2007.
- RAJARAM, G.; MANIVASAGAN, P.; GUNASEKARAN; THILAGAVATHI, B.; SARAVANAKUMAR, A. Purification and Characterization of a Bacteriocin Produced by *Lactobacillus lactis* Isolated from Marine Environment. **Advance Journal of Food Science and Technology**, v.2, n.2, p. 138-144, 2010.
- ROSA, M. C.; FRANCO, B. D. G. M. Bacteriocinas de bactérias lácticas. **Conscientiae Saúde Revista Científica, UNINOVE**. São Paulo. v.1, p.09-15, 2002.
- SARIKA, A.R.; LIPTON, A.P.; AISHWARYZ, M. S. Bacteriocin Production by a New Isolate of *Lactobacillus rhamnosus* GP1 under Different Culture Conditions. **Advance Journal of Food Science and Technology**, v.2, n.5, p. 291-297, 2010.
- SOBRINO-LÓPEZ, A.; MARTIN-BELLOSO, O. Use of nisin and other bacteriocins for preservation of dairy products. **International Dairy Journal**, v.18, p. 329-343, 2008.
- 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**. Araraquara, v.16, n.4, p. 403-411, 2005.
- SCHULZ, D.; PEREIRA, M.A.; BONELLI, R.R.; NUNES, M.M.; BATISTA, C.R.V. Bacteriocinas: Mecanismo de ação e uso na conservação de alimentos. **Alimentos e Nutrição**. Araraquara, v. 14, n.2, p.229-235, 2003.
- KAUR, G.; MALIK, R. K.; MISHRA, S. K.; SINGH, T. P.; BHARDWAJ, A.; SINGROHA, G.; VIJ, S.; KUMAR, N. Nisin and class II bacteriocin resistance among *Listeria* and other foodborne pathogens and spoilage bacteria. **Microbial Drug Resistance**. Vol 00, n. 00, 2011.
- VÁSQUEZ, S. M.; SUÁREZ, H.; ZAPATA, S. Utilización de sustancias antimicrobianas producidas por bacterias ácido lácticas em la conservación de la carne. **Revista Chilena de Nutrición**, v. 36, n.1, 2009.

Recebido em 05/01/2012
Aprovado em 22/03/2012