

# ARTÍCULOS DE ACTUALIZACIÓN

## UTILIZACIÓN DE SUSTANCIAS ANTIMICROBIANAS PRODUCIDAS POR BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS EN LA CONSERVACIÓN DE LA CARNE

### USE OF ANTIMICROBIAN SUBSTANCES PRODUCED BY ACID LACTIC BACTERIAS ON MEAT CONSERVATION

Sandra Milena Vásquez M. (1), Héctor Suárez M. (1) Sandra Zapata B. (2)

(1) Departamento de Ingeniería Agrícola y de Alimentos, Facultad de Ciencias Agropecuarias,  
Sede Medellín, Universidad Nacional de Colombia, Colombia.

(2) Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, Colombia.

#### ABSTRACT

*The use of lactic acid bacteria (LAB) for food biopreservation has taken great importance nowadays due to its capacity for controlling pathogenic and spoilage microorganisms. Application of biopreservative strains as well as extracts and metabolites produced by them have demonstrated to control diverse undesirable microorganisms improving the enlargement of foods shelf-life and safety against bacteria that can affect the consumer's health. This review involves aspects of food biopreservation and specifically of meat and meat products susceptible of alterations and attacks of diverse microorganisms. Biopreservation methodologies of common use in foods are detailed as well as more outstanding aspects of metabolites produced by LAB, making special emphasis on bacteriocins, antimicrobial substances that have demonstrated its effectiveness to control diverse microorganisms and have had successful application on foods. The use of biopreservation is revised, considered as a technology barrier that combined with other conservation methods like refrigeration and joint to good manufacturing practices can be an interesting option to diminish the addition of chemical preservatives, providing safe foods naturally preserved.*

**Key words:** *biopreservation, lactic acid bacteria, bacteriocins, meat, conservation.*

Este trabajo fue recibido el 16 de Septiembre de 2008 y aceptado para ser publicado el 20 de Diciembre de 2008.

#### INTRODUCCIÓN

En la actualidad, se han identificado serios problemas relacionados directamente con las limitadas formas de conservación de los alimentos frescos, sumado al hecho de la continua exigencia de disminuir y prohibir cada vez más el uso de preservantes y aditivos químicos en los alimentos, debido a los efectos adversos que pueden causar en la salud del consumidor (1, 2). Esto obliga a la búsqueda de metodologías alternativas para conservar los alimentos.

La composición química de la carne fresca y sus ca-

racterísticas biológicas, permiten el desarrollo de microorganismos deteriorantes y patógenos, que disminuyen el tiempo de vida útil y algunos producen intoxicaciones. En este sentido se han desarrollado procedimientos complementarios de conservación, que junto con el uso de la refrigeración, consiguen aumentar la vida útil y garantizar la calidad sanitaria de la carne fresca (3).

La biopreservación es un método de conservación que ofrece diversas condiciones para extender la vida útil y aumentar la seguridad de los alimentos, por medio del uso de una microbiota natural o controlada y de

sus productos antimicrobianos (4). Diferentes estudios han aplicado la biopreservación mediante el uso de una microbiota natural como las Bacterias Acido Lácticas (BAL) aisladas de productos lácteos, cárnicos, pescados y vegetales, utilizando las propiedades antibacterianas, atribuidas a los productos finales de su metabolismo como ácido láctico, acético, peróxido de hidrógeno, diacetaldehído, reuterina y bacteriocinas (5). El uso de las bacteriocinas en la industria de los alimentos puede ayudar a reducir la adición de preservantes químicos así como también la intensidad del tratamiento térmico.

Esta actualización pretende reunir los aspectos más relevantes de la biopreservación y abarcar algunos estudios aplicados en carnes y sus derivados en los últimos años utilizando bacteriocinas o sustratos que las contienen.

### BIOPRESERVACIÓN DE ALIMENTOS

La biopreservación se refiere a la extensión de la vida útil de los alimentos y el aumento de la seguridad microbiológica usando una microflora natural o controlada y sus productos antibacteriales (4, 5). La biopreservación puede ser aplicada en alimentos y específicamente en cárnicos por cuatro métodos básicos (5, 6):

(1) Añadiendo un cultivo puro BAL viables productoras de bacteriocina. De esta manera ofrece una forma directa de incorporar bacteriocinas en el alimento, dependiendo su éxito de la habilidad del cultivo para crecer y producir bacteriocina en el alimento bajo condiciones ambientales y tecnológicas (temperatura, pH, aditivos, entre otros). En el caso de la carne, (que es un alimento que no puede ser sometido a pasterización antes de la adición de las cepas iniciadoras), los cultivos biopreservadores o fermentadores deben ser capaces de competir con la microflora natural, no debe tener impacto en las propiedades fisicoquímicas y organolépticas del alimento, no debe producir gas ni exopolisacaridos para evitar el inflamiento en el empaque debido a la acumulación de gases y la formación de viscosidades en las superficies de la carne (7).

