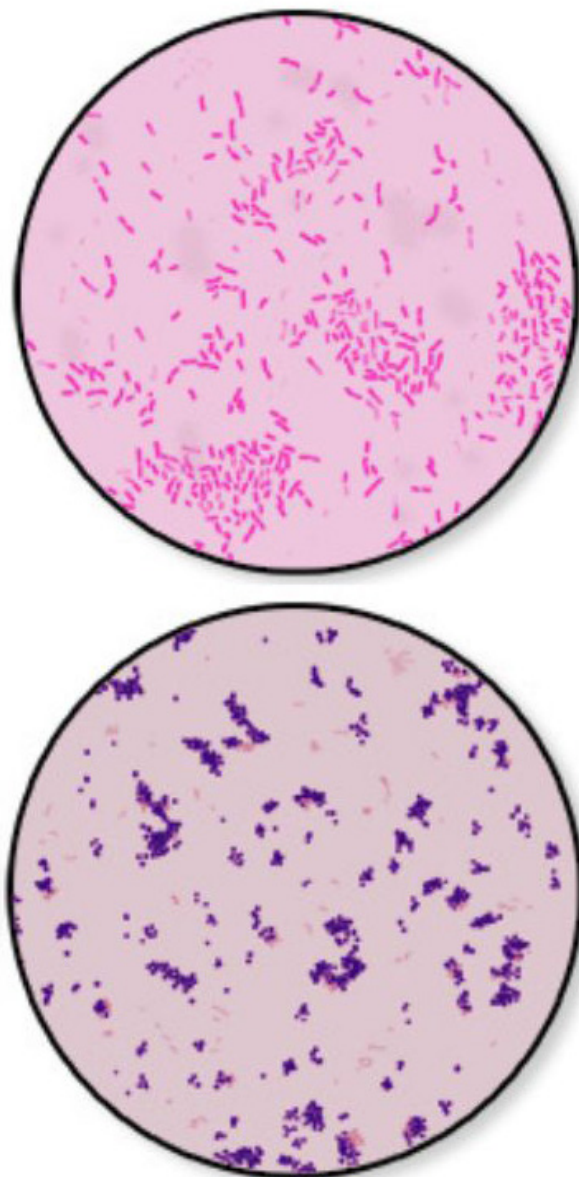




Potencial Uso de Bacteriocinas na Conservação de Alimentos



**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Agroindústria Tropical
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

DOCUMENTOS 199

**Potencial Uso de Bacteriocinas na
Conservação de Alimentos**

Terezinha Feitosa Machado

Unidade responsável pelo conteúdo e edição:

Embrapa Agroindústria Tropical
Rua Dra. Sara Mesquita 2270, Pici
CEP 60511-110 Fortaleza, CE
Fone: (85) 3391-7100
Fax: (85) 3391-7109
www.embrapa.br/agroindustria-tropical
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações
da Embrapa Agroindústria Tropical

Presidente (interina)
Janaina Mitsue Kimpara

Secretária-executiva
Celli Rodrigues Muniz

Secretária-administrativa
Eveline de Castro Menezes

Membros
*Afrânio Arley Teles Montenegro,
Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho,
Christiana de Fátima Bruce da Silva,
Francisco Nelsieudes Sombra Oliveira,
José Roberto Vieira Júnior, Laura Maria
Bruno, Roselayne Ferro Furtado, Sandra
Maria Morais Rodrigues*

Revisão de texto
José Cesamildo Cruz Magalhães

Normalização bibliográfica
Rita de Cassia Costa Cid

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
José Cesamildo Cruz Magalhães

Fotos da capa
*Anderson Mota Pereira e Bruno Silva
Caldas*

1ª edição
Publicação digital (2023): PDF

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Agroindústria Tropical

Machado, Terezinha Feitosa

Potencial uso de bacteriocinas na conservação de alimentos / Terezinha Feitosa
Machado – Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2023.

16 p. : il. ; 21 cm x 29,7 cm. – (Documentos / Embrapa Agroindústria Tropical, ISSN
2179-8184; 199).

Publicação disponibilizada on-line no formato PDF.

1. Conservação de alimentos. 2. Antimicrobianos produzidos por bactérias ácido-
láticas (BAL). 3. Microrganismos patogênicos. I. Machado, Terezinha Feitosa. II. Título.
III. Série.

CDD 664.024

Rita de Cassia Costa Cid (CRB-3/624)

© Embrapa, 2023

Autores

Terezinha Feitosa Machado

Engenheira de Alimentos, doutora em Bioquímica, pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE

Apresentação

Bacteriocinas são antimicrobianos naturais, consumidas há milênios por meio de alimentos fermentados e têm sido o foco de estudos para uso como bioconservantes de alimentos e outras aplicações. Devido à sua capacidade de regular a microbiota intestinal, estão ganhando credibilidade como moduladores de saúde fortemente associados ao bem-estar humano.

São compostos biologicamente ativos produzidos por um grande número de bactérias. Entretanto, aquelas produzidas por bactérias ácido-láticas (BAL) são de particular interesse para a indústria de alimentos, pois são reconhecidas como seguras e não interferem na qualidade sensorial do alimento.

Este artigo traz uma revisão sobre bacteriocinas produzidas por BAL destacando as classes, o mecanismo de ação e suas aplicações como conservantes em alimentos.

Gustavo Adolfo Saavedra Pinto
Chefe-Geral da Embrapa Agroindústria Tropical

Sumário

Introdução.....	6
Classificação das bacteriocinas produzidas por bactérias ácido-láticas (BAL).....	6
Mecanismo de ação das bacteriocinas de BAL.....	7
Principais bacteriocinas de BAL.....	7
Nisina.....	7
Pediocinas.....	7
Plantaricinas.....	8
Lactocinas.....	8
Enterocinas.....	8
Aplicações de bacteriocinas em alimentos.....	8
Aplicação de bacteriocinas em carnes, aves e produtos do mar.....	9
Aplicação de bacteriocinas em leite e derivados.....	10
Aplicação de bacteriocinas em produtos de origem vegetal.....	12
Considerações finais.....	13
Referências.....	13

Introdução

O crescimento da população mundial e a globalização do comércio levaram a práticas de produção de alimentos em larga escala, que exigem redes de transporte cada vez mais longas e prazos de armazenamento estendidos até a distribuição final aos consumidores. Além disso, a crescente demanda por alimentos minimamente processados e livres de aditivos químicos apresenta um desafio aos processadores de alimentos. Essas demandas abrem oportunidades para o uso de compostos antimicrobianos naturais derivados de fontes vegetais, animais e microbianas para o controle de microrganismos indesejáveis nos alimentos (O'Connor et al., 2020).

