



Bacteriocinas: antimicrobianos naturales y su aplicación en los alimentos

S.C. Beristain-Bauza*, E. Palou y A. López-Malo

*Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla.
Ex hacienda Sta. Catarina Mártir S/N, San Andrés Cholula, Puebla. C.P.72810. México.*

Resumen

Las bacteriocinas son péptidos sintetizados por algunas bacterias ácido lácticas y presentan un amplio potencial como conservadores para inhibir el crecimiento de otros microorganismos. Actualmente, las bacteriocinas son utilizadas en una amplia categoría de alimentos incluyendo cárnicos, lácteos, productos enlatados, productos del mar, vegetales, jugos de frutas, y bebidas como cerveza y vino. Sus características de compatibilidad en dichos productos así como su modo de acción hacen atractivo su uso en los alimentos. En esta revisión se presentará un panorama general del concepto de bacteriocinas, su clasificación, actividad antimicrobiana, modo de acción y principalmente la importancia de su aplicación en la industria alimentaria. Actualmente, los investigadores continúan realizando estudios para ampliar la variedad de bacteriocinas y promover su aplicación como un sustituto de los conservadores sintéticos en alimentos.

Palabras clave: bacterias ácido lácticas, bacteriocinas, antimicrobianos, modo de acción.

Abstract

Bacteriocins are peptides synthesized by some lactic acid bacteria and it has been reported that they have potential as preservatives to inhibit the growth of selected microorganisms. Generally, they are employed in different foods including meat, dairy products, canned foods, seafoods, vegetables, juices, and beverages such as beer and wine. Their characteristics of compatibility in these products and their mode of action make them attractive to be used in foods. The objective of this review is to present an overview about bacteriocins, their classification, antimicrobial activity, mode of action, and the importance of their application in the food industry. Nowadays, the researchers continue their studies in order to find new bacteriocins and to promote their use as a substitute for synthetic preservatives in foods.

Keywords: lactic acid bacteria, bacteriocins, antimicrobial, mode of action.

Introducción

Actualmente existe una tendencia importante por parte de los consumidores en demandar alimentos naturales o que sean mínimamente procesados y sin conservadores sintéticos. Los

consumidores consideran que muchos alimentos procesados presentan una calidad nutricional pobre y que los aditivos sintéticos son peligrosos para la salud. Como resultado de estas demandas, se tiene un gran interés en desarrollar alimentos con agentes antimicrobianos naturales, los cuales deben ser inocuos, que cumplan con los parámetros de calidad y seguridad de las normativas

*Programa de Doctorado en Ciencia de Alimentos
Tel.: +52 222 229 2126, fax: +52 222 229 2727
Dirección electrónica: silviac.beristainb@udlap.mx

aplicables para agentes antimicrobianos y que además presenten alto espectro de efectividad contra microorganismos.

La industria alimentaria ha desarrollado la aplicación de bacteriocinas, producto del metabolismo secundario de algunas bacterias ácido lácticas (BAL) en la conservación de los alimentos. Las bacteriocinas se definen como péptidos de origen proteínico, que a bajas concentraciones presentan inhibición microbiológica efectiva (Beshkova y Frengova, 2012). Algunas BAL productoras de bacteriocinas han sido aisladas de alimentos como la carne y los productos lácteos, además pueden ser utilizadas como iniciadores en procesos de fermentación de otros alimentos. Por lo tanto, las BAL y/o bacteriocinas pueden ser utilizadas como conservadores biológicos puros, que en un momento dado podrían reemplazar a los conservadores sintéticos.

La mayoría de las bacteriocinas son efectivas contra microorganismos patógenos importantes involucrados en enfermedades transmitidas por alimentos, tales como: *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* (Wu *et al.*, 2004; Jeevaratnam *et al.*, 2005). Sin embargo, sólo la nisina ha sido aprobada legalmente para su uso en alimentos por la Administración de alimentos y cosméticos, FDA por sus siglas en inglés, en la categoría Generalmente reconocidas como seguras, GRAS por sus siglas en inglés.

Debido a esta razón, las bacteriocinas se han convertido en un campo importante de investigación y estudio en los últimos 25 años, por lo que el objetivo de esta revisión es dar a conocer un panorama general sobre el concepto de bacteriocinas, su clasificación, actividad antimicrobiana, modo de acción y principalmente la importancia de la aplicación de estos compuestos como agentes antimicrobianos naturales en la preservación de los alimentos.

Revisión bibliográfica

1. Características generales

Las bacteriocinas son péptidos antimicrobianos heterogéneos, con diferentes niveles y espectros de actividad, mecanismos de acción, peso molecular y propiedades fisicoquímicas (Stoyanova *et al.*, 2012). Éstas pueden ser sintetizadas por bacterias Gram-positivas y Gram-negativas (Jeevaratnam *et al.*, 2005); sin embargo, las producidas por las BAL han sido de gran interés por la industria alimentaria debido a las siguientes razones: se encuentran fácilmente en BAL comerciales (lactococos, lactobacilos, pediococos), son consideradas seguras para su consumo, no son tóxicas para las células eucariotas y presentan un espectro de inhibición más amplio en comparación con los espectros de las bacteriocinas sintetizadas por bacterias Gram-negativas (Nes *et al.*, 2007).