(2) Añadiendo bacterias ácido lácticas mesófilas como una protección contra el abuso de temperatura. En este caso la cepa bioprotectora se mantendrá en una concentración inicial en condiciones frías. Bajo condiciones de abuso de temperatura, la cepa crecerá competitivamente frente a la bacteria patógena evitando los peligros a la salud. En condiciones de abuso de temperatura el cultivo protector puede incluso actuar como el deteriorante predominante, asegurando que las bacterias patógenas no crezcan y que el alimento se deteriore para que no sea consumido (8).

(3) Añadiendo preparaciones de bacteriocina cruda

(extracto crudo), licor fermentado o concentrados obtenidos por el crecimiento de BAL productoras de bacteriocina en sustrato complejo. Este método evita el uso de compuestos purificados que pueden tener regulación legal y ahorra costos en la purificación de cada compuesto.

(4) Adicionando sustancias antagónicas puras o semipuras como las bacteriocinas producidas por BAL. Al usar este método la dosis de bacteriocina es más precisa y por ende más predecible. Sin embargo la aplicación se limita de acuerdo a la regulación de cada país concerniente a aditivos en alimentos (5).

Las dos primeras metodologías podrían denominarse métodos in situ de biopreservación (por inoculación del sistema alimenticio con la cepa productora de bacteriocina en condiciones que favorezcan su producción); mientras las dos últimas serían metodologías ex situ (donde la bacteriocina es producida por fuera del alimento en condiciones controladas y luego aplicada al alimento). En el caso de usar sustancias antagónicas puras o semipuras, es necesario utilizar técnicas de precipitación de la proteína adaptadas a las condiciones de cada laboratorio, debe inicialmente estandarizarse la producción y precipitación de la bacteriocina, hasta garantizar su reproducibilidad antes de la aplicación en alimentos para asegurar una cantidad adecuada con suficiente poder inhibitorio.

La aplicación de las metodologías de biopreservación depende de las variables tecnológicas a las que sean sometidas los cultivos, en los casos ex situ, la producción de bacteriocina puede llegar a ser una metodología más costosa ya que no solo requiere de las cepas iniciadoras (microorganismos completamente aislados), sino de medios de cultivo y equipos para el desarrollo de las cepas y para la producción de la bacteriocina. Adicionalmente se debe garantizar la actividad de cada extracto o de la bacteriocina e incluso puede llegar a ser necesario determinar la concentración mínima inhibitoria contra patógenos. La utilización de estos sistemas de biopreservación requiere en cualquier caso estudios preliminares para determinar el comportamiento de las bacterias en el medio de cultivo en que se desarrolla (curvas de crecimiento), y la estandarización de las técnicas para lograr producir las cantidades suficientes.

Gálvez y colaboradores (8) mencionan que la biopreservación usando bacteriocinas producidas in situ, ofrece varias ventajas comparadas a la producción ex situ, concernientes al aspecto legal y de costos. Disminuir los costos en los procesos biopreservativos puede ser altamente atractivo, especialmente para economías pequeñas y países en desarrollo, donde la seguridad alimenticia puede estar altamente comprometida. La evaluación del potencial bactericida de los extractos

crudos de BAL sobre el crecimiento de microorganismos deteriorantes y patógenos, ha presentado resultados favorables, por lo que han sido recomendados recientemente por varios autores como método de Biopreservación en alimentos (7, 9 - 12).

## FUNCIÓN DE LAS BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS Y SUS METABOLITOS EN LA BIOPRESERVACIÓN

### Bacterias Acido Lácticas

En cualquiera de los casos de biopreservación mencionados anteriormente son utilizadas las Bacterias Acido Lácticas (BAL) que comprenden un número elevado de bacterias gram-positivas cuya característica común es la producción de ácido láctico a partir de los carbohidratos. El grupo de bacterias lácticas asociadas con los alimentos incluyen cocos de géneros: lactococcus streptococcus, pediococcus, leuconostoc y bacilos de los géneros Lactobacillus y Carnobacterium (13, 14).

Moreira (15), menciona que este grupo de bacterias probablemente sea el más abundante y difundido en la naturaleza, debido a la capacidad que poseen de crecer en una variedad de sustratos y en diversas condiciones biológicas. Dentro de las bacterias lácticas, el grupo Lactobacillus es el más importante y heterogéneo, incluyendo especies con propiedades bioquímicas y fisiológicas muy diferentes (16). Las bacterias lácticas no necesitan oxígeno para crecer, son tolerantes a la presencia de CO<sub>2</sub>, nitritos, humo y concentraciones de sal relativamente altas y toleran valores de pH bajos. Por ello, las condiciones existentes en las carnes envasadas a vacío, en las curadas y en los productos cárnicos favorecen el crecimiento de estos microorganismos. En la carne envasada a vacío los microorganismos dominantes son Lactobacillus sp, Leuconostoc sp y Carnobacterium sp (14).