Dentre os compostos de origem microbiana, as bacteriocinas apresentam versátil potencial de uso como bioconservantes (Field et al., 2018), moduladores intestinais e promotores de saúde (O'Connor et al., 2020; Vieco-Saiz et al., 2019). Consistem em pequenos peptídeos produzidos por bactérias, com atividade antimicrobiana que pode ser de pequeno ou de largo espectro (Ahmad et al., 2017). São divididas em três classes principais (I, II e III) e apresentam diferentes mecanismos de ação. Algumas têm a capacidade de aumentar a permeabilidade da membrana celular do microrganismo-alvo por meio da formação de poros (Field et al., 2018); podem impedir a formação da parede celular (Chikindas et al., 2018); também conseguem penetrar no citoplasma bacteriano e clivar o DNA ou o RNA (Radaic et al., 2020); e, finalmente, podem penetrar na membrana celular e digerir os precursores de peptidoglicano, causando a morte da célula (Zou et al., 2018). Embora possam ser produzidas por uma grande variedade de bactérias, as bacteriocinas produzidas por bactérias ácido-láticas (BAL) são de particular interesse para a indústria de alimentos, porque são reconhecidas como seguras (status GRAS - Generally Regarded as Safe) e não interferem na qualidade sensorial dos alimentos (Silva et al., 2018). O objetivo desta revisão é apresentar uma visão geral sobre as bacteriocinas produzidas por BAL destacando as classes, o mecanismo de ação e as aplicações como conservantes em alimentos.

Classificação das bacteriocinas produzidas por bactérias ácido-láticas (BAL)

As bacteriocinas produzidas por BAL são classificadas com base em suas estruturas químicas, sua massa molecular, seu modo de ação e suas cepas susceptíveis. De acordo com Egan e colaboradores (2016), as bacteriocinas de BAL podem ser divididas em duas classes (I e II). A principal diferença entre elas é que as bacteriocinas classe I sofrem modificações pós-tradução, enquanto as bacteriocinas classe II não sofrem modificações pós-tradução.

As bacteriocinas classe I são pequenos peptídeos que variam entre 19 e 38 aminoácidos de comprimento (< 5 kDa). São referidas como lantibióticos por possuírem aminoácidos incomuns, como lantionina, metil-lantionina, dehidrobutirina e dehidroalanina, que são produzidos como peptídeos precursores e passam por modificações pós-tradução. Essa classe é subdividida em três subgrupos, denominados Ia, Ib e Ic, com nisina, mersacidina e lacticina como principais representantes, respectivamente (Alvarez-Sieiro et al., 2016).

As bacteriocinas classe II são compostas por peptídeos estáveis (< 10 kDa) não modificados pós-tradução e subdivididas em três subgrupos: IIa tipo pediocinas, que têm atividade anti *Listeria*; IIb bacteriocinas, com dois peptídeos não modificados que interagem para dar plena atividade à bacteriocina; e IIc bacteriocinas cíclicas, que contêm um só peptídeo e diversos modos de ação contra as células-alvo (Fu et al., 2016).

Mecanismo de ação das bacteriocinas de BAL

A membrana celular microbiana é o principal local de ação para as bacteriocinas, que antagonizam as células sensíveis por meio de diferentes mecanismos (Mbandlwa et al., 2020).

As bacteriocinas de classe I (lantibióticos) possuem um amplo espectro de ação e, geralmente, formam poros instáveis na membrana; porém, algumas moléculas de ancoragem presentes na membrana-alvo podem funcionar como receptores, aumentando a condutividade e a estabilidade dos poros (Johnson et al., 2018). Alguns lantibióticos, como a nisina, apresentam pelo menos três tipos de atividade antimicrobiana, além da formação de poros na membrana citoplasmática, ou seja, inibem a germinação de esporos bacterianos, a biossíntese da parede celular e a atividade de enzimas autolíticas (Ramu et al., 2020).

As bacteriocinas de Classe II têm espectro restrito de atividade, sendo os receptores na membrana da célula-alvo que determinam sua especificidade de ligação. Com estrutura helicoidal anfifílica, inserem-se na membrana da célula-alvo, conduzem a despolarização por dissipação da força próton motora (PMF) e inibem o transporte de aminoácidos, promovendo o desequilíbrio do conteúdo intracelular (Snyder; Worobo, 2014).

Principais bacteriocinas de BAL

Nisina

A nisina consiste em um peptídeo hidrofóbico constituído por 34 aminoácidos, que podem formar dímeros ou oligômeros com massa molecular de 7000 – 14000 Da. São pertencentes à classe Ia das bacteriocinas (lantibióticos), com forte atividade antimicrobiana contra uma variedade de bactérias Gram-positivas, incluindo bactérias patogênicas e deterioradoras de alimentos. Atualmente são conhecidos oito tipos de nisina, denominadas nisina A, Z, F, Q U, U2, P e H, produzidas por *Lactococcus lactis* e cepas de *Streptococcus* (O'Connor et al., 2020). É reconhecida como segura (status GRAS), sendo licenciada como conservante de alimentos com a denominação E234 (Tumbariski et al., 2018). A forma comercialmente disponível de nisina para uso como conservante de alimentos é Nisaplin™, contendo a nisina A como composto bioativo (Silva et al., 2018). Na maioria dos países, a nisina é a única bacteriocina autorizada para uso como conservante de alimentos (Verma et al., 2014).

