

Bacteriocinas como bioconservador alimentario: características generales y aplicación en alimentos

Bacteriocins as food biopreservative: general characteristics and application in food

Ana García Bautista, Ana Guerrero Barrado*

Departamento Producción y Sanidad Animal, Salud Pública Veterinaria y Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Universidad Cardenal Herrera-CEU, CEU Universities, Alfara del Patriarca, Valencia, España. *Autor para correspondencia. E-mail: ana.guerrerbarrado@uchceu.es

Resumo: INTRODUCCIÓN: Los consumidores actuales demandan cada vez más la reducción de conservantes sintéticos en los alimentos pero que a su vez se continúe garantizando la inocuidad de los mismos. Por ello existe un creciente interés en la industria alimentaria por la bioconservación. Entre las distintas formas de bioconservación, se pueden utilizar las bacteriocinas, metabolitos secundarios producidos por bacterias ácido lácticas. REVISIÓN: El objetivo de esta revisión es describir las características generales que definen a las bacterias ácido lácticas productoras de bacteriocinas, así como su modo de acción y aplicabilidad en la industria alimentaria en los principales grupos de alimentos. DISCUSIÓN: Numerosos estudios demuestran su efectividad para alargar la vida útil de los alimentos de forma segura, debido a su gran capacidad para inhibir o ralentizar el crecimiento de microorganismos patógenos y alterantes importantes, como podrían ser *Listeria monocytogenes* o *Escherichia coli*. Esta forma de bioconservación se puede aplicar a productos cárnicos, lácteos, vegetales, marisco y bebidas como la cerveza o el vino. Además, el uso de bacteriocinas supone una gran ventaja a la hora de ser combinadas con tratamientos térmicos, ya que permiten aplicar tratamientos más leves, disminuyendo así los daños organolépticos que se pudiesen producir en la calidad del alimento. CONCLUSIÓN: La incorporación de bacteriocina a diferentes alimentos permite una conservación segura de los mismos y tiene una prometedora función como posibles sustitutos a los tradicionales conservantes sintéticos.

Palavras-chave: Bacteriocinas, bacterias ácido lácticas, aditivos, antimicrobiano natural, seguridad alimentaria.

Abstract: INTRODUCTION: Nowadays consumers' demand for reduction of synthetic preservatives in food is increasing, but products at the same time need to continue to guarantee their safety. For this reason, there is a growing interest in the food industry for bioconservation. Among the different forms of biopreservation, bacteriocins, secondary metabolites produced by lactic acid bacteria, can be used. REVIEW: The aim of this review is describe the general characteristics that define bacteriocin produced by lactic acid bacteria, as well as their mode of action and applicability in the food industry in the main food groups. DISCUSSION: Several studies demonstrate its effectiveness in safely extending the shelf life of foods, due to its great ability to inhibit or slow down the growth of pathogenic and important spoilage microorganisms, such as *Listeria monocytogenes* or *Escherichia coli*. This way of bioconservation can be applied to meat products, dairy products, vegetables, seafood and beverages such as beer or wine. In addition, the use of bacteriocins show a great advantage when it is combined with heat treatments, since they allow the application of milder treatments, thus reducing the organoleptic damage that could occur in the quality of the food. CONCLUSION: The incorporation of bacteriocin to different foods allows their safe preservation and has a promising function as possible substitutes for traditional synthetic preservatives.

Keywords: Bacteriocins, lactic acid bacteria, additives, natural antimicrobials, food safety.

Introducción

En la actualidad los consumidores incrementan cada vez más la demanda de alimentos naturales o mínimamente procesados, reduciendo la utilización de conservantes sintéticos. Ya que gran parte de la población considera que son peligrosos para la salud y que estos alimentos tienen una peor calidad nutricional (Beristain-Bauza et al., 2012). Por este motivo se ha incrementado la investigación y aplicación de

antimicrobianos naturales durante el procesado de alimentos, de forma que estos presenten una buena calidad y a su vez sean seguros y efectivos (Guerrero, 2012; Rendueles et al., 2022).

Las especias y hierbas se utilizan desde hace siglos debido a sus diversas posibilidades como conservantes naturales. La canela, el clavo de olor y la mostaza contienen estructuras químicas con poder antimicrobiano, inhibiendo la multiplicación de muchos microorganismos, sobre todo bacterias Gram positivas, especialmente sensibles. Por este motivo, sumado al aroma y sabor que aportan a los alimentos y al poder antioxidante del tomillo, orégano y ajo, han sido muy apreciados en alimentación a lo largo de la historia (Rodríguez Saucedo, 2011). Los aceites esenciales también han sido muy empleados en los últimos años ya que contienen sustancias antibacterianas, antifúngicas y antioxidantes, las cuales inhiben o destruyen la síntesis de metabolitos de origen bacteriano con prometedoras aplicaciones (Hou et al., 2022) más allá de las tradicionales en la industria de los perfumes, jabones y desinfectantes. Uno de los aceites esenciales más empleados es el aceite esencial del orégano, que presenta propiedades antioxidantes, antifúngicas, antiespasmódicas y antisépticas (Rodríguez Saucedo, 2011). Pero no son las únicas alternativas utilizadas para la bioconservación.