La utilización de los carbohidratos disponibles en el alimento y la reducción del pH a causa de los ácidos orgánicos producidos, son el principal mecanismo de antagonismo microbiano de las bacterias lácticas. No obstante, estas bacterias también producen otras sustancias antagonistas dentro de las cuales se destacan el diacetilo, peróxido de hidrógeno, acetaldehído, compuestos no proteicos de bajo peso molecular y las bacteriocinas (17-19, 3).

**Ácidos orgánicos:** Los ácidos orgánicos contribuyen al desarrollo de sabor, aroma y textura de los alimentos, pero también a su estabilidad mediante la inhibición de microorganismos alterantes (19). La actividad antimicrobiana de los ácidos orgánicos y del pH es complementaria, siendo la fracción no disociada de los ácidos orgánicos la que posee una mayor actividad

inhibidora debido a su naturaleza lipofílica, ya que pueden atravesar la membrana celular y disociarse en el citoplasma. Estas moléculas pueden ejercer dos efectos: por un lado interfieren con funciones celulares, como puede ser la translocación de sustrato y la fosforilación oxidativa, por otro lado, la disociación de los ácidos orgánicos provoca el incremento de protones en el interior celular. Cuando la concentración de protones excede la capacidad tampón del citoplasma se transportan hacia el exterior mediante bomba de protones, reduciendo de esta manera las reservas energéticas de la célula. Cuando estas reservas se agotan, la bomba de protones se detiene y se provoca el descenso del pH interno, lo cual causa a su vez desnaturalización de las proteínas y desestabilización de otros componentes estructurales y funcionales de las células, interfiriendo así con la viabilidad (19, 13).

Las bacterias lácticas pueden sobrevivir y desarrollarse en presencia de pH relativamente bajo a diferencia de otros grupos microbianos con metabolismo respiratorio, pues poseen un sistema de transporte simultáneo de ácido láctico y de protones al exterior celular, que además de contribuir a la homeostasis del pH interno, origina energía (13).

**Compuestos no protéicos:** Entre los compuestos no protéicos que producen las BAL durante su crecimiento se encuentra la reuterina. Esta sustancia a diferencia de las bacteriocinas y el peróxido, solo se produce por *Lactobacillus reuteri*, aislado del tracto gastrointestinal de personas y animales; su potencial tóxico aun no se ha evaluado, aunque por su naturaleza existen dudas acerca de su posible utilidad en la industria alimentaria. Su actividad antimicrobiana es extraordinariamente amplia, afectando a bacterias gram positivas, gram negativas, levaduras, mohos y protozoos. La reuterina se forma durante la utilización anaerobia del glicerol e inhibe la actividad de la enzima ribonucleótido reductasa involucrada en la síntesis del DNA, lo que determina su amplio espectro antimicrobiano (3).

**Metabolitos del oxígeno:** El crecimiento de BAL en medios aerobios conduce a la formación de varios metabolitos del oxígeno como: peróxido de hidrógeno, aniones super óxido y radicales libres, que poseen un efecto bacteriostático y bactericida frente a la flora láctica y no láctica (19). El peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) funciona como un oxidante produciendo radicales libres que atacan los componentes celulares esenciales, lípidos, proteínas y DNA (20). La acumulación del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en los medios de cultivo, se debe a que las BAL, en general no poseen catalasa (15). El peróxido de hidrógeno ha sido estudiado más ampliamente en leche cruda, donde se genera el sistema antimicrobiano "lactoperoxidasa", sin

embargo a pesar de su potencial en la preservación, es reconocida la poca viabilidad de este compuesto en los alimentos, ya que puede tener efectos perjudiciales en su calidad organoléptica causando rancidez de las grasas y reacciones de decoloración y enverdecimiento (3).

### Bacteriocinas

Este es el metabolito sobre el cual se han centrado la mayor parte de estudios en los últimos años, desarrollándose diversas investigaciones en torno a su detección, producción, purificación, forma de acción, caracterización bioquímica, propiedades bactericidas, microorganismos inhibidos o sensibles y aplicación con éxito en la biopreservación de alimentos (7, 9, 12, 21-24).

El término bacteriocinogenicidad esta definido como la capacidad de las bacterias de sintetizar y eliminar al exterior proteínas antagonicas de otros microorganismos, por lo que se podría deducir que las BAL tienen esta característica bien definida. Las bacteriocinas son proteínas o péptidos bactericidas sintetizados en el ribosoma de las BAL, la célula productora sintetiza una molécula que la inmuniza contra la propia bacteriocina. La producción ocurre de forma natural durante la fase logarítmica del desarrollo bacteriano o al final de la misma, guardando relación directa con la biomasa producida, (14, 15).