Pediocinas

As pediocinas consistem em pequenos peptídeos com menos de 50 aminoácidos e massa molecular < 5 kDa. São classificadas como uma bacteriocina classe IIa (não lantibiótico) com atividade antimicrobiana em concentrações nanomolares (Yu et al., 2021). São produzidas por *Pediococcus* spp., sendo *Pediococcus acidilactici* e *Pediococcus pentosaceus* as principais cepas produtoras. Essa bacteriocina tem eficácia contra alguns patógenos, como *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*, e bactérias Gram-negativas, como *Pseudomonas* e *Escherichia coli* (Silva et al., 2018). Estão disponíveis comercialmente sob o nome de "Alta 2341™" ou Microgard™ e são usadas nos EUA e países europeus como conservantes, especialmente em produtos de carne, para inibir a multiplicação de *L. monocytogenes* (Porto et al., 2017).

Plantaricinas

As plantaricinas são bacteriocinas produzidas por *Lactobacillus plantarum*. São peptídeos que inibem uma ampla gama de microrganismos dos gêneros *Pediococcus*, *Clostridium*, *Propionobacterium* e algumas BAL. Dentre as plantaricinas, as JK e EF, ambas com aproximadamente 30 a 40 aminoácidos, são bacteriocinas que agem com estrita especificidade e em sinergia. Enquanto a plantaricina S, constituída de dois peptídeos com 26 e 27 aminoácidos, tem sido usada na fermentação e preservação de azeitonas verdes. A plantaricina TF711, também produzida por *L. plantarum*, é ativa contra células vegetativas de *Bacillus cereus* e *Clostridium sporogenes* em uma ampla faixa de pH (Tumbariski et al., 2018).

Lacticinas

As lacticinas são bacteriocinas produzidas por algumas cepas de *Lactococcus lactis* e compreendem lacticina 3147 e lacticina 481. A lacticina 3147 é um lantibiótico de dois componentes, exigindo ambas as proteínas estruturais para a atividade antimicrobiana que exerce contra uma ampla gama de bactérias patogênicas e deterioradoras de alimentos, além de outras BAL. A Lacticina 481 é um lantibiótico de peptídeo único que exibe um espectro médio de inibição contra outras BAL e *Clostridium tyrobutyricum* (Silva et al., 2018).

Enterocinas

Enterocinas são produzidas por espécies *Enterococcus* e compreendem um grupo diversificado de bacteriocinas, tanto em termos de classificação quanto de espectro de inibição. A enterocina AS-48, produzida por *Enterococcus faecalis*, é uma bacteriocina cíclica classe IIc ativa contra *Bacillus* e *Clostridium* sp. Essa é uma das bacteriocinas mais estudadas, apresenta alta estabilidade ao pH e calor, o que a torna uma grande candidata à aplicação em alimentos (Egan et al., 2016). Entretanto, embora a maioria das BAL tenha status GRAS e possam ser usadas com segurança em alimentos, há uma preocupação quanto ao uso das bacteriocinas produzidas por *Enterococcus*, uma vez que esses microrganismos têm sido associados a uma série de infecções em humanos (Silva et al., 2018).

Aplicações de bacteriocinas em alimentos

As bacteriocinas, assim como os demais compostos antimicrobianos, são utilizadas em alimentos devido à sua capacidade de retardar o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis no produto, garantindo segurança e aumentando a sua vida útil (Barman et al., 2018). Elas podem ser introduzidas no alimento de três maneiras: 1) nas formas purificadas ou parcialmente purificadas; 2) por adição de bactérias produtoras no produto alimentício; e 3) por adição de um ingrediente fermentado por cepas produtoras de bacteriocinas (Strack et al., 2020). Entretanto, a aplicação direta de compostos antimicrobianos em sistemas alimentares enfrenta desafios, como insolubilidade em água, degradação física e química e impacto nas propriedades organolépticas do alimento (Fu et al., 2016). Além disso, independentemente do modo de incorporação no alimento, a eficácia das bacteriocinas varia em função de uma biossíntese ideal, do nível e da especificidade da atividade antimicrobiana e da interação com os componentes da matriz alimentar (Barbosa et al., 2018). A Tabela 1 mostra alguns estudos envolvendo a aplicação de bacteriocinas produzidas por BAL em diferentes alimentos.

Tabela 1. Aplicações de bacteriocinas de BAL em alimentos.

Bactéria	Alimento	Resultado	Referência
<i>Lactococcus lactis</i>	Carne seca	Redução de deterioração	Biscola et al. (2014)
<i>Lactobacillus curvatus</i>	Carne de porco cozida	Inibição de <i>Listeria monocytogenes</i>	Rivas et al. (2014)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Carne crua	Aumento na vida útil	Trabelsi et al. (2019)
<i>Lactobacillus curvatus</i>	Filé de peixe	Inibição de <i>Listeria</i> , coliformes e bactérias mesófilas	Gómez-Sala et al. (2016)
<i>Lactobacillus reuteri</i>	Filé de peixe	Inibição de diferentes bactérias	Angiolillo et al. (2018)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Camarão resfriado	Inibição de <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Lv et al. (2017)
<i>Lactobacillus casei</i>	Queijo de cabra	Inibição de <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>L. monocytogenes</i>	Oliveira et al. (2014)
<i>Lactobacillus reuteri</i>	Queijo semiduro	Inibição de <i>L. monocytogenes</i> e <i>E. coli</i> O157:H7	Langa et al. (2018)
<i>Lactobacillus lactis</i>	Alface	Inibição de <i>L. monocytogenes</i>	McManamon et al. (2019)
<i>Lactobacillus pentosus</i>	Fruta cortada	Inibição de <i>L. monocytogenes</i> , <i>Salmonella</i> e <i>E. coli</i>	Yi et al. (2020)

Fonte: adaptado de Strack et al. (2020).

Aplicação de bacteriocinas em carnes, aves e produtos do mar

Bacteriocinas produzidas por BAL têm sido eficientemente utilizadas em carnes bovinas frescas, aves e pescado.