Un alimento puede estar expuesto a ciertos microorganismos patógenos y perder su inocuidad, lo cual sigue siendo uno de los problemas más importantes en el mundo. Los principales microorganismos patógenos que podemos encontrar en los alimentos son *Bacillus cereus*, *Clostridium*, *Campylobacter*, *E. coli*, *Listeria*, *Salmonella* y *Staphylococcus aureus* (López, 2017). Según el último informe de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria, en la Unión Europea durante el año 2019 hubo 5.175 brotes transmitidos por alimentos (Rendueles et al., 2022). Un manejo inadecuado de los alimentos puede provocar graves peligros para la salud de los consumidores y para la economía de la industria. Los fallos en la cadena de frío y la inadecuada aplicación de los métodos de conservación, además de las altas temperaturas que encontramos en los países tropicales aumentan la probabilidad de proliferación de los microorganismos alterantes y patógenos en los alimentos en un breve periodo de tiempo. También hay que considerar que existen déficit en cuanto a conocimientos de higiene y seguridad alimentaria en los consumidores (Schneider, 2007). Lo cual junto con ciertos hábitos alimenticios, como por ejemplo, la adquisición de alimentos en puestos callejeros de venta que no cumplen las normas básicas de seguridad alimentaria ni de higiene (Schneider, 2007) agravan este problema.

De igual forma, la aparición de cepas resistentes a múltiples antibióticos es un grave problema. La resistencia bacteriana ocurre debido a un determinante genético que facilita la transferencia de la resistencia entre distintas células, cepas y especies bacterianas (López, 2015). Estas resistencias hacen que aparezca una necesidad de usar métodos naturales con nuevos mecanismos de destrucción para poder así reemplazar los antibióticos usados en la actualidad (Daba et al., 2022).

La bioconservación es una forma de conservación de alimentos bajo ciertas condiciones para aumentar su vida útil y mejorar la seguridad, usando una microbiota natural o controlada y/o sus productos antimicrobianos (Milena et al., 2009; Rendueles et al., 2022).

Las bacteriocinas se descubrieron por primera vez hace más de noventa años gracias al antagonismo entre distintas cepas de *Escherichia coli*, y fueron conocidas como “colicinas”, las cuales inhibían el crecimiento de otras cepas de *Escherichia coli*. Tres años más tarde, fue descubierta una sustancia antimicrobiana que se denominó “nisina” (Daba et al., 2022). Se trata de péptidos de origen proteínico sintetizados principalmente por el metabolismo secundario de algunas bacterias ácido lácticas (BAL). Estos péptidos a bajas concentraciones son efectivos para inhibir microorganismos. Estas bacterias ácido lácticas, además de poder iniciar los procesos de fermentación, han sido aisladas en productos lácteos y en alimentos como la carne y pueden ser utilizadas como conservadores biológicos puros, por ello tendrían potencial para reemplazar a los conservadores sintéticos (Guerrero, 2012; Rendueles et al., 2022). La pediocina es producida por *Pediococcus acidioactic*, y destaca por su gran efectividad para inhibir el crecimiento de *Listeria*, por lo que se trata de una bacteriocina con un gran potencial para la conservación de alimentos lácteos, vegetales y carne (Monroy et al., 2009).

A su vez se puede combinar las bacteriocinas junto a otros tratamientos para aumentar su efecto antimicrobiano, siendo dependiente la elección del tipo de tratamientos en función de la categoría del alimento del que se trate y de su composición microbiana (Milena et al., 2009; Rendueles et al., 2022). Las bacteriocinas son efectivas contra microorganismos patógenos importantes en la industria alimentaria, como *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis* (Liu et al., 2022), y actualmente son usadas en muchos alimentos, como productos cárnicos, productos lácteos, productos enlatados, productos del mar, vegetales, jugos de frutas, cerveza o vino (Guerrero, 2012).

Hoy en día la Administración de Alimentos y Medicamentos sólo ha aprobado la nisina y la pediocina como bacteriocinas seguras en la industria alimentaria. Aun así, se han convertido en un campo de estudio importante en los últimos años como refleja la presente revisión.

Revisión

Características generales

Las bacteriocinas son compuestos proteicos biológicamente activos, que resultan del metabolismo secundario de ciertas bacterias y que tienen la capacidad de actuar como bactericidas o bacteriostáticos frente a microorganismos sensibles de la misma familia o relacionados. Se trata de compuestos creados en el ribosoma que inhiben el crecimiento de bacterias alterantes y patógenas (Kumarinya et al., 2019). Se podrían considerar un tipo de antibióticos, pero se diferencian de ellos en que las bacteriocinas son creadas en el ribosoma. Las bacterias productoras de bacteriocinas son inmunes a ellas, su estructura tiene un peso molecular mayor, tienen un modo de acción distinto y tienen un espectro de acción menor ya que sólo pueden inhibir el crecimiento de bacterias estrechamente relacionadas con la bacteriocina (Camargo et al., 2009). También son eficaces a la hora de inhibir el crecimiento de parásitos, hongos y otras especies de bacterias (Monroy et al., 2009).

