

Impacto de las bacteriocinas, importancia como preservantes en la industria de alimentos

Impact of bacteriocins and their relevance as preservatives in the food industry

Isabelle Camargo Peralta¹, Sandra Gómez Bertel²,
Vivian Salazar Montoya³

Resumen

La incorporación a la dieta alimentaria de productos que no presenten efectos colaterales negativos, es una necesidad cada vez más esencial en la industria alimentaria. La producción e investigación en productos "naturales" se ha incrementado en un 80% en las últimas dos décadas. Actualmente, la introducción de cultivos probióticos para el mejoramiento de la flora intestinal ha sido una característica adicional en productos lácteos. Una característica fundamental de estos productos alimentarios sanos, es la presencia de bacterias que se desarrollan en cultivos probióticos, estos son vitales por la producción de compuestos biológicamente activos conocidos como Bacteriocinas. Estas sustancias son péptidos antimicrobianos derivados del metabolismo primario y/o secundario de estos microorganismos benéficos a la salud humana.

Palabras clave: Bacteriocinas, Conservación natural, Lactobacillus spp, probióticos, Alimentos funcionales.

Abstract

The inclusion in the diet of products free of negative side effects is increasingly a vital need in the food industry. Production and research in natural products has increased by 80% in the last two decades. Currently, the addition of probiotic cultures in dairy products has been an additional feature to improve the intestinal flora. A key feature of these healthy food products is the presence of bacteria growing in probiotic cultures, which produce biologically active compounds known as bacteriocins. These compounds work as antimicrobial peptides, derived from primary and/or secondary metabolism of the microorganisms beneficial to the human health.

Key words: Bacteriocins, natural conservation, Lactobacillus spp, probiotics, functional foods.

- 1 Especialista en Gerencia Financiera. Universidad Gran Colombia, Colombia, Fundación Universitaria del Área Andina, Coordinadora Tecnología de Alimentos, icamargo@areandina.edu.co
- 2 Microbióloga Industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Colombia, Microbióloga Ciencias Básicas, Fundación Universitaria del Área Andina, sandrag.bertel@gmail.com
- 3 Ms.C. en Ciencias Biológicas. Universidad de los Andes, Colombia, Docente Microbiología Ciencias Básicas, Fundación Universitaria del Área Andina, ginariveros@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

La alimentación diaria basada en el consumo balanceado de calorías es una de las estrategias más importantes para la prevención de enfermedades crónicas y agudas, y estrategia “innata” de supervivencia. Según la definición dada por la FAO (2009) alimento es todo producto natural o artificial, elaborado o no, que ingerido aporta al organismo humano los nutrientes y la energía necesarios para el desarrollo de los procesos biológicos; encierra en sí misma la importancia del consumo de estos en todo proceso vital.

Así mismo, esta Organización destaca de manera negativa la inadecuada distribución y carencia de unos 2.000 millones de personas al acceso de alimentos seguros y nutritivos que son inevitables para mantener una vida sana y activa (Hinrichsen, 1997). Algunos datos estadísticos indican de manera contundente de donde proviene esta alarmante cifra de inseguridad alimentaria. Dicha aseveración, se basa que en los últimos 20 años la producción de alimentos de muchos países ha sido menor que el crecimiento de la población, especialmente en el Continente Africano donde se registró una reducción en la producción de alimentos por persona, en 31 de los 46 países africanos reportados (Hinrichsen, Robey, 2000). Para América Latina el panorama global de insatisfacción alimentaria esta dado por niveles muy altos de malnutrición, enmarcados en un continente donde abundan los recursos naturales y en el cual en algunas ocasiones se realizan importaciones de alimentos básicos de la canasta familiar, que podrían ser cultivados y generados de manera autosostenible por los países latinoamericanos.

En efecto, varios países son conocidos por ser grandes productores agroalimentarios (como Brasil, Colombia o Argentina); pero al estudiar la proporción de exportaciones agroalimentarias sobre el total de las ventas al exterior, aparecen en los primeros lugares, países como Paraguay donde el 50% de sus exportaciones son agroalimentos; seguido por Nicaragua (49,5 %) y Argentina (40 %) en los años 2000-2004. Por tal razón se deben investigar respuestas alternativas que estén encaminadas a un adecuado uso, distribución y asimilación de todos los beneficios de los alimentos. Un camino de solución dado a estos desbalances entre alimentos, nutrición y producción debe estar diseñado en abordar una estrategia amplia de seguridad alimentaria y de bienestar social. En el caso de América Latina se deben dar cambios profundos, para transformar la actual estrategia agroexportadora y la calidad de los alimentos distribuidos

que sean capaces de reducir la mala nutrición y de manera directa la pobreza (Gudynas, 2007).