Rivas e colaboradores (2014) avaliaram a atividade antilisterial de sakacina Q produzida por *Lactobacillus curvatus* ACU-1 na superfície da carne de porco cozida. Várias formas de dispersar a bacteriocina na superfície da carne, como cultura de células, sobrenadante livre de células (SLC), uma mistura de ambos (cultura de células+SLC) e SLC liofilizado reconstituído, foram também investigadas. Os resultados indicaram que a eficácia da bacteriocina não foi comprometida pela adsorção à carne e aos tecidos gordos, e que o uso de SLC liofilizado reconstituído foi mais eficaz para controlar a multiplicação de *Listeria*, indicando que *L. curvatus* ACU-1 e sua bacteriocina apresentam características promissoras para a bioconservação de carnes.

Biscola e colaboradores (2014) avaliaram a adição de uma cepa de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 69, autóctone da carne de charque, quanto à sua capacidade de prevenir o crescimento de bactérias deterioradoras durante o armazenamento por até 45 dias. Avaliaram também a influência de *L. lactis* 69 na diversidade bacteriana durante a fabricação desse produto. Os resultados mostraram que *L. lactis* 69 não afetou a contagem e a diversidade de BAL durante a fabricação e o armazenamento, mas influenciou negativamente a população de microrganismos halotolerantes, reduzindo o potencial de deterioração. Como a maioria dos genes de virulência testados estava ausente, o microrganismo foi considerado seguro e com potencial aplicação tecnológica, uma vez

que pode ser usado como um obstáculo adicional para inibir a multiplicação microbiana indesejável em charque e produtos similares de carne fermentada.

O efeito da bacteriocina BacFL31, produzida por *Enterococcus faecium* FL31, foi investigado em carne de peru moída crua e refrigerada. Os resultados indicaram que a bacteriocina foi eficaz contra a proliferação de vários microrganismos deterioradores, suprimiu a multiplicação de *L. monocytogenes* e *Salmonella* Typhimurium e ampliou a vida útil da carne de peru, sendo considerada promissora para conservação do produto (Chakchouk-Mtibaa et al., 2017).

Kamble e colaboradores (2017) avaliaram o efeito da bacteriocina pediocina, produzida por *Pediococcus acidilactici* NCDC252 com o quelante EDTA, sobre a contagem de células viáveis (CCV) na carcaça de frango refrigerada, comparado com o controle sem nenhum tratamento, por um período de seis dias. Os pesquisadores observaram diferenças significativas na CCV durante todo o período de armazenamento, indicando melhor qualidade microbiana da carne tratada com bacteriocina em comparação ao controle não tratado.

Abouloifa e colaboradores (2022) avaliaram a atividade antimicrobiana in vitro da cepa *Lactiplantibacillus plantarum* S61 contra *Rhodotorula glutinis* UMP 22 e *Listeria monocytogenes* ATCC 19117, e sua aplicação na carne de frango moída como agente bioconservante. Os resultados mostraram percentual de inibição de 77,72% e 89,52% contra *R. glutinis* e *L. monocytogenes*, respectivamente. Relataram que a adição de *Lactiplantibacillus plantarum* S61 na carne de frango reduziu *R. glutinis* e *L. monocytogenes* no período de sete dias de armazenamento a 4 °C, melhorou os parâmetros físico-químicos e a cor da carne, sugerindo que *Lpb. plantarum* S61 e/ou seus compostos antimicrobianos podem ser aplicados como agentes bioconservantes na indústria de produtos de carne.

Em outro estudo, Schelegueda e colaboradores (2015) relataram que *Enterococcus mundtii* Tw56 foi capaz de inibir o crescimento de diferentes gêneros de bactérias Gram-positivas, como *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Listeria*, *Pediococcus* e *Streptococcus*, apresentando potencial inibidor contra microrganismos deterioradores de peixes, principalmente no pH 5.5.

A bacteriocina produzida pela cepa *Lactobacillus plantarum* FGC-12 foi testada contra *Vibrio parahaemolyticus* em camarões resfriados. O tratamento com a bacteriocina reduziu 1,3 log UFC de *V. parahaemolyticus* durante o armazenamento a 4 °C por seis dias. Além disso, promoveu um declínio acentuado na contagem total de células viáveis nas amostras tratadas em relação ao controle sem tratamento, mostrando que essa bacteriocina tem potencial promissor como bioconservante para o controle de *V. parahaemolyticus* em camarão e demais produtos do mar (Lv et al., 2017).

Aplicação de bacteriocinas em leite e derivados

As aplicações de bacteriocinas no controle de patógenos em alimentos lácteos podem ser por inoculação do alimento com BAL que produzem bacteriocinas ou pela adição de bacteriocinas purificadas ou semipurificadas diretamente aos alimentos. O emprego de cepas de BAL produtoras de bacteriocina pode conferir uma vantagem sobre o uso de bacteriocinas semipurificadas/purificadas, pois, na maioria das vezes, as bacteriocinas são adsorvidas em matrizes alimentares e são facilmente degradadas, o que resulta em perda de atividade antibacteriana (Silva et al., 2018).

Coelho e colaboradores (2014) relataram que amostras de queijo fresco, feito com leite pasteurizado, foram inoculadas com cepas de BAL produtoras de bacteriocina (*Lactococcus lactis* e *Enterococcus faecalis*) e contaminadas com aproximadamente 10⁶ UFC/mL de *L. monocytogenes*. A contagem de

L. monocytogenes foi monitorada durante o armazenamento do queijo à temperatura de refrigeração (4 °C) por até 15 dias. Todas as cepas controlaram a multiplicação de *L. monocytogenes*, e algumas cepas de *Enterococcus* foram mais eficazes na redução da contagem do patógeno. Após sete dias, essa redução foi de aproximadamente 4 log UFC/g em relação ao controle positivo. Em comparação, na ausência de BAL produtora de bacteriocina, foi detectado um aumento de 4 log UFC/g em número de patógenos no mesmo período. Os pesquisadores observaram, ainda, que a combinação de duas cepas *Enterococcus* sp. produtoras de bacteriocinas otimizou a redução da contagem de *L. monocytogenes* em 5 log UFC/g após sete dias e concluíram que o uso de cepas produtoras de bacteriocina na fabricação de queijo fresco pode contribuir para prevenir a multiplicação de bactérias patogênicas indesejáveis.