Existen una gran cantidad de bacterias productoras de bacteriocinas, uno de los grupos más importante son las BAL. Un amplio grupo de bacterias Gram positivas cuya principal característica es la producción de ácido láctico (Yi et al., 2022). Algunas de ellas son capaces de producir más de un tipo de bacteriocina. Estas necesitan una gran cantidad de energía para poder producir las moléculas antimicrobianas y aún no se conoce cuál es la función concreta de las bacteriocinas en las comunidades bacterianas (Monroy et al., 2009). Se trata de bacterias con forma de cocos o bacilos, anaerobios facultativos o microaerófilos, y no esporulados. Dentro de este grupo (Tabla 1) se incluyen los siguientes géneros de bacterias: *Aerococcus*, *Alloiococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Dolosigranulun*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Globicatella*, *Lactosphaera*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* y *Weisella* (Monroy et al., 2009).

Tabla 1. Bacteriocinas producidas por Bacterias ácido lácticas

Bacteria	Bacteriocina	Bacterias sensibles
<i>Lactococcus lactis</i>	Nisina	<i>Lactococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Listeria</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Bacillus</i>
<i>Carnobacterium piscicola</i>	Carnosina	<i>Carnobacterium</i> , <i>Lactobacillus</i>
<i>Pediococcus acidilactici</i>	Pediocina	<i>Streptococcus faecalis</i> , <i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Lactococcus lactis</i>	Lacticina 3147	<i>Acetobacter</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Listeria</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Lactobacillus</i>
<i>Lactobacillus salivarius</i>	ABP-118	<i>Bacillus</i> , <i>Listeria</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Staphylococcus</i>
<i>Streptococcus mutans</i>	Mutacina IV	Varias especies de Estreptococos orales y Actinomicetos

Fuente: Barboza et al. (2004).

Clasificación

En la actualidad existen tres grupos principales reconocidos en los que se clasifican las bacteriocinas. Dicha clasificación está basada en su estructura, genética, y propiedades fisicoquímicas (Daba et al., 2022).

CLASE I: Lantibióticos

Se trata de pequeños péptidos formados por entre 19 y 38 aminoácidos, con muy bajo peso molecular y con poca estabilidad al calor. Es el único tipo de bacteriocina que se forma en el ribosoma como un prepéptido, y que después sufre una modificación convirtiéndose en un péptido activo (Rendueles et al., 2022; O'Connor et al., 2020).

Los lantibióticos se subclasifican según su modo de acción y sus características estructurales en:

- Clase Ia: Se trata de péptidos alargados con carga positiva cuyo modo de acción se basa en destruir la célula despolarizando la membrana. Dentro de este grupo se incluye la nisina (Cano et al., 2015).
- Clase Ib: Se trata de péptidos globulares con carga negativa o sin carga cuyo modo de acción se basa en la inhibición de las enzimas necesarias de las bacterias sensibles. Dentro de este grupo se incluyen la duramicina y la cinamisina.

CLASE II: No lantobióticos

Se trata de péptidos pequeños formados por entre 30 y 60 aminoácidos, estables al calor y al pH. Es el grupo más amplio de bacteriocinas en cuanto a número y a aplicación. Ejercen su acción en la membrana plasmática de las bacterias sensibles, causando su muerte (Mondragón et al., 2013).

Las bacteriocinas no lantobióticas se subclasifican en tres grupos:

- Clase IIa: Su principal característica es que todos ellos tienen una secuencia de aminoácidos específica en su parte terminal. Una de las bacteriocinas pertenecientes a este grupo sería la pediocina. Cabe destacar que este grupo de bacteriocinas son altamente eficaces frente a *Listeria monocytogenes*.
- Clase IIb: Se trata de bacteriocinas formadas por dos péptidos, consiguiendo así una mejor efectividad antimicrobiana. Para poder realizar su acción como antimicrobianos necesitan que estos dos péptidos estén en la misma concentración. Forman poros en la membrana de las células sensibles. Dentro de este grupo se encuentra la sakacina.
- Clase IIc: Tienen una estructura cíclica gracias a la unión de sus extremos carboxilo y amino terminal y son transportados por otros péptidos. Dentro de este grupo se encuentra la enterocina.

CLASE III: Proteínas termolábiles

Este tercer grupo se conoce también como “bacteriolisinas”. Se trata de péptidos con un peso molecular mayor y sensibles al efecto del calor, con una estructura y actividad compleja. Actúan rompiendo la pared de las células sensibles. Una de las más importantes es la helveticina.

Modo de acción

La acción de las bacteriocinas ocurre en dos fases. En la primera, la bacteriocina es absorbida por la célula sensible gracias a receptores específicos y no específicos. En la segunda, la bacteriocina produce alteraciones en la célula, siendo esta fase irreversible (Daba et al., 2022).

Muchas bacteriocinas actúan en células sensibles, desestabilizan y permeabilizan la membrana citoplasmática formando poros o canales iónicos, a través de los cuales saldrán al exterior de la célula compuestos como aminoácidos, ATP o potasio, disminuyendo la síntesis celular de moléculas y causando la muerte de las bacterias afectadas rápidamente (Camargo et al., 2009; Daba et al., 2022; Mondragón et al., 2013). Los principales compuestos químicos de las bacteriocinas son aminoácidos cargados positivamente como arginina y glicina que interactúan con la membrana de las células (Camargo et al., 2009). La formación de estos poros no ocurre inespecíficamente, sino que existen moléculas que concentran de forma local las bacteriocinas, aumentando así su efectividad (Daba et al., 2022).