Alimentos Funcionales

Dado el panorama actual, en las últimas décadas se han desarrollado nuevos conceptos acerca de alimentos “saludables o funcionales” como un grupo en el cual se encierran múltiples alimentos que dan características nutricionales adicionales para el mejoramiento de la calidad de vida. De igual manera se han desarrollado tecnologías enfocadas al mantenimiento y conservación de los alimentos de manera “natural”, con el fin de encontrar productos con mayor vida útil y a la vez ofrecer al consumidor alimentos con mínimo procesamiento, para un adecuado aprovechamiento nutricional.

Dentro de algunos de estos tratamientos y cualidades adicionales de los alimentos se destacan la utilización de bacteriocinas sustancias naturales derivadas de microorganismos del género *Lactobacillus spp*, estas son empleadas como bioconservantes de la flora normal de los alimentos, controlando y aumentando de esta manera su vida útil y características biológicas (Cheftel, 1995). De igual manera, otra característica adicional de esas sustancias está encaminada en favorecer el crecimiento de microorganismos naturales y limitar el crecimiento de otros organismos patógenos que pueden estar presentes en algunos alimentos, y que podrían desarrollar secuencias negativas en la producción y almacenamiento de los alimentos (Fernández, 2000).

Bacteriocinas

Las bacteriocinas son compuestos proteínicos biológicamente activos, producto del metabolismo primario y/o secundario, que tienen la capacidad de ser bactericidas o bacteriostáticos frente a microorganismos sensibles de la misma especie o estrechamente relacionados. Las bacteriocinas son compuestos sintetizados ribosomalmente producidos por bacterias con el fin de inhibir el crecimiento de otras bacterias. Estas pueden ser miradas como antibióticos, pero difieren de estos de diferentes formas: Las bacteriocinas son sintetizadas ribosomalmente, las células productoras son inmunes a estas, su estructura polipeptídica de mayor peso molecular, tienen un modo de acción diferente y tienen un espectro de acción menor por lo que solo tienen la capacidad de inhibir bacterias estrechamente relacionadas a la cepa productora (Fernández, 2000).

En la naturaleza existe una gran diversidad de bacterias productoras de bacteriocinas aunque han sido muy poco estudiadas. Debido a esto, la purificación de estos productos del metabolismo, está directamente relacionada con el tipo de cepa o cepas productoras así como los factores de crecimiento y la cantidad de cultivo a ser utilizado, sin embargo, la producción se puede ver favorecida controlando parámetros como temperatura, pH, tiempo de incubación y la composición del medio de cultivo (Ogunbanwo, Sanni, & Onilude, 2003).

Uno de los grupos bacterianos mayormente estudiado es el de las bacterias ácido lácticas (BAL), grupo diverso filogenéticamente de bacterias Gram positivas caracterizado por tener algunos rasgos morfológicos, metabólicos y fisiológicos en común. Las bacteriocinas producidas por bacterias ácido lácticas pueden ser divididas en tres clases: I. antibióticos, II. Péptidos pequeños estables a altas temperaturas y III. Proteínas inestables a altas temperaturas.

Muchas bacteriocinas actúan en células sensibles, desestabilizan y permeabilizan la membrana citoplasmática por medio de la formación de poros transitorios o canales iónicos que causan la disrupción o reducción de la fuerza motriz de la célula debido a la interacción con polímeros aniónicos que constituyen la pared celular. Los principales componentes químicos de las bacteriocinas son aminoácidos cargados positivamente como arginina y glicina que pueden interactuar con las membranas celulares de bacterias o células facilitadoras (Ogunbanwo, Sanni, & Onilude, 2003).