Rolim et al. (2015) relataram a redução da multiplicação de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Enteritidis*, *Escherichia coli* e *L. monocytogenes* em queijo de cabra armazenado sob refrigeração por 21 dias, quando uma cepa de *Lactobacillus rhamnosus* foi adicionada durante sua produção. Os resultados indicaram que essa cepa poderia ser usada como cultura de proteção para retardar o crescimento de bactérias patogênicas, principalmente *S. aureus* e *L. monocytogenes*.

Vandera et al. (2017) investigaram o uso de múltiplas cepas bacterianas produtoras de enterocinas. Algumas cepas apresentaram um efeito bacteriostático em *L. monocytogenes* no leite cru incubado a 37 °C por 6 h. Quando as amostras de leite cru foram incubadas a 18 °C, a população viável do patógeno foi reduzida em 0,2-0,4 log UFC/mL após 24 h e até 72 h.

Kondrotiene et al. (2018) avaliaram cepas de *Lactococcus lactis* isoladas de leite de cabra e de vaca, produtoras de nisina, no controle de *L. monocytogenes* na fabricação de queijo fresco. Relataram que as cepas utilizadas reduziram 2 log UFC/g na contagem do patógeno após sete dias de armazenamento do queijo sob refrigeração.

Langa e colaboradores (2018) avaliaram a adição de *Lactobacillus reuteri* e glicerol em queijos semiduros contaminados intencionalmente com *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli* O157:H7. A contagem de *L. monocytogenes* no queijo controle foi de 4,3 log UFC/g após 30 dias de maturação, enquanto no queijo produzido com *L. reuteri* e glicerol esse patógeno só foi detectável no primeiro dia, quando *L. reuteri* ainda não tinha crescido o suficiente para inibi-lo. Após 7, 15 e 30 dias, o patógeno não foi detectado. Após 30 dias, as contagens de *E. coli* O157:H7 foram de 0,85 log UFC/g no queijo controle, mas o patógeno não foi detectado em 25 g de queijo produzido com *L. reuteri* e glicerol desde o dia 7.

Pisano e colaboradores (2022) avaliaram a atividade antimicrobiana e algumas características tecnológicas de seis cepas de *Lactococcus lactis* e sete de *Lactiplantibacillus plantarum* isoladas de laticínios artesanais quanto à eficácia no controle de *L. monocytogenes* em queijos frescos. Os resultados mostraram que cinco cepas (*L. lactis* 16FS16, 9- 20234, 11FS16 e *Lpb. plantarum* 1/14537 e 4A/20045) são consideradas candidatas adequadas para uso como culturas protetoras na fabricação de queijo fresco, uma vez que reduziram significativamente a contagem do patógeno em 3-4 log UFC/g em comparação ao controle. Os autores concluíram também que, considerando suas características tecnológicas, podem ser utilizadas como culturas iniciadoras/adjuntas para aumentar a segurança dos produtos, quando associadas com outros obstáculos antimicrobianos.

Marques e colaboradores (2017) avaliaram a eficácia de um filme biodegradável incorporado com metabólitos antimicrobianos produzidos por *Lactobacillus curvatus* P99, visando ao controle de *L. monocytogenes* em queijo “Prato” fatiado, e concluíram que o filme adicionado com a concentração bactericida mínima (CBM) de sobrenadante de células de *Lb. curvatus* P99 foi eficaz contra diferentes microrganismos indicadores e *L. monocytogenes*.

Aplicação de bacteriocinas em produtos de origem vegetal

Vários estudos têm avaliado o uso de BAL e bacteriocinas na descontaminação de superfícies de vegetais frescos e para diminuir a sobrevivência de contaminantes em produtos processados (McManamon et al., 2019; Ssemenda et al., 2018).

Russo e colaboradores (2015) investigaram o efeito antagônico de cepas probióticas de *Lactobacillus plantarum* B2 e *Lactobacillus fermentum* PBCC11.5, produtoras de riboflavina (Vitamina B2), contra *L. monocytogenes* em melão minimamente processado, armazenado sob refrigeração por um período de 11 dias. Os autores relataram que ambas as cepas mostraram uma boa capacidade de reduzir o nível de *L. monocytogenes* em melões artificialmente contaminados e que o teor de riboflavina aumentou cerca de duas vezes no melão tratado com as cepas probióticas.

Iglesias e colaboradores (2018) avaliaram a capacidade antagônica da cepa probiótica *Lactobacillus rhamnosus* GG contra um coquetel de cinco sorovares de *Salmonella* e cinco de *L. monocytogenes* em pera minimamente processada em condições que simulam aplicação comercial. Além disso, avaliaram o efeito do probiótico sobre a qualidade da fruta, particularmente no perfil volátil, durante nove dias de armazenamento a 5 °C. Os autores concluíram que a cepa *L. rhamnosus* GG foi capaz de controlar a população de *L. monocytogenes* e que pera minimamente processada poderia ser um veículo de microrganismos probióticos, pois a qualidade da fruta não foi afetada na presença do probiótico.

McManamon e colaboradores (2019) adicionaram três cepas de *L. monocytogenes* em amostras de alface minimamente processadas, que foram posteriormente tratadas com 5 mg/kg de nisina A e *Lactococcus lactis* DSM20729 (um produtor de nisina A). As amostras, incubadas a 4 °C e 8 °C, foram submetidas às análises microbiológicas nos dias 0, 2, 5 e 7. Um painel sensorial classificou a alface na aparência visual. Os resultados mostraram que a aplicação de nisina A em alface foi eficaz na redução de *L. monocytogenes* em pelo menos 90% e retardou a multiplicação do patógeno em cerca de dois dias, enquanto a aplicação direta de *L. lactis* não teve efeito na multiplicação de *L. monocytogenes*. Os autores concluíram que a aplicação de nisina A na alface minimamente processada pode ser uma alternativa viável para reduzir e retardar a multiplicação de *L. monocytogenes*, sem afetar a aparência sensorial do produto, por até cinco dias.