Las BAL se protegen frente a la toxicidad de las bacteriocinas gracias a una proteína de inmunidad específica codificada en el mismo operón que la bacteriocina. De esta forma la bacteria puede seguir multiplicándose y seguirá produciendo más compuestos de bioconservación en el alimento, aumentando su vida útil. El principal causante del efecto antimicrobiano de estas bacterias es gracias a la producción de ácidos que reducen el pH y a la producción de compuestos como las bacteriocinas.

La membrana externa de las bacterias Gram negativas tiene lipolisacáridos que tienen efecto de una barrera impermeable contra moléculas como las bacteriocinas, lo cual las hace más resistentes. Siendo más frecuente su aplicación frente a bacterias Gram positivas, aunque todavía queda por investigar más sobre los modos de acción de las bacteriocinas, especialmente frente a bacterias Gram negativas (Liu et al., 2022).

Una de las preocupaciones sobre el uso de bacteriocinas como bioconservadores alimentarios son las cepas resistentes, ya que se ha visto una resistencia de ciertas cepas bacterianas a las bacteriocinas después de 25 ciclos de crecimiento expuestas a ellas. Además, podría haber una resistencia cruzada con otro tipo de bacteriocina (Camargo et al., 2009). La resistencia de las bacterias se basa en cambios en la pared y en la membrana de las células dificultando la formación de los poros. Por este motivo sería favorable el uso de mezclas de bacteriocinas, reduciendo la posibilidad de desarrollar resistencias (Mondragón et al., 2013).

Discusión

Aplicación en la industria alimentaria

El uso de bacteriocinas ya sea de forma aislada, o combinadas con tratamientos tecnológicos leves o con bajas concentraciones de conservantes químicos, son una medida efectiva para alargar la vida útil de los alimentos aumentando la seguridad de los mismos sin alterar su calidad nutricional (De la Fuente et al., 2010). Permitiendo la reducción de pérdidas económicas por alteraciones en alimentos y el riesgo de transmisión de

patógenos. El uso de bacteriocinas es importante también durante el almacenamiento de los alimentos, ya que en un alimento refrigerado, sin microbiota competitiva, pueden proliferar fácilmente bacterias patógenas psicrotrofas como *Listeria monocytogenes*, procedentes de una contaminación cruzada (Grande et al., 2011).

La actividad de las bacterias en la producción de bacteriocinas es máxima en la fase logarítmica temprana y en la fase estacionaria, por tanto al aplicarlas se debe tener en cuenta estas etapas para mejorar la efectividad de estos compuestos frente a los patógenos que interesa que actúen (Camargo et al., 2009). El uso de bacteriocinas con modificaciones sintéticas las hace de 10 a 1.000 veces más potentes ya que así se evita la presencia de contaminantes como pueden ser las proteasas, que inactivarían su acción, aunque algunas pierden actividad al tenerlas almacenadas durante meses.

La bacteriocina más estudiada es la nisina, perteneciente al grupo I de bacteriocinas y producida por *Lactococcus lactis lactis*, la cual tiene una gran acción frente a bacterias Gram positivas como *Listeria monocytogenes* o *Staphylococcus aureus*. También evita la esporulación y las células vegetativas de *Bacillus spp.* y *Clostridium spp.* (Lacroix, 2007). Hasta el momento es la única bacteriocina aprobada como aditivo alimentario por la Organización Mundial de la Salud y por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria, estando registrada (E-234) en el Reglamento Europeo 1333/2008 sobre aditivos alimentarios. En EEUU, la pediocina también está registrada junto con la nisina en la FDA (Administración de Alimentos y Medicamentos) como conservantes de alimentos, además de ser generalmente reconocidas como “seguras” por esta misma agencia (Nascar y Kim, 2021; O’Connor et al., 2020; Kumarinya et al., 2019).

Las bacteriocinas se pueden aplicar mediante la inoculación de BAL en un alimento donde producirá las bacteriocinas, o mediante inoculación de las bacteriocinas purificadas en el alimento, así como ingrediente de un alimento (Beristain-Bauza et al., 2012; Mondragón et al., 2013). También pueden utilizarse en envases activos, que permitan el crecimiento de cepas de *Lactobacillus spp.* para que produzcan bacteriocinas o introduciendo las bacteriocinas en películas formadas por proteínas biodegradables, o recubriendo la superficie de polímeros con estas entre otras formas de aplicación (Kirtonia et al., 2021).

Las bacteriocinas son inactivadas por proteasas, por lo que al consumirlas con los alimentos se inactivaría su acción bactericida en el tracto gastrointestinal gracias a nuestras propias enzimas, lo cual hace que sean seguras a la hora de consumirlas (Aguado et al., 2010). Las bacteriocinas se pueden utilizar en distintos tipos de alimentos con función antimicrobiana, los grupos principales se resumen a continuación.

Bacteriocinas en los productos lácteos

Los principales microorganismos patógenos preocupantes en la industria láctea son: *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, así como *Clostridium tyrobutyricum* en quesos (De la Fuente et al., 2010).

La combinación de nisina en leche con tratamientos térmicos disminuye la cantidad de bacterias como *Bacillus cereus*, lo que permite aplicar a la leche tratamientos térmicos menores alargando la vida útil del producto, incluso con temperaturas superiores a la temperatura de refrigeración. también se han estudiado distintas combinaciones, como el uso de nisina y de alta presión hidrostática, mejorándose la eficacia del tratamiento y disminuyendo la cantidad de microorganismos patógenos y alterantes en leche descremada, suero de leche y leche ultrafiltrada (Grande et al., 2017).