De acuerdo con Chen y Hoover (2003) las bacteriocinas, metabolitos secundarios de las BAL, se definen como productos de la síntesis ribosómica, conformados por péptidos entre 20 y 60 aminoácidos (lactococinas A, B, M y G, lactacina B y helveticina J, entre otras). Son secretados extracelularmente y presentan una alta actividad bactericida o bacteriostática sobre cepas o especies relacionadas y sobre microorganismos patógenos y deteriorativos de alimentos (Cotter *et al.*, 2005).

Las bacteriocinas están conformadas por puentes disulfuro, tioéter o grupos tiol libres y cuentan con puntos isoeléctricos en un intervalo de pH 8.6 a 10.4 (Cotter *et al.*, 2005).

La producción de las bacteriocinas ocurre de forma natural durante la fase logarítmica del desarrollo bacteriano o al final de la misma, guardando una relación directa con la biomasa producida. Entre sus características principales destacan el ser estables al calor y a pH ácidos, ambas propiedades están

estrechamente relacionadas: es decir, un incremento de pH reduce la estabilidad al calor (Chen y Hoover, 2003). Sin embargo, aunque las bacteriocinas presentan estabilidad a pH ácido o neutro, son fácilmente destruidas a pH mayor de 10 (Jack *et al.*, 1995). La alta termorresistencia en las bacteriocinas con peso molecular menor a 5 kDa, les permite mantener su actividad después de tratamientos térmicos equivalentes a la pasteurización de la leche, pero son parcialmente destruidas por arriba de los 100°C. Dicha estabilidad puede deberse a la formación de estructuras globulares pequeñas y a la presencia de regiones hidrofóbicas, así como a la formación de enlaces cruzados estables (Alquicira, 2006).

Debido a su naturaleza proteica, las bacteriocinas son inactivadas por proteasas, incluyendo las de origen pancreático y gástrico, debido a ello durante su paso por el tracto gastrointestinal son inactivadas, sin ser absorbidas como compuestos activos (Quintero, 2006), resultando así presuntamente inocuas para el consumidor.

Las bacteriocinas presentan un amplio espectro antimicrobiano, siendo activas a bajas concentraciones (menores a 10 ppm) frente a bacterias Gram-positivas patógenas o deteriorativas de alimentos. Se ha demostrado que dicha actividad también se extiende a bacterias Gram-negativas sub-lealmente dañadas por los tratamientos térmicos o por la presencia de agentes quelantes. Estudios comparativos demuestran que presentan mayor inhibición contra las bacterias Gram-positivas. Las bacteriocinas presentan inhibición potencial contra patógenos como *Clostridium botulinum*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Escherichia coli* y algunas especies de *Bacillus* (Wu *et al.*, 2004; Jeevaratnam *et al.*, 2005).

2. Clasificación de las bacteriocinas

Anteriormente las bacteriocinas producto de las BAL fueron clasificadas en cuatro clases principales, de acuerdo a su estructura, propiedades fisicoquímicas y propiedades moleculares (Chen y Hoover, 2003). Sin embargo, en la actualidad se ha reducido esa clasificación a tres grupos (Savadogo *et al.*, 2006; De Vuyst y Leroy, 2007; Beshkova y Frengova, 2012), ya que la cuarta clasificación no ha sido totalmente justificada.

2.1 Clase I. Lantibióticos

Los lantibióticos son péptidos pequeños conformados por 19-38 aminoácidos (Savadogo *et al.*, 2006; Montalbán-López *et al.*, 2011), policíclicos, con un peso molecular menor a 5 kDa, con poca estabilidad al calor y son modificados postraduccionalmente (cambio químico ocurrido en las proteínas después de su síntesis proteica) por la deshidratación de la serina y la treonina formando aminoácidos como dehidroalanina (Dha) y dehidrobutirina (Dhb), estos residuos, pueden unirse a través de un grupo tioetér a cadenas laterales de cisteína dando lugar a los aminoácidos inusuales como lantionina (Lan) y α -metil-lantionina (MeLan) (Riley y Wertz, 2002) mostrados en la Fig. 1. Los lantibióticos son los únicos que se producen en el ribosoma como un prepéptido, que experimenta una modificación postraduccional extensa para formar un péptido activo (McAuliffe *et al.*, 2001).

Los lantibióticos son subdivididos en dos grupos, de acuerdo a sus características estructurales y a su modo de acción contra microorganismos (Guder *et al.*, 2000):

Clase Ia. Son péptidos elongados en forma de tornillos con moléculas anfipáticas, presentan