Ramos et al. (2020) avaliaram o potencial de *Pediococcus pentosaceus* DT016 como cultura protetora para limitar a multiplicação de *L. monocytogenes* em hortaliças durante o armazenamento. Os resultados mostraram que o número de patógenos nos vegetais inoculados com *P. pentosaceus* DT016 foi significativamente menor ($P < 0,01$) durante todo o período de armazenamento e que no último dia apresentaram uma diferença de 1,4 log UFC/g quando comparado às hortaliças sem a cultura protetora.

Em outro estudo, Luz e colaboradores (2020) avaliaram o uso de cepas de *Lactobacillus plantarum* TR7 e *L. plantarum* TR71 como bioconservantes em tomate inoculado com *Penicillium expansum* e *Aspergillus flavus* e relataram diminuição na contagem microbiana em 1,98-3,89 log esporos/g em comparação ao controle sem adição das cepas bacterianas.

Considerações finais

Embora algumas bacteriocinas, como nisina, lacticina e pediocinas, sejam usadas comercialmente em alimentos específicos, suas próprias limitações associadas aos fatores relacionados às matrizes alimentares, custos de produção e purificação restringem seu amplo uso na conservação dos alimentos. Entretanto, essas limitações podem ser superadas pela engenharia das bacteriocinas, tornando-as mais robustas em relação à estabilidade térmica e ao pH e melhor difusividade, entre outras características desejadas. Adicionalmente, tais dificuldades podem também ser superadas pelo uso de cepas produtoras para produção in situ de bacteriocinas e pela expressão heteróloga de bacteriocinas em hospedeiro bacteriano. Com o surgimento de novas tecnologias para a incorporação de bacteriocinas e cepas produtoras de bacteriocinas na matriz alimentar e na embalagem, o que é promissor e viável em escala industrial, espera-se que a demanda por essas moléculas naturais na preservação de alimentos aumente nos próximos anos e seja uma alternativa aos métodos físicos e químicos convencionais, atendendo às demandas por alimentos naturais, seguros e com maior vida útil.

Referências

- ABOULOIFA, H.; HASNAOUI, I.; SLIMA, S. B.; ROKNI, Y.; GAAMOUCHE, S.; TRABELSI, I.; BELLAOUCHI, R.; GHABBOUR, N.; SALAH, R. B.; JAOUADI, B.; SAALAOUI, E.; ASEHRAOU, A. Bio-preservation effect of probiotic *Lactiplantibacillus plantarum* S61 against *Rhodotorula glutinis* and *Listeria monocytogenes* in poultry meat. **Current Microbiology**, v. 79, n. 8, p. 232, 2022. DOI: 10.1007/s00284-022-02923-4.
- AHMAD, V.; KHAN, M. S.; JAMAL, Q. M. S.; ALZOHAIRY, M. A.; AL KARAawi, M. A.; SIDDIQUI, M. U. Antimicrobial potential of bacteriocins: In therapy, agriculture and food preservation. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 49, n. 1, p. 1-11, 2017.
- ALVAREZ-SIEIRO, P.; MONTALBÁN-LÓPEZ, M.; UM, D.; KUIPERS, O. P. Bacteriocins of lactic acid bacteria: extending the family. **Applied Microbiology and Biotechnology**, n. 16, p. 2937-2951, 2016. DOI 10.1007/s00253-016-7343-9.
- ANGIOLILLO, L.; CONTE, A.; DEL NOBILE, M. A. A new method to bio-preserve sea bass fillets. **International Journal of Food Microbiology**, v. 271, p. 60-66, 2018.
- BARBOSA, M. S.; JURKIEWICZ, C.; LANDGRAF, M.; TODOROV, S. D.; FRANCO, B. D. G. D. M. Effect of proteins, glucose and NaCl on growth, biosynthesis and functionality of bacteriocins of *Lactobacillus sakei* subsp. *sakei* 2a in foods during storage at 4 °C: Tests in food models. **LWT - Food Science and Technology**, v. 95, p. 167-171, 2018.
- BARMAN, S.; GHOSH, R.; MANDAL, N. C. Production optimization of broad spectrum bacteriocin of three strains of *Lactococcus lactis* isolated from homemade buttermilk. **Annals of Agrarian Science**, v. 16, n. 3, p. 286-296, 2018.
- BISCOLA, V.; ABRIQUEL, H.; TODOROV, S. D.; CAPUANO, V. S. A. C.; GÁLVEZ, A.; FRANCO, B. D. G. F. Effect of autochthonous bacteriocin-producing *Lactococcus lactis* on bacterial population dynamics and growth of halotolerant bacteria in Brazilian charqui. **Food Microbiology**, v. 44, p. 296-301, 2014.