Las bacteriocinas más usadas en la industria quesera son nisina y pediocina. La nisina ha mostrado gran efectividad para controlar la producción de gas producido por *Clostridium tyrobutyricum*. Así como reducir la contaminación por *Listeria monocytogenes* después de haber procesado los alimentos, ya que, según la variedad de queso, se consigue inhibir el crecimiento de *Listeria monocytogenes* durante ocho semanas o más (Verma et al., 2022). Aunque en los quesos con mucha cantidad de grasa las bacteriocinas podrían no tener un buen efecto antimicrobiano debido al carácter anfipático de las grasas, ya que podrían interactuar con los lípidos, mientras que la sal común puede aumentar su efecto antimicrobiano. Por ello, diversas investigaciones se centran en buscar estrategias teniendo en cuenta los ingredientes del queso para aumentar la efectividad de las bacteriocinas.

En cuanto a las ventajas que presentan en la maduración de los quesos, varios trabajos muestran como la adición de bacteriocinas acelera la etapa de maduración del queso. Añadir nisina producida por *Lactococcus lactis ssp. lactis biovar* durante el proceso de elaboración de queso cheddar aumenta la lipólisis y la proteólisis, mejorando las características sensoriales del queso. La lacticina acelera la lisis celular en quesos, aumentando la proteólisis (Grande et al., 2017).

También ha sido aprobado su uso en suero de queso, donde temperaturas de refrigeración junto a la nisina permite aumentar la efectividad de las bacteriocinas y reducir en mayor medida *Listeria* en el suero del queso (Heredia et al., 2017). La nisina ha sido empleada también en otros productos lácteos pasteurizados, como

postres frescos, leches saborizadas, leches evaporadas y cremas. En cremas, el uso de esta bacteriocina consigue inhibir la proliferación de *Bacillus cereus* durante su almacenamiento (De La Fuente et al., 2010).

Aunque ya se han comentado las limitaciones en la aprobación de bacteriocinas como aditivo alimentario en las distintas agencias internacionales, son numerosos los estudios que se están realizando sobre diversos compuestos para comprobar la efectividad de otras bacteriocinas contra microorganismos patógenos y alterantes en distintos tipos de alimentos.

La lacticina es otra bacteriocina producida por *Lactococcus*, con una gran efectividad a la hora de conservar productos lácteos. Al añadirla en polvo se consigue inhibir el crecimiento de *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* en preparados lácteos para lactantes, yogures natural o quesos Cottage. Al añadir un 10% de lacticina en yogur se reduce en 60 minutos la población de *Listeria monocytogenes* hasta niveles no detectables (Grande et al., 2017). Además, inhibe la germinación de las esporas de *Clostridium tyrobutyricum* y evita la contaminación de los quesos en la etapa de maduración (Verma et al., 2022). Aunque esta bacteriocina presenta una efectividad como antimicrobiano más reducida, actuando principalmente frente a *Listeria monocytogenes* y *Clostridium tyrobutyricum* (Grande et al., 2017).

Lactobacillus casei se utiliza en leche, queso y otros productos lácteos fermentados, tienen función antimicrobiana por la producción de bacteriocinas, y muestra también efecto probiótico que es importante sobre todo en el yogur y el kéfir. Además, mejora las características organolépticas. Por lo que no solo aporta la ventaja de la conservación sino varios efectos beneficiosos. La Administración de Alimentos y Medicamentos considera estas bacterias como aditivos o ingredientes alimentarios ya que muestran estas funciones en los productos lácteos.

Bacteriocinas en los productos cárnicos

La proliferación de los microorganismos en los alimentos cárnicos dependerá de las características físico-químicas del alimento así como de los procesos de elaboración y conservación a los que haya sido sometido. La carne y los productos cárnicos, contienen una cantidad adecuada de agua, abundancia de proteínas nutrientes esenciales y pH, en muchos casos favorables para apoyar el crecimiento microbiano (Woraprayote et al., 2016). Incluso en refrigeración, bacterias Gram-negativas como *Pseudomonas*, *Carnobacterium*, *Leuconostoc* o *Lactobacillus* consiguen proliferar, convirtiéndose en el principal motivo de deterioro de los productos cárnicos, causando modificaciones en el pH aumentando la acidez, decoloración de la carne y producción de gas (De la Fuente et al., 2010). En la carne fresca la mayoría de microorganismos proceden de contaminación por las heces, vísceras y/o piel del animal debido a los utensilios y a los manipuladores (Schneider, 2007).

Listeria monocytogenes es un patógeno importante en carne fresca y productos cárnicos. Los cultivos de BAL son eficaces en carne envasada al vacío contra *Listeria monocytogenes* y bacterias alterantes, mejorando la calidad de la carne durante su almacenamiento. Estos cultivos bacterianos permiten disminuir la intensidad de los tratamientos térmicos y de los tratamientos de alta presión hidrostática, aumentando la inactivación de las bacterias no deseadas, ya que dichos tratamientos actúan de forma sinérgica con las bacteriocinas para reducir la microbiota de la carne. Al añadir nisina en concentraciones de 400 UI/gr en carne picada, aumenta la fase de latencia de *Listeria monocytogenes*, mientras que al añadir concentraciones de nisina de 800 UI/gr se consigue una reducción de 2,4 ciclos logarítmicos de esta bacteria en 16 días de almacenamiento (Verma et al., 2022).