La actividad antibacteriana para la producción de las bacteriocinas se incrementa en la fase logarítmica temprana y la fase estacionaria por lo que a la hora de aplicar las bacteriocinas a un alimento a partir de un cultivo iniciador o para su purificación, es importante considerar que las etapas de velocidad máxima de producción de la bacteriocina es la fase logarítmica, con el fin de aumentar la efectividad del proceso de acción de estos compuestos ante microorganismos de deterioro o patógenos importantes. Las bacterias productoras de bacteriocinas se autoprotegen de la toxicidad de estos compuestos mediante la expresión de una proteína de inmunidad específica codificada normalmente en el mismo operón de la bacteriocina, todo esto regulado por un sistema de transducción de señal de tres componentes (Cintas, L..M., Casaus, M.P., Herranz, C., Nes, I.F. & Hernández, P.E. 2000).

Así, la bacteria puede seguir reproduciéndose y liberando más compuestos biopreservantes en el alimento, lo cual da estabilidad al producto y prolonga los periodos de vida útil del producto. La principal causa del efecto antimicrobiano de las bacterias es debido a la producción de ácidos orgánicos que provocan una reducción del pH y producción de otros compuestos antimicrobianos como las bacteriocinas. Esto evidencia la necesidad de realizar investigaciones sobre la acción y la mejor mezcla de bacteriocinas, con el mayor espectro de acción posible tanto a nivel de variedad de microorganismos como a nivel de tipos de productos alimenticios (Grande, Lucas, Abriouel, Valdivia, Omar, Maqueda, Martínez Bueno & Martínez Cañamero, 2006).

La membrana externa de las bacterias Gram-Negativas, contiene lipolisacáridos y no fosfolípidos, que actúan como una barrera permeable contra macromoléculas y solutos hidrofóbicos como las bacteriocinas (Rojas & Vargas, 2008), esto las hace más resistentes y tiende a que los investigadores manifiesten que las bacteriocinas ejercen su acción ante bacterias Gram-Positivas. La actividad de las bacteriocinas en alimentos está altamente influenciada por diferentes factores como composición de los alimentos, interacción con los componentes, estabilidad de la bacteriocina, pH y temperatura de almacenamiento (Grande, Lucas, Abriouel, Valdivia, Omar, Maqueda, Martínez Bueno & Martínez Cañamero, 2006), por ello es muy importante identificar la bacteriocina que realmente puede ejercer un efecto conservante en un alimento y las condiciones bajo las cuales puede tener actividad antimicrobiana.

Sin embargo, se han encontrado estudios sobre el espectro de acción de *Lactobacillus plantarum* BS que puede actuar ante bacterias Gram-Negativas. Esto permite considerar la acción de las bacteriocinas ante un espectro más grande de microorganismos de deterioro presente en la industria alimentaria (Rojas & Vargas, 2008).

Importancia del Uso de Bacteriocinas en Alimentos

La nueva generación de productos mínimamente procesados al vacío y empacados en atmósferas modificadas MAP (Modified Atmosphere Packed) está ganando popularidad, en diferentes sectores del mercado alimentario. Estos productos pueden ser reformulados o rediseñados asegurando el crecimiento de cepas *Lactobacillus spp.* productoras de bacterio-

cinas. Una de las características más importantes de aumentar el estudio en péptidos antimicrobianos es que el uso de estos, con modificaciones sintéticas los hacen más estables e inclusive, de 10 a 1000 veces más potente, debido a la ausencia de contaminantes como las proteasas; sin embargo, algunas pierden actividad después de meses de almacenamiento (Rojas & Vargas, 2008). Su purificación es relativamente fácil, y resulta en algunas bacteriocinas con más de 90% de pureza. Esta es una alternativa ante la purificación de la bacteriocina producida por la bacteria, lo cual requiere de mucho tiempo debido a la baja cantidad producida por el microorganismo. La bacteriocina más conocida del grupo I es la nisina, producida por especies de *Lactococcus lactis lactis*, la cual tiene un amplio espectro de actividad antimicrobiana hacia las bacterias Gram - Positivas, incluyendo *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*. Esta bacteriocina previene la esporulación y células vegetativas de *Bacillus spp* y *Clostridium spp*. Su aplicación ha sido muy estudiada y ya ha sido aceptada como preservante ante FDA – Codex Alimentarius (Grande, Abriouel, Ben- Omar, Maqueda, Martínez-Bueno, Martínez, Valdivia & Galvez, 2005).