Las bacteriocinas de bacterias lácticas son generalmente estables a pH ácido o neutro, indicando una adaptación al entorno natural de las bacterias que las producen. Además algunos extractos de *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus brevis* presentan estabilidad al calentamiento a 50 y 80 °C, propiedad que es importante para asegurar el control de microorganismos en algunos procesos de la industria alimentaria (11).

Algunos autores han considerado que el espectro de inhibición de estas proteínas es reducido, generalmente sobre microorganismos relacionados taxonómicamente, de forma que presentan actividad bactericida solamente frente a cepas sensibles (19).

García y colaboradores (3) afirman que la susceptibilidad de las bacterias Gram negativas a las bacteriocinas producidas por las bacterias lácticas es mucho mas limitada y hasta hace poco no se conocían bacteriocinas producidas por bacterias lácticas de origen alimentario activas naturalmente frente a bacterias gram negativas. La producción de bacteriocinas con un espectro de inhibición relativamente amplio, es propia de bacterias de origen alimentario incluidas las de la carne y sus derivados.

Estudios de algunas especies de los géneros *Lactobacillus*, *Streptococcus* y *Staphylococcus* producen bacteriocinas contra bacterias gram negativas (15). sin embargo Klaenhammer (18) clasifica las bacteriocinas

según su espectro de inhibición solo en dos grupos: A) Bacteriocinas activas frente a cepas taxonómicamente relacionadas. B) Bacteriocinas con un amplio rango de actividad frente a bacterias gram positivas.

La nisina presenta actividad inhibitoria frente a microorganismos como *Pseudomonas*, *Escherichia* y *Salmonella* pero el efecto no se observa, a menos que se altere el componente lipopolisacárido de la membrana externa de estos microorganismos, con tratamientos como un choque osmótico o tratamiento con EDTA (25). Estudios recientes también manifiestan actividad antagonica de las bacteriocinas producidas por bacterias gram positivas contra microorganismos gram negativos (26).

El espectro de inhibición de las bacteriocinas o sus extractos, puede verse afectado según el tratamiento a que son sometidos, como liofilización, concentración del sobrenadante, purificación y neutralización entre otros. En el caso particular de los extractos de bacteriocinas, la actividad es mayor cuando son concentrados, pero es necesario tener en cuenta la termoresistencia para evitar la alteración de la funcionalidad de la bacteriocina. En el caso de la plantaricina producida por *Lactobacillus plantarum* LPBM10 la purificación puede disminuir la actividad y termotolerancia (11). Además la acción combinada de dos o más bacteriocinas puede reforzar considerablemente la acción inhibitoria (27).

En cuanto a los mecanismos de inhibición utilizado por las bacteriocinas, la formación de poros en la membrana citoplásmica de células sensibles parece ser un mecanismo de acción común, presentado por las bacteriocinas producidas por bacterias lácticas. La estructura de estos péptidos,  $\alpha$ -helice o  $\beta$ -lamina, formaría dos caras, una hidrofílica y otra hidrofóbica creando oligómeros que atravesarían la membrana formando poros, en los que el lado apolar de la molécula se situaría próxima a los lípidos de la membrana, y el lado polar miraría al centro del poro. Como consecuencia se observa, en general, una pérdida de iones K, ATP y, en algunos casos aminoácidos y moléculas pequeñas. La pérdida de estas sustancias origina a su vez una pérdida del potencial de membrana, consumo de las reservas energéticas celulares, descenso en la síntesis de ADN, ARN y proteínas, originando finalmente la muerte celular (18, 28).

De acuerdo con su definición, las bacteriocinas se inactivan, al menos, por un enzima proteolítica, entre las que conviene citar las de origen pancreático (tripsina y alfa-quimiotripsina) y gástrico (pepsina) (15), característica que hace de estos metabolitos bacterianos, sustancias seguras para ser incluidas como biopreservantes de los alimentos, puesto que serían inactivadas durante

su paso por el tracto gastrointestinal sin ser absorbidos como compuestos activos y sin causar, por tanto, los riesgos relacionados con el uso de antibióticos. Estudios de bacteriocinas producidas por *Lactobacillus curvatus* LTH1174 en la supervivencia de *E. coli* y *Listeria* en un modelo dinámico del estómago y el intestino, reportan que las bacteriocinas son inactivadas por las enzimas digestivas y además es evidenciado el efecto antagónico sobre *L. innocua*. (29). Adicionalmente se han encontrado otras bacteriocinas sensibles a enzimas no proteolíticas, como la leuconocina S que se inactiva por una amilasa ((30).

La clasificación de las bacteriocinas de acuerdo a características físicas, químicas y genéticas es descrita por varios autores (7, 14, 18, 19, 31) que coinciden en mencionar las siguientes clases:

**Clase I - Lantibióticos:** Son pépticos pequeños (menos de 5000 Da), que contiene en su estructura aminoácidos atípicos o modificados caracterizado por la presencia de aminoácidos no comunes como lantionina, metilantionina y  $\alpha$  aminoácidos insaturados como dehidroxilamina y dehidrobutirina, referenciados como lantibióticos. A este grupo pertenece la nisina, que es la bacteriocina mejor caracterizada, y se comercializa para uso como aditivo alimentario (8). Su aplicación en alimentos es amplia, pues actúa adecuadamente a pH ácido lo que permite su uso en alimentos fermentados. Otros ejemplos de este grupo son la lacticina 481 y lacticina S.