En cuanto a los productos cárnicos cocidos, existe un riesgo de contaminación posterior (corte/envasado, etc.) que se puede controlar con bacteriocinas como nisina o pediocina, ya sea aplicadas en el producto antes de su calentamiento, antes del envasado o como películas o recubrimientos. Las películas con bacteriocinas permiten la combinación con otros agentes antimicrobianos y durante el almacenamiento se puede retrasar el crecimiento de bacterias como *Listeria monocytogenes* (Grande et al., 2011). Mejorando la calidad microbiológica de los alimentos y aumentando su vida útil. Al añadir nisina en el material de envasado de los alimentos, se consigue inhibir el crecimiento de bacterias patógenas en carne envasada al vacío y almacenada en refrigeración (Verma et al., 2022).

En salchichas envasadas al vacío se suelen usar nitritos para dar color a la carne y para inhibir el crecimiento de *Clostridium botulinum*, pero estos nitritos pueden reaccionar con ciertos compuestos presentes en la carne y producir nitrosaminas carcinogénicas, por ello, bacteriocinas como la pediocina son una buena alternativa, además de ser estables a la cocción (Mondragón et al., 2013).

El uso de cultivos iniciadores de BAL para conseguir la fermentación de embutidos fermentados da lugar a alimentos homogéneos, de calidad donde se controlan bacterias patógenas como *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens* y *Staphylococcus aureus* (Schneider, 2007). Al añadir estas cepas bacterianas se consigue una gran reducción del pH, dificultando el crecimiento de

microorganismos patógenos, por este motivo el uso de bacteriocinas es interesante sobre todo en embutidos ligeramente fermentados, en los que el pH es más alto y contienen más agua, lo que facilita la proliferación bacteriana (Grande et al., 2011). En estos productos cárnicos fermentados se ha usado sobre todo pediocina, producida por *Pediococcus acidilacti*, que permite una reducción en la cantidad de bacterias patógenas de hasta 10.000 veces en comparación con embutidos sin pediocina, permaneciendo activa después de dos meses de almacenamiento en refrigeración (De la Fuente et al., 2010).

Bacteriocinas en vegetales y zumos de frutas

En productos vegetales, los principales microorganismos patógenos son *Clostridium botulinum*, *Bacillus cereus* y *Listeria monocytogenes* al tratarse de bacterias ubicuas que contaminan fácilmente los vegetales a partir del suelo. También otros microorganismos como *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli* y *Campylobacter*, ya que pueden contaminar los vegetales a través de aguas residuales, desechos fecales o agua de irrigación contaminada (De la Fuente et al., 2010).

De hecho, varios casos de listeriosis han sido producidos por el consumo de vegetales contaminados como apio, tomates y lechuga. La adición de nisina a vegetales como apio, tomates o lechuga permite reducir e la cantidad de *Listeria monocytogenes* de forma considerable. La enterocina también es una bacteriocina muy efectiva en la desinfección de vegetales crudos, ya que inhibe totalmente *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y *Bacillus cereus* (De la Fuente et al., 2010).

Diversos trabajos muestran como la adición del probiótico *Lactobacillus rhamnosus* en frutas (manzanas, melocotón, piña) mínimamente procesadas permiten mantener su efecto como probióticas y además efecto antimicrobiano permitiendo reducir la población de *Listeria monocytogenes* (Alegre et al., 2019).

Otra posibilidad para aumentar la vida útil de las frutas mínimamente procesadas, se basa en películas comestibles activas que contengan bacteriocinas (Verma et al., 2022). Aplicar recubrimientos de celulosa con nisina en mango reduce la concentración de *Listeria monocytogenes* hasta límites no detectables en 4 días, mientras que en muestras de mango sin recubrimiento ni bacteriocinas, la bacteria alcanza una concentración de 10⁶ UFC/gr (Alegre et al., 2019). Recubrimientos basados en quitosano que contengan bacteriocinas como la nisina también resultan efectivos para reducir la tasa de oxidación de las frutas y controlar el crecimiento de los microorganismos (Sachan et al., 2019).

Los zumos de frutas almacenados a temperatura ambiente pueden alterarse fácilmente debido principalmente a *Alicyclobacillus acidoterrestris*, que produce agriado sin gas, así como olores indeseados. Para evitar su multiplicación se han realizado estudios con enterocina AS-48, producida por *Enterococcus faecalis*, añadiendo esta bacteriocina a concentración de 2.5 µg/ml en zumos comerciales de manzana, naranja, uva, piña y melocotón junto con células vegetativas de *Alicyclobacillus acidoterrestris* y se incubaron a diferentes temperaturas (5°C, 15°C y 37°C). Los resultados muestran la efectividad de la adición de enterocinas. En los zumos cultivados sin bacteriocina a 37°C, la cantidad de células vegetativas aumenta entre los 15 y los 30 días de incubación, obteniendo la mayor cantidad en el zumo de melocotón. Sin embargo, en los zumos a los cuales se añade enterocina no se observa un aumento en la cantidad de células vegetativas hasta el día 90 de incubación (naranja y piña), y a los 60 días (manzana, melocotón y uva). En los zumos sin bacteriocina cultivados a 15°C se observó un aumento de 4.30 log₁₀ UFC/ml a los 90 días de incubación, mientras que en zumos en los que se añade enterocina no se observa ningún crecimiento. En cuanto a los zumos sin bacteriocina cultivados a 5°C durante 90 días, la cantidad de células vegetativas resulta en 3.69 log₁₀ UFC/ml, en las muestras con enterocina, la cantidad de células disminuye en los primeros 15 minutos de incubación, manteniéndose en niveles no detectables durante los 90 días de incubación (Grande et al., 2007).