Un amplio rango de bacteriocinas producidas por bacterias ácido lácticas (LAB por sus siglas en inglés) han sido investigadas intensamente permitiendo su caracterización química detallada (Joerger, 2002). Debido a que las LAB han sido usadas por siglos para comidas fermentadas, ellas son generalmente consideradas como seguras por la FDA (Food and drug administration) de US. Esto permite su uso en la fermentación de alimentos sin una aprobación adicional. La nisina fue la primer bacteriocina en ser aislada y aprobada para ser usada en alimentos específicamente para prevenir el brote de esporas de *Clostridium botulinum* en quesos distribuidos en Inglaterra. El uso de nisina tiene una larga historia y actualmente es usada como preservativo seguro de comida en alrededor de 48 países diferentes siendo aprobada por la FDA en 1988 (Roos, Galvin, McAuliffe, Morgan, Ryan, Twommey, Meaney y Hill, 1999). La atención de los investigadores de bacteriocinas se enfocó en la bacteria *Listeria monocytogenes*, agente causal de listeriosis, debido a que la frecuencia de brotes de esta infección aumentó combinada con la resistencia natural del agente causal.

Además el estudio de esta bacteria fue interesante debido a su capacidad de crecer a temperaturas cercanas a la refrigeración que se utilizan para la preservación tradicional de comida. Esto condujo al aisla-

miento de un gran número de bacteriocinas de clase IIa, las cuales son altamente activas contra *L. monocytogenes* (Chung, Dickson & Creouse, 1989). Las bacteriocinas también han sido usadas en carne curada, leche, queso y pasta de soya (Ennahar, Sashiha, Sonomoto & Ishizaki, 2000). Se ha desarrollado gelatina de pediodicina, una bacteriocina de clase IIa hecha por bacterias productoras de ácido láctico, que protegen a los hot-dogs de la contaminación bacteriana. Una cepa productora de pediodicina también ha sido adicionada a embutidos y se ha encontrado una reducción del número de bacterias unas 10.000 veces respecto al número en embutidos no tratados. Además la pediodicina activa fue encontrada en los embutidos dos meses después de la refrigeración. Otro ejemplo de una bacteriocina que podría usarse en la industria alimenticia es la piscicolina, una bacteriocina de otra bacteria productora de ácido láctico (Fimland, Blingsmo, Sletten, Jung, Nes & Nisen-Meyer, 1996). La piscicolina ya ha sido patentada y pronto será usada en productos de carne y para lavar ensaladas verdes (Fimland, Blingsmo, Sletten, Jung, Nes & Nisen-Meyer, 1996).

Una preocupación acerca del uso de bacteriocinas para la preservación de comida es la selección de cepas resistentes. Estudios con LAB han mostrado la generación de cepas resistentes a la actividad de bacteriocinas después de haber expuesto la cepa sensible a 25 ciclos de crecimiento sucesivo en presencia de la bacteriocina (Riley & Wertz, 2002). El tratamiento con una combinación de bacteriocinas, por ejemplo nisina y bacteriocina de clase IIa podrían reducir teóricamente la incidencia de resistencia (Raloff, 1998) (Dykes, & Hastings, 1998). Un problema adicional es si la resistencia a una clase de bacteriocina LAB puede resultar en una resistencia cruzada con otra clase de bacteriocina (Bouttefroy & Milliere, 2000). Sin embargo, la naturaleza química muy diversa de las bacteriocinas propone modos de acción diferentes, lo que conduce a pensar que una resistencia cruzada es más difícil de obtener. No obstante, ha sido reportada una resistencia cruzada entre diferentes bacteriocinas dentro de la clase IIa (Vignolo, Palacios, Farias, Sesma & Schillinger, 2000). Las investigaciones en péptidos antimicrobianos derivados de múltiples organismos es un campo de acción enorme y sus usos en diferentes campos de acción es ilimitado. Así mismo las diferencias filogenéticas que se pueden encontrar entre especies relacionadas indican un alto índice de oportunidad en la producción de nuevas sustancias con cualidades conservantes.

AGRADECIMIENTOS

Financiación de la Fundación del área Andina para la realización práctica de la investigación "Aislamiento y caracterización de *Lactobacillus spp* productores de Bacteriocinas, derivados de alimentos fermentables".