**Clase II:** Son péptidos pequeños termoestables (menos de 10000 Da). Ej. Lacticina B, Lactocina 27. Esta característica de termoresistencia parece estar relacionada con su estructura molecular, normalmente compuesta por pépticos pequeños que no presentan estructura terciaria. Esta característica la hace atractiva para la utilización en la industria de alimentos, porque resistiría tratamientos térmicos.

**Clase III:** Proteínas termolábiles de peso molecular mayor 30000 Da. Ej. helveticina J.

Más recientemente Castellano y colaboradores (7) reportaron que la última revisión de la clasificación las divide en dos categorías principales: los lantibióticos que contienen lantioninas (clase I) y las bacteriocinas que no contienen lantionina (clase II), mientras que la clase general; proteínas termolábiles (es la clase III de bacteriocinas) constituyen un grupo llamado bacteriolisinas.

Una limitante acerca de la purificación y uso de bacteriocinas puras en la preservación de alimentos, es el desarrollo de metodologías de precipitación de la proteína de forma fácil y reproducible, con la garantía que no haya residualidad de los productos químicos

que se utilizan en las diferentes técnicas. Las técnicas normalmente utilizadas para la obtención de las bacteriocinas son: precipitación con sulfato de amonio (23, 32, 33), precipitación con ácido tricloroacético (11, 14, 12), precipitación con cloroformo (14), adsorción en columnas (29), entre otros. Así mismo otros investigadores trabajan con el extracto crudo que contiene la bacteriocina después de neutralizado para inhibir la acción de los ácidos orgánicos (9, 10). La eficiencia de cada técnica depende de las características del péptido con el que se trabaje y de la cantidad de sustancias antagónicas producidas.

### **Aplicación de bacterias ácido lácticas y bacteriocinas en la biopreservación de carnes y productos cárnicos**

El uso de LAB como cultivo bioprotector en carnes trae ciertas ventajas, pues el efecto en las características sensoriales es considerado "oculto" o no percibido durante la maduración, debido a el bajo contenido de hidratos de carbono y la fuerte capacidad amortiguadora de la carne. Estas bacterias no producen un cambio drástico de las características sensoriales en comparación a los cambios que tienen lugar en la leche y hortalizas fermentadas. No obstante cuando se van a utilizar cepas bioprotectoras en carnes y sus derivados, los cultivos microbianos deben cumplir características importantes como mantener su efecto inhibitorio a bajas temperaturas y causar un efecto insignificante en el pH de la carne (7). Lo anterior puede volver más atractivo el uso de extractos crudos o de bacteriocinas purificadas directamente sobre la carne para evitar efectos posteriores a la biopreservación.

Durante la evaluación de un cultivo productor de bacteriocinas para la fermentación de embutidos o para la biopreservación, es necesario considerar que la carne o los productos cárnicos son sistemas complejos con un número de factores microbianos que influyen en el crecimiento y la producción metabólica. Lo anterior indica que el desempeño de los cultivos productores de bacteriocina requieren ser comprobados antes de su aplicación en alimentos para determinar la influencia que tienen sobre ellos los componentes de la formulación y de la tecnología de fermentación (5). Específicamente en la carne fresca son varios los factores que pueden interferir con la actividad de la bacteriocina como la inactivación de las bacteriocinas por las proteasas endógenas de la carne y/o la adsorción de las bacteriocinas a la carne o a las partículas de materia grasa (34, 12). También pueden interferir factores como cambios en la matriz alimentaria (degradación de proteínas), cambios en la flora microbiana durante la maduración, aumento

del número de microorganismos en la carne por contaminaciones externas, requerimientos de componentes específicos para su acción, entre otros.

El uso de la biopreservación debe considerarse sólo como una medida adicional a las buenas prácticas de manufactura durante el procesamiento, almacenamiento y distribución de las carnes. Además las bacteriocinas no deben ser consideradas como inhibidores por sí mismas ya que actúan sinérgicamente como una barrera adicional con otros métodos de preservación, en la que los efectos combinados del pH, la temperatura y disponibilidad de oxígeno en forma simultánea sirven para preservar el alimento (7).

Estudios preliminares de la actividad in vitro de la bacteriocina o en sistemas intra-alimentos son realizados con preparaciones parcialmente purificadas obtenidas de caldos de cultivo. En la mayoría de estos casos, se obtiene una baja concentración de bacteriocinas, que limita la eficacia de la biopreservación lo que hace difícil su aplicación a nivel industrial. Algunas de las bacteriocinas más estudiadas en alimentos, carne y productos cárnicos incluye la nisina A, la nisina P y la nisina K, leucocina A, pediocina PA-1 y pediocina AcH, sin embargo, la producción de ciertas bacteriocinas por métodos de laboratorio no implica su efectividad en los alimentos.