Bacteriocinas en productos marinos

Listeria monocytogenes es uno de los microorganismos patógenos más importantes en esta industria. Al combinar nisina, temperaturas de refrigeración y dióxido de carbono en productos envasados al vacío se consigue retrasar el crecimiento de *Listeria monocytogenes*, pero no se consigue inhibirlo totalmente. La combinación de nisina y lactato de sodio disminuye la cantidad de *Listeria monocytogenes* en pescado ahumado (Verma et al., 2022).

Respecto al uso de películas antimicrobianas con bacterias lácticas productoras de nisina incorporadas para controlar la población de *Listeria monocytogenes* también se ha investigado en productos como el salmón ahumado (Rodríguez et al., 2009).

Películas a base de glicerol además de tener un bajo impacto ambiental, sirven de vehículo para las bacterias lácticas. Se consigue una reducción de 0,52 ciclos logarítmicos de UFC/cm² de microorganismos patógenos como *Carnobacterium spp* y *Listeria monocytogenes* (Rodríguez et al., 2009).

Conclusión

Las bacteriocinas son protagonistas de un creciente número de estudios que demuestran su eficacia en cuanto a la mejora de la calidad microbiológica de distintos tipos de alimentos. A pesar de que pocas de ellas se han podido comercializar todavía, son una alternativa natural importante a tener en cuenta en la industria alimentaria, que responde a las demandas de los consumidores de alimentos inocuos y con mínima cantidad de aditivos sintéticos. Siendo diversas las posibilidades de incorporación y haciendo más efectivos otros tratamientos necesarios en la industria, lo que ayuda a preservar la calidad organoléptica inicial de los alimentos durante más tiempo de una manera segura.

Referencias

- Aguado, L., Álvarez, Y., & Ponce E. 2010. Evaluación del efecto antimicrobiano in vitro del extracto crudo de bacteriocina en combinación con conservadores químicos utilizados en la industria cárnica. *Nacameh*, 4, 69-84.
- Alegre, I., Abadias, M., Colás, P., Collazo, C., & Viñas, I. 2019. Bioconservación frente a patógenos de transmisión alimentaria en frutas y hortalizas mínimamente procesadas. *Arbor*, 196, 543-554.
- Barboza, J., Vázquez, H., Salcedo, R., & Bautista, M. 2004. Probióticos y conservadores naturales en alimentos. *Acta universitaria*, 14, 32-38.
- Beristain-Bauza, S.C., Palau, E., & López-Malo, A. 2012. Bacteriocinas: antimicrobianos naturales y su aplicación en los alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 6, 64-78.
- Camargo, I., Gómez, S., & Salazar, V. 2009. Impacto de las bacteriocinas, importancia como preservantes en la industria de alimentos. *Teoría y praxis investigativa*, 4, 27-31.
- Cano, D., Gómez, M., Oviedo, V., & Rios, L. 2015. Nisina como conservante de alimentos: revisión sistemática de la literatura. *Hechos microbiológicos*. 6, 52-64.
- Daba, G., Elnahas, M., & Elkhateeb, W. 2022. Beyond biopreservatives, bacteriocins biotechnological applications: History, current status, and promising potentials. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 39, 102248.
- De la Fuente, N., & Eleazar, J. 2010. Inocuidad y bioconservación de alimentos. *Acta universitaria*, 20, 43-52.
- Grande, M., Abriouel, H., Martínez, P., & Lucas, R. 2007. Ensayo de la bacteriocina AS-48 en la bioconservación de zumos de frutas. *Iniciación a la investigación*, 2, 1-6.
- Grande, M., Lucas, R., López, M., Pérez, R., & Gálvez, A. 2011. Bioconservación de alimentos cárnicos. *Anales*, 24, 111-123.
- Grande, M., Pérez, R., Cobo, A., Lucas, R., & Gálvez, A. 2017. Bioconservación de alimentos lácteos. *Anales*, 30, 193-206.
- Guerrero, J. 2012. Bacteriocinas: antimicrobianos naturales y su aplicación en los alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 6, 64-78.
- Heredia, P., Hernández, A., & González, A. 2017. Bacteriocinas de bacterias ácido lácticas: mecanismos de acción y actividad antimicrobiana contra patógenos en quesos. *Interciencia*, 4, 340-346.
- Hou, T., Sana, S.S., Li, H., Xing, Y., Nanda, A., Netala, V.R., & Zhang .2022. Essential oils and its antibacterial, antifungal and anti-oxidant activity applications: A review. *Food Bioscience*, 101716.
- Kirtonia, K., Salaiddin, M., Bharadwaj, K.K., Pati, S., Dey, A., Shariati, M.A., Tilak, V.K., Kuznetsova, E., & Sarkar, T. 2021. Bacteriocin: A new strategic antibiofilm agent in food industries. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 36, 102141.
- Kumarinya, R., Kumari, A., Rajput, Y., Sood, S., Akhtar, N., & Patel, S. 2019. Bacteriocins: Classification, synthesis, mechanism of action and resistance development in food spoilage causing bacteria. *Microbial Pathogenesis*, 128, 171-177.
- Lacroix, M. 2007. The use of essential oils and bacteriocins as natural antimicrobial and antioxidant compounds. Food, Global Science Books
- Liu, G., Nie, R., Liu, Y., & Mehmood, A. 2022. Combined antimicrobial effect of bacteriocins with other hurdles of physicochemic and microbiome to prolong shelf life of food: A review. *Science of the total environment*, 825, 154058.