REFERENCIAS

- Bouttefroy, A. & Milliere, J. (2000). Nisin-curvaticin 13 combinations for avoiding the regrowth of bacteriocin resistant cells of bacteriocin resistant cells of *Listeria monocytogenes* ATCC 15313. *Int. J. Food Microbiol.* 62:65-75.
- Cheftel C. (1995). *High-pressure, microbial inactivation and food preservation.* Food Sci Tech Internat, 1: 75-90.
- Chung, K., J. Dickson & J. Creouse. (1989). Effects of nisin on growth of bacteria attached to meat. *Appl. Environ. Microbiol.* 55:1329-1333.
- Cintas, L.M., Casaus, M.P., Herranz, C., Nes, I.F. & Hernández, P. E. 2000. In: *Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria. Food Science Technology International.* 7(4): 281-305.
- Dykes, G. A. & Hastings, J.W. (1998). Fitness cost associated with class IIa bacteriocin resistance. In: *Listeria monocytogenes* b73. *Lett. Appl. Microbiol.* 26:5-8.
- Ennahar, S., T. Sashihara, K. Sonomoto & A. Ishizaki. (2000). Class IIa bacteriocins: biosynthesis, structure and activity. In: *FEMS Microbiol. Rev.* 24:85-106.
- FAO. (2009). Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la Alimentación. http://www.fao.org/index_es.htm. Consultada Junio 2009.
- Fernández, M. (2000). *Active food packaging.* *Food Sci Tech Internat,* 2: 97-108.
- Fimland, G., Blingsmo, O., Sletten, K., Jung, G., Nes & Nisen-Meyer, J. (1996). New. Bilogically Active Bacteriocins Constructed by Combinig Regions from Various Pediocin- Like Bacteriocins: the C-Terminal Region in Important for Determining Specificity. In: *Applied and Environmental Microbiology.* 62(9): 3313-3318.
- Grande, M.J., Lucas, R., Abriouel, H., Valdivia, E., Omar, N. Ben., Maqueda, M., Martinez Bueno, M. & Martinez Cañamero, A. (2006). Inhibition of toxicogenic *Bacillus cereus* in rice-based foods by enterocin AS-48. In: *International Journal of Food Microbiology.* 106: 185-194.
- Grande, M., Lucas, R., Abriouel, H., Ben- Omar, N., Maqueda, M., Martínez Bueno, M., Martínez Cañamero, M., Valdivia, E & Galvez A. (2005). *Control of Alicyclobacillus acidoterrestris* in fruit juices by enterocin AS-48. In: *International Journal of Food Microbiology.* 104: 289-297.
- Gudynas, E. (2007). Reporte Global de la FAO: Las tensiones entre alimentos y exportaciones. *Boletín No. 10:1-3* CLAES (Centro Latino Americano de Ecología Social).
- Hinrichsen, D. (1997). *Cómo ganar la carrera de la alimentación.* Population Reports, Serie M, No. 13. Baltimore, Johns Hopkins School of Public Health, Population Information Program.
- Hinrichsen D, Robey B. (2000). Población y medio ambiente: el reto global, Population Reports, Serie M, No. 15. Baltimore, Johns Hopkins University School of Public Health, Population Information Program.
- Joerger, R. (2002). Alternatives to Antibiotics: Bacteriocins, Antimicrobial Peptides and Bacteriophages. In: *Poultry Science.* 82: 640-647.
- Ogunbanwo, S., Sanni, A. & Onilude, A. (2003). Influence of cultural conditions on the production of bacteriocina by *Lactobacillus brevis* OG1. *African Journal of Biotechnology.* 2(7): 179-184.
- Raloff, J. (1998). *Staging germ warfare in foods.* In: *Sci. News* 153:89-90.
- Riley, M. A. & J. E. Wertz. (2002). Bacteriocins: Evolution, Ecology, and Application. *Annu. Rev. Microbiol.* 56:117-137.
- Rojas & Vargas, P. (2008). *Bacteriocinas:* sustituto de preservantes tradicionales en la industria alimentaria. En: *Tecnología en Marcha. Vol. 21-2: 9-16*
- Roos, R. P., M. Galvin, O. McAuliffe, S. M. Morgan, M. P. Ryan, D. P. Twommey, W. J. Meaney, y C. Hill. (1999). *Developing applications for lactococcal bacteriocins.* *Antonie van Leeuwenhoek* 76:337-346.
- Vignolo, G., J. Palacios, M. E. Farias, F. Sesma & Schillinger, U. (2000). *Combined effect of bacteriocins on the survival of various Listeria species in broth and Meat System.* 6:410-416.