La aplicación de la Biopreservación en diferentes alimentos cárnicos, ha permitido encontrar una gran diversidad de antagonismos microbianos y aumentos de la vida útil de los productos; es así como Fiorentini y colaboradores (9) evaluaron la influencia de las bacteriocinas producidas por *Lactobacillus plantarum* en la vida útil de carne bovina refrigerada, encontrando un aumento de tres días en comparación con el control. Enan (23) demostró la inhibición del *Clostridium perfringens* LMG 11264 por la plantaricina UG1 en muestras de pollo, pavo y res y concluye que la plantaricina puede ser más efectiva que la nisina en cuanto a su aplicación en alimentos porque tiene actividad en medio ácido y neutro y en amplios rangos de temperatura; mientras que la nisina solo es activa en pH ácido.

Suárez y colaboradores (12) por su parte manifiestan el efecto positivo sobre la vida útil de filetes de pescado por una plantaricina obtenida de una cepa de *Lactobacillus plantarum* LPBM10 aislada de leche fermentada. Vignolo y colaboradores (35), encontraron que *Lb. curvatus* CRL705 puede ser empleado como cultivo biopreservativo en la carne, después de ensayar diferentes cantidades de inóculo inicial de *L. monocytogenes* y del cultivo biopreservante. La carne inoculada con *L. monocytogenes* mostró un rápido crecimiento del patógeno, el número de células viables aumento de  $3 \times 10^3$  a  $8 \times 10^7$

UFC ml<sup>-1</sup> en 24 horas a 20 °C y en la carne inoculada con la cepa bacteriocinogénica, el número viable de *Listeria* se mantuvo más o menos constante en 103 UFC ml<sup>-1</sup> a lo largo de incubación. Fadda y colaboradores (36) evaluaron el rol del *Lactobacillus* en condiciones de refrigeración y empaque al vacío en carne argentina, concluyendo que el uso de las cepas de *Lactobacillus* puede ser de gran importancia debido a su contribución durante la maduración de la carne. Otros autores como Raloff (37) mencionan el desarrollo de una gelatina de pediocina, bacteriocina de clase II, que protegen a los hot-dog de la contaminación bacteriana. Además, Riley y Wertz (38) hacen alusión a que han sido usadas en carne curada, leche, queso y pasta de soja.

Teniendo en cuenta los resultados de los estudios anteriores se puede concluir que la biopreservación ya sea usando las cepas protectoras directamente, extractos o los metabolitos que estas producen, es un método de conservación que usado junto a Buenas Prácticas de Manufactura puede alargar la vida útil de carnes y sus derivados.

## RESUMEN

El uso de bacterias ácido lácticas (BAL) en la biopreservación de alimentos ha tomado gran importancia en los últimos años debido a la capacidad para controlar microorganismos patógenos y alterantes. La aplicación de cepas biopreservantes así como de los extractos y metabolitos producidos por ellas, han demostrado tener control sobre diversos microorganismos no deseados consiguiendo alargar la vida útil de los alimentos y dar seguridad contra bacterias que puedan afectar la salud del consumidor. En esta revisión se abarca aspectos de la biopreservación en alimentos y específicamente en carne y productos cárnicos, susceptibles de alteración y ataques de diversos microorganismos. Se detallan las metodologías de biopreservación más comunes utilizadas en alimentos, así como aspectos más relevantes de los metabolitos producidos por las bacterias ácido lácticas, haciendo especial énfasis en las bacteriocinas que son sustancias antimicrobianas que han demostrado ser eficaces en el control de diversos microorganismos y han tenido exitosa aplicación a los alimentos. Se revisa el uso de la biopreservación considerado como una tecnología de barrera que combinado con otros métodos de conservación como la refrigeración y ligado a Buenas Prácticas de Manufactura pueden ser una opción interesante para disminuir la adición de preservantes químicos, proporcionando alimentos seguros preservados naturalmente.

Palabras Clave: biopreservación, bacterias ácido lácticas, bacteriocinas, conservación, carnes.