- Milena, S., Suárez, H., & Zapata, S. 2009. Utilización de sustancias antimicrobianas producidas por bacterias ácido lácticas en la conservación de la carne. *Revista Chilena de Nutrición*, 36, 64-71.
- Mondragón, G., Escalante Minakata, P., Osuna, J., Ibarra, V., Morlett, J., Aguilar, C., & Rodríguez, R. 2013. Bacteriocinas: características y aplicación en alimentos. *Investigación y ciencia*, 21, 64-70.
- Monroy, M., Castro, T., Fernández, F., & Mayorga, L. 2009. Revisión bibliográfica: Bacteriocinas producidas por bacterias probióticas. *Contactos*, 73, 63-72.
- Nascar, A., & Kimm K-S. 2021. Potential novel food-related and biomedical applications of nanomaterials combined with bacteriocins. *Pharmaceutics*, 13, 86.
- O'Connor, P., Kuniyoshi, T., Oliveira, R., Hill, C., Ross, R., & Cotter, P. 2020. Antimicrobials for food and feed; a bacteriocin perspective. *Current Opinion in Biotechnology*, 61, 160-167.
- Rendueles, C., Catarina, A., Escobedo, S., Fernández, L., Rodríguez, A., García, P., & Martínez, B. 2022. Combined use of bacteriocins and bacteriophages as food biopreservatives. A review. *International Journal of Food Microbiology*, 268, 109611.
- Rodríguez, D., & Schöbitz, R. 2009. Película antimicrobiana a base de proteína de suero lácteo, incorporada con bacterias lácticas como controlador de *Listeria monocytogenes*, aplicada sobre salmón ahumado. *Facultad de ciencias agropecuarias*, 7, 50-54.
- Rodríguez Saucedo, E.N. 2011. Natural antimicrobial agent use in the preservation of fruits and vegetables. *Ra Ximhai* 7, 153-170.
- Sachan, R.S.K., Kumar, M., & Bala, R. 2019. Food Packaging formulation using chitosan and bacteriocin as an antimicrobial agent. *International Journal for Research in Applied Science -Engineering Technology*, 7, X. doi.org/10.22214/ijraset.2019.10103
- Schneider, R. 2007. Aplicación de bacteriocinas en el control de contaminación de la carne. *Nacameh*, 1, 41-52.
- Verma, D., Thakur, M., Singh, S., Tripathy, S., Gupta, A., Baranwal, D., Patel, A., Shah, N., Utama, G., Niamah, A., Chávez, M., Flores, C., Noe, C., & Prakash, P. 2022. Bacteriocins as antimicrobial and preservative agents in food: Biosynthesis, separation and application. *Food Bioscience*, 46, 101594.
- Woraprayote, W., Malila, Y., Sorapukdee, S., Swetwathana, A., Benjakul, S., & Visessanguan, W. 2016. Bacteriocins from lactic acid bacteria and their applications in meat and meat products. *Meat Science*, 120, 118-132.
- Yu, W., Ma, J., Chen, X., Tan, Y., Chen, P., Zhu, X., & Liu, L. 2020. Expression and purification of recombinant *Lactobacillus casei* bacteriocin and analysis of its antibacterial activity. *CyTA – Journal of Food*, 18, 301-308.
- Yi, Y., Li, P., Zhao, F., Zhang, T., Shan, Y., Wang, X., Liu, B., Chen, Y., Zhao, X., & Lü X. 2022. Current status and potentiality of class II bacteriocins from lactic acid bacteria: structure, mode of action and applications in the food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 120, 387-401.

Minicurrículo

Ana García Bautista. Estudiante Grado en Veterinaria en la Universidad Cardenal Herrera-CEU.

Ana Guerrero Barrado. Profesora Adjunta en la Facultad de Veterinaria (Universidad Cardenal Herrera-CEU). Doctora Producción Animal y Ciencia de Alimentos.

Como citar: Bautista, A.G., & Barrado, A.G. 2023. Bacteriocinas como bioconservador alimentario: características generales y aplicación en alimentos. *Pubsaúde*, 12, a366. DOI: <https://dx.doi.org/10.31533/pubsaude12.a366>

Recibido: 27 out. 2022.

Revisado e aceito: 7 fev. 2023.

Conflito de interesse: os autores declaram, em relação aos produtos e companhias descritos nesse artigo, não ter interesses associativos, comerciais, de propriedade ou financeiros que representem conflito de interesse.

Licenciamento: Este artigo é publicado na modalidade Acesso Aberto sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 (CC-BY 4.0).