- CHAKCHOUK-MTIBAA, A.; SMAOUI, S.; KTARI, N.; SELLEM, I.; NAJAH, S.; KARRAY-REBAI, I.; MELLOULI, L. Biopreservative efficacy of bacteriocin BacFL31 in raw ground turkey meat in terms of microbiological, physicochemical, and sensory qualities. **Biocontrol Science**, v. 22, n. 2, p. 67-77, 2017.
- CHIKINDAS, M. L.; WEEKS, R.; DRIDER, D.; CHISTYAKOV, V. A.; DICKS, L. M. Functions and emerging applications of bacteriocins. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 49, p. 23-28, 2018.
- COELHO, M. C.; SILVA, C. C. G.; RIBEIRO, S. C.; DAPKEVICIUS, M. L. N. E.; ROSA, H. J. D. Control of *Listeria monocytogenes* in fresh cheese using protective lactic acid bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, v. 191, p. 53-59, 2014.
- EGAN, K.; FIELD, D.; REA, M. C.; ROSS, R. P.; HILL, C.; COTTER, P. D. Bacteriocins: novel solutions to age old spore-related problems? **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 461, 2016. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00461.
- FIELD, D.; ROSS, R. P.; HILL, C. Developing bacteriocins of lactic acid bacteria into next generation biopreservatives, **Current Opinion in Food Science**, v. 20, p. 1-6, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.02.004>.
- FU, Y.; SARKAR, P.; BHUNIA, A. K.; YAO, Y. Delivery systems of antimicrobial compounds to food. **Trends in Food Science & Technology**, v. 57, p. 165-177, 2016.
- GÓMEZ-SALA, B.; HERRANZ, C.; DÍAZ-FREITAS, B.; HERNÁNDEZ, P. E.; SALA, A.; CINTAS, L. M. Strategies to increase the hygienic and economic value of fresh fish: Biopreservation using lactic acid bacteria of marine origin. **International Journal of Food Microbiology**, v. 223, p. 41-49, 2016.
- IGLESIAS, M. B.; ECHEVERRÍA, G.; VINAS, I.; LOPEZ, M. L.; ABADIAS, M. Biopreservation of fresh-cut pear using *Lactobacillus rhamnosus* GG and effect on quality and volatile compounds. **LWT - Food Science and Technology**, v. 87 p. 581-588, 2018.
- JOHNSON, E. M.; JUNG, Y.-G.; JIN, Y.-Y.; JAYABALAN, R.; YANG, S. H.; SUH, J. W. Bacteriocins as food preservatives: Challenges and emerging horizons. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 58, n. 16, p. 2743-2767, 2018. DOI: 10.1080/10408398.2017.1340870.
- KAMBLE P. K.; RAO, V. A.; ABRAHAM, R. J. J.; DHANALAKSHMI, B. Effect of pediocin NCDC252 as cell free supernatant produced from *Pediococcus acidilactici* NCDC252 with EDTA on total viable count and sensory evaluation of chicken carcasses stored at refrigeration temperature. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6, n. 7, p. 2269-2276, 2017.
- KONDROTIENE, K.; KASNAUSKYTE, N.; SERNIENE, L.; GÖLZ, G.; ALTER, T.; KASKONIENE, V., et al. Characterization and application of newly isolated nisin producing *Lactococcus lactis* strains for control of *Listeria monocytogenes* growth in fresh cheese. **LWT Food Science and Technology**, v. 87, p. 507-514, 2018. doi: 10.1016/j.lwt.2017.09.021.
- LANGA, S.; MARTÍN-CABREJAS, I.; MONTIEL, R.; PEIROTÉN, Á.; ARQUÉS, J. L.; MEDINA, M. Protective effect of reuterin-producing *Lactobacillus reuteri* against *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157: H7 in semi-hard cheese. **Food Control**, v. 84, p. 284-289, 2018.
- LUZ, C.; D'OPAZOA, V.; QUILESA, J. M.; ROMANO, R.; MAÑESA, J.; MECA, G. Biopreservation of tomatoes using fermented media by lactic acid bacteria. **LWT - Food Science and Technology**, v. 130, 109618, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109618> R.
- LV, X.; DU, J.; JIE, Y.; ZHANG, B.; BAI, F.; ZHAO, H.; LI, J. Purification and antibacterial mechanism of fish-borne bacteriocin and its application in shrimp (*Penaeus vannamei*) for inhibiting *Vibrio parahaemolyticus*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 33, n. 8, p. 156, 2017.

MARQUES, J. L.; FUNCK, G. D.; DANNENBERG, G. S.; CRUXEN, C. E. S.; HALAL, S. L. M.; DIAS, A. R. G.; FIORENTINI, A. M.; SILVA, W. P. Bacteriocin-like substances of *Lactobacillus curvatus* P99: characterization and application in biodegradable films for control of *Listeria monocytogenes* in cheese. **Food Microbiology**, v. 63, p. 159-163, 2017.

MBANDLWA, P.; DOYLEA, N.; HILLA, C.; STANTONB, C.; ROSS, R. P. **Bacteriocins**: novel applications in food, and human and animal health. Ireland: Elsevier, 2020.

McMANAMON, O.; KAUPPER, T.; SCOLLARD, J.; SCHMALENBERGER, A. Nisin application delays growth of *Listeria monocytogenes* on fresh-cut iceberg lettuce in modified atmosphere packaging, while the bacterial community structure changes within one week of storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 147, p. 185-195, 2019.

O'CONNOR, P. M.; KUNIYOSHI, T. M.; OLIVEIRA, R. P. S.; HILL, C.; ROSS, R. P.; COTTER, D. P. Antimicrobials for food and feed; a bacteriocin perspective. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 61, p. 160-167, 2020.

OLIVEIRA, M. E. G.; GARCIA, E. F.; OLIVEIRA, C. E. V.; GOMES, A. M. P.; PINTADO, M. M. E.; MADUREIRA, A. R. M. F.; SOUZA, E. L. Addition of probiotic bacteria in a semi-hard goat cheese (coalho): Survival to simulated gastrointestinal conditions and inhibitory effect against pathogenic bacteria. **Food Research International**, v. 64, p. 241-247, 2014.

PISANO, M. B.; FADDA, M. E.; VIALE, S.; DEPLANO, M.; MEREU, F.; BLAŽIĆ, M.; COSENTINO, S. Inhibitory effect of *Lactiplantibacillus plantarum* and *Lactococcus lactis* autochthonous strains against *Listeria monocytogenes* in a laboratory cheese model. **Foods**, v. 11, p. 715, 2022. <https://doi.org/10.3390/foods11050715>.

PORTO, M. C. W.; KUNIYOSHI, T. M.; AZEVEDO, P. O. S.; VITOLO, M.; OLIVEIRA, R. P. S. *Pediococcus* spp.: An important genus of lactic acid bacteria and pediocin producers. **Biotechnology Advances**, v. 35, n. 3, p. 361-374, 2017. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2017.03.004.

RADAIC, A.; DE JESUS, M. B.; KAPILA, Y. L. Bacterial anti-microbial peptides and nanosized drug delivery systems: The state of the art toward improved bacteriocins. **Journal of Controlled Release**, v. 321, p. 100-118, 2020.