Dirigir la correspondencia a:

Profesor  
Héctor Suárez Mahecha  
Departamento de Ingeniería Agrícola y  
de Alimentos,  
Facultad de Ciencias Agropecuarias  
Universidad Nacional de Colombia,  
Sede Medellín,  
Colombia.  
Teléfono: 57 (4) 4309016  
Fax: 57 (4) 4309016  
E-mail: hsuarezm@unalmed.edu.co

### BIBLIOGRAFÍA

1. FAO/WHO. Risk management and food safety. Report of a joint FAO/WHO consultation, Rome, Italy, 27±31 January. FAO Food and Nutrition Paper No. 65. 1997.
2. European Union (EU). Commission Decision 98/711/EC of 12 November 1998 drawing up the list of third countries from which the import of fishery products is authorised for human consumption, L337, 58±60, 12 December. 1998
3. GARCÍA, T., MARTÍN, R., SANZ, B., HERNÁNDEZ, P. E. Extensión de la vida útil de la carne fresca. I envasado en atmósfera modificada y utilización de bacterias ácido lácticas y bacteriocinas, *Rev Española Cienc Tecnol AI* 1995; 35 (1): 1-18.
4. LEWUS, C., MONTVILLE, T. Detection of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *J Microbiol Meth* 1991; 13 (2): 145-150.
5. HUGAS, M. Bacteriocinogenic lactic acid bacteria for the biopreservation of meat and meat products. *Meat Sci* 1998; 49 (1):139-150.
6. CHEN, H. & HOWER, D.G. Bacteriocins and their Food Applications. *Food Sci Food Saf* 2003; 2: 82-100.
7. CASTELLANO P., BELFIORE C., FADDA S., VIGNOLO G. A review of bacteriocinogenic lactic acid bacteria used as bioprotective cultures in fresh meat produced in Argentina, *Meat Sci.* 2008; 79 (3): 483 – 499.
8. GÁLVEZ, A., ABRIOUEL, H., LUCAS LÓPEZ R., BEN OMAR N. Bacteriocin-based strategies for food biopreservation, *Int J Food Microbiol* 2007; 120: 51–70.
9. FIORENTINI ÂNGELA M. SANT'ANNA ERNANI S. PORTO ANNA C.S. MAZO JACIARA Z. FRANCO BERNADETTE D.G.M. Influence of bacteriocins produced by *Lactobacillus plantarum* bn in the shelf-life of refrigerated bovine meat, *Brazilian J. Microbiol.* 2001; 32:42-46
10. GOMEZ F. Efecto antimicrobiano de un extracto crudo obtenido de *Lactobacillus plantarum* evaluados en un quesito antioqueño contaminado con *Listeria monocytogenes*. Tesis Especialización en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Medellín - Colombia. pp 79, 2005.
11. GUTIÉRREZ RAMÍREZ, L., MONTOYA CAMPUZANO, O., RUIZ VILLADIEGO, S. Evaluación del potencial Bactericida de los extractos de Bacterias Acido Lácticas Sobre el crecimiento In Vitro de *E.coli*, *Salmonella sp* y *Listeria monocytogenes*. *CENIC Ciencias Biol* 2005; (36): 1-6. Número Especial
12. SUÁREZ, M H., FRANCISCO, A., BEIRÃO, L. Influencia de bacteriocinas producidas por *Lactobacillus plantarum* LPBM10 sobre la vida útil de filetes del híbrido de cachama *Piaractus brachypomus* x *Colossoma macropomum* empacado al vacío, *VITAE* 2008; 15 (1): (en impresión)
13. URREGO VELÁSQUEZ, M. C., CADAVID ROJAS, L. A. Efecto sobre la calidad microbiológica, sensorial y reológica, de la aplicación de tres diferentes niveles de ácido láctico en un corte de carne de res (Huevo de Solomo). Trabajo de grado Especialización en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Medellín - Colombia. pp. 72. 2005
14. FERIA CACERES, PEDRO FELIPE. Aislamiento y caracterización Bacteriocinas producidas por *Lactobacillus plantarum* LPBM10 en suero de leche. Tesis Msc Biotecnología. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias. Medellín - Colombia. pp 84, 2007.
15. MOREIRA DO SANTOS, WAGNER LUIZ. Aislamiento y caracterización parcial de una bacteriocina producidas por *Pediococcus sp* 347 de origen cárnico. Tesis Doctorado Universidad Complutense de Madrid Facultad de veterinaria. Departamento de Nutrición y Bromatología III. 266 pág. 1993.
16. PARAJO, J.C., ALONSO, J.L., SANTOS, V., MOLDES, A.V. El ácido láctico en la industria alimentaria. Aplicaciones y tecnologías de producción, *Alimentación Equipos Tecnología* 1996; 15 (1): 91-99.
17. DABES, A.C, SANTOS, W.L.M., PEREIRA E.M. Actividad antimicrobiana de bacterias lácticas aisladas de productos carneos frente a *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*. *Arq Brasileiro Medicina Veterinaria e Zootecnia* 2001;53(1):1 –7.
18. KLAENHAMMER, T.R. Genetics of bacteriocins

- produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol Rev* 1993; 12: 39-86.
19. REQUENA, T., PELAEZ C. Actividad antimicrobiana de bacterias lácticas. Producción de bacteriocinas, *Rev Española Cienc Tecnol Al* 1995; 35 (1):19-44.
  20. JANG HO-HYUK, ANN SUNG-HO, DEOK KIM MYUNG, WHA KIM CHAN. 2008 Use of hydrogen peroxide as an effective disinfectant to *Actinobacillus ureae*, *Process Biochem* 2008; 43:225-228.
  21. OGUNBANWO S.T., SANNA A.L. & ONILUDE A. A. Characterization of bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* F1 and *Lactobacillus brevis* OG1, *J Biotech* 2003; 2(8): 219-227.
  22. BROMBERG RENATA., MORENO IZILDINHA., LOPES ZAGANINI CÍNTIA; DELBONI ROBERTA REGINA; DE OLIVEIRA JOSIANE. Isolation of bacteriocin-producing lactic acid bacteria from meat and meat products and its spectrum of inhibitory activity, *Brazilian J Microbiol* 2004; 35:137-144.
  23. ENAN, GAMAL.. Inhibition of *Clostridium perfringens* LMG 11264 in Meat Samples of Chicken, Turkey and Beef by the Bacteriocin Plantaricin UG1. *International J Poultry Sci* 2006; 5 (2): 195-200.
  24. LADE HS, CHITANAND, MP. GYANANATH, G. KADAM T.A. Studies On Some Properties Of Bacteriocins Produced By *Lactobacillus* Species Isolated From Agro-Based Waste. *J Microbiol* 2006; 2 (1).
  25. STENVENS K.A.SHELDON, B.W., KLAPES, N.A.KLAENHAMMER.T.R. Nisin treatment for the inactivation of *Salmonella* species and other gram-negative bacteria, *Appl Environ Microbiol* 1991; 57: 3613-3615.
  26. TODOROV SD, DICKS L.M.T. *Lactobacillus plantarum* isolated from molasses produces bacteriocins active against Gram negative bacteria, *Enz Microb Tech* 2005; 36: 318-326.
  27. HANLIN, M.B., KALCHAYANAND, P, RAY, P., RAY B. Bacteriocins of acid lactic bacteria in combination have greater antibacterial activity, *J. Food Prot.* 1993; 56:252-255.
  28. OJCIUS DM, YOUNG, JDE. Cytolytic pore-forming proteins and peptides: is there a common structural modification, *Trends Biochem Sci* 1991; 16: 225-229.
  29. GANZLEC MICHAEL G., HERTELA CHRISTIAN, VOSSEN, VAN DER JOS M.B.M., HAMMESA, WALTER P. Effect of bacteriocin-producing lactobacilli on the survival of *Escherichia coli* and *Listeria* in a dynamic model of the stomach and the small intestine, *Int J Food Microbiol* 1999; 48: 21-35.
  30. LEWUS C.B.SUN, S. Y MONTVILLE, T.J. Production of an amylase-sensitive bacteriocin by an atypical *Leuconostoc parmesenteroides* strain, *Appl. Environ. Microbiol.* 1992; 58 : 143-149
  31. ROSS R. P., MORGAN, S., HILL, C., Preservation and Fermentation, Past, Present and Future, *Int J Food Microbiol* 2002; 14:3-16.
  32. GONZALEZ BEATRIZ, ARCA PILAR, MAYO BALTASAR AND SUAREZ JUAN E., Detection, Purification, and Partial Characterization of Plantaricin C, a Bacteriocin Produced by a *Lactobacillus plantarum* Strain of Dairy Origin, *Appl Environ Microbiol* 1994 ; 60 (6):2158-2163.
  33. REMIGER A, EIJSINK V, EHRMANN M, SLETTEN K, NES I, VOGEL R. Purification and partial amino acid sequence of plantaricin 1.25 $\alpha$  and 1.25 $\beta$  two bacteriocins produced by *Lactobacillus plantarum* TMW1.25. *J Appl Microbiol* 1999; 86:1053 - 1058.
  34. MARTINIS, E.C.P.; FRANCO, B.D.G.M. Inhibition of food borne pathogens by bacteriocins producing *Leuconostoc* sp. and *Lactobacillus sake* isolated from linguça frescal. *Rev Microbiol* 1997; 28: 284-287.
  35. VIGNOLO, G., FADDA, S., KAIRUZ, M. N., HOLGADO, A. R., & OLIVER, G. Control of *Listeria monocytogenes* in ground beef by lactocina 705, a bacteriocin produced by *Lactobacillus casei* CRL705, *Int J Food Microbiol* 1996; 29: 397-402.
  36. FADDA S, CHAMBON C, CHAMPOMIER-VERGE S MC, TALON R, VIGNOLO, G. *Lactobacillus* role during conditioning of refrigerated and vacuum-packaged Argentinean meat, *Meat Sci* 2008; 79: 603-610.
  37. RALOFF, J. Staging germ warfare in foods, *Sci. News* 1998.153: 89- 90.
  38. RILEY MA, WERTZ JE. Bacteriocins: Evolution Ecology And Application. *Rev Microbiol* 2002; 56:117 -137