RAMOS, B.; BRANDÃO, T. R. S.; TEIXEIRA, P.; SILVA, C. L. M. Biopreservation approaches to reduce *Listeria monocytogenes* in fresh vegetables. **Food Microbiology**, v. 85, 103282, 2020.

RAMU, R.; SHIRAHATTI, P. S.; DEVI, A. T.; PRASAD, A.; KUMUDA J.; LOCHANA M. S.; ZAMEER, F.; DHANANJAYA, B. L.; NAGENDRA, P. M. N. Bacteriocins and Their Applications in Food Preservation. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 60, n. 18, 2020. DOI: 10.1080/10408398.2015.1020918.

RIVAS, F. P.; CASTRO, M. P.; VALLEJO, M.; MARGUET, E.; CAMPOS, C. A. Sakacin Q produced by *Lactobacillus curvatus* ACU-1: Functionality characterization and antilisterial activity on cooked meat surface. **Meat Science**, v. 97, n. 4, p. 475-479, 2014.

ROLIM, F. R. L.; SANTOS, K. M. O.; BARCELOS, S. C.; EGITO, A. S.; RIBEIRO, T. S.; CONCEIÇÃO, M. L.; EGYPTO, R. D. C. R. Survival of *Lactobacillus rhamnosus* EM1107 in simulated gastrointestinal conditions and its inhibitory effect against pathogenic bacteria in semi-hard goat cheese. **LWT - Food Science and Technology**, v. 63, n. 2, p. 807-81, 2015.

RUSSO, P.; PEÑA, N.; CHIARA, M. L. V.; AMODIO, M. L.; COLELLI, G.; SPANO, G., Probiotic lactic acid bacteria for the production of multifunctional fresh-cut cantaloupe. **Food Research International**, v. 77, p. 762-772, 2015.

SCHELEGUEDA, L. I.; VALLEJO, M.; GLIEMMO, M. F.; MARGUET, E. R.; CAMPOS, C. A. Synergistic antimicrobial action and potential application for fish preservation of a bacteriocin produced by *Enterococcus mundtii* isolated from *Odontesthes platensis*. **LWT - Food Science and Technology**, v. 64, n. 2, p. 794-801, 2015.

SILVA, C. C. G.; SILVA, S. P. M.; RIBEIRO, S. C. Application of bacteriocins and protective cultures in dairy food preservation. **Frontiers in Microbiology**, 2018, 9:594 <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2018.00594>.

SNYDER A. B.; WOROBO, R. W. Chemical and genetic characterization of bacteriocins: antimicrobial peptides for food safety. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94 p. 28-44, 2014.

SSEMANDA, J. N.; REIJ, M. W.; MIDDENDORP, G.; BOUW, E.; PLAATS, R.; FRANZ, E.; MUVUNYI, C. M.; BAGABE, M. C.; ZWIETERING, M. H.; JOOSTEN, H. Foodborne pathogens and their risk exposure factors associated with farm vegetables in Rwanda. **Food Control**, v. 89, p. 86-96, 2018.

STRACK, L.; CARLI, R. C.; DA SILVA, R. V.; SARTOR, K. B.; COLLA, L. M.; REINEHR, C. O. Food biopreservation using antimicrobials produced by lactic acid bacteria. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 8, e998986666, 2020 (CC BY 4.0) | ISSN 2525-3409 | DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i8.6666>.

TRABELSI, I.; SLIMA, S. B.; KTARI, N.; TRIKI, M.; ABDEHEDI, R.; ABAZA, W.; SALAH, R. B. Incorporation of probiotic strain in raw minced beef meat: Study of textural modification, lipid and protein oxidation and color parameters during refrigerated storage. **Meat Science**, v. 154, p. 29-36, 2019.

TUMBARSKI, Y.; LANTE, A.; KRASTANOV, A. Immobilization of bacteriocins from lactic acid bacteria and possibilities for application in food biopreservation. **The Open Biotechnology Journal**, v. 12, p. 25-32, 2018.

VANDERA, E.; LIANOU, A.; KAKOURI, A.; FENG, J.; KOUKKOU, A. -I.; SAMELIS, J. Enhanced control of *Listeria monocytogenes* by *Enterococcus faecium* KE82, a multiple enterocin-producing strain, in different milk environments. **Journal of Food Protection**, v. 80, p. 74-85, 2017. DOI: 10.4315/0362-028X.JFP-16-082.

VIECO-SAIZ, N.; BELGUESMIA, Y.; RASPOET, R.; AUCLAIR, E.; GANCEL, F.; KEMPF, I.; DRIDER, D. Benefits and inputs from lactic acid bacteria and their bacteriocins as alternatives to antibiotic growth promoters during food-animal production. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, n. 57, 2019. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2019.00057>.

VERMA, A. K.; BANERJEE, R.; DWIVEDI, H. P.; JUNEJA, V. K. Bacteriocins - Potential in Food Preservation. In: BATT, C. A., TORTORELLO, M. L. (Ed.). **Encyclopedia of Food Microbiology**, 2. ed. Elsevier, 2014. p. 180-186. doi:10.1016/b978-0-12-384730-0.00029-x.

YI, L.; QI, T.; MA, J.; ZENG, K. Genome and metabolites analysis reveal insights into control of foodborne pathogens in fresh-cut fruits by *Lactobacillus pentosus* MS031 isolated from Chinese Sichuan Paocai. **Postharvest Biology and Technology**, v. 164, 111150, 2020.

YU, H. H.; CHIN, Y.-W.; PAIK, H.-D. Application of natural preservatives for meat and meat products against food-borne pathogens and spoilage bacteria: A Review. **Foods**, v. 10, 2418, 2021. <https://doi.org/10.3390/foods10102418>.

ZOU, J.; JIANG, H.; CHENG, H.; FANG, J.; HUANG, G. Strategies for screening, purification and characterization of bacteriocins. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 117, p. 781-789, 2018.

Embrapa

Agroindústria Tropical



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA E
PECUÁRIA



CGPE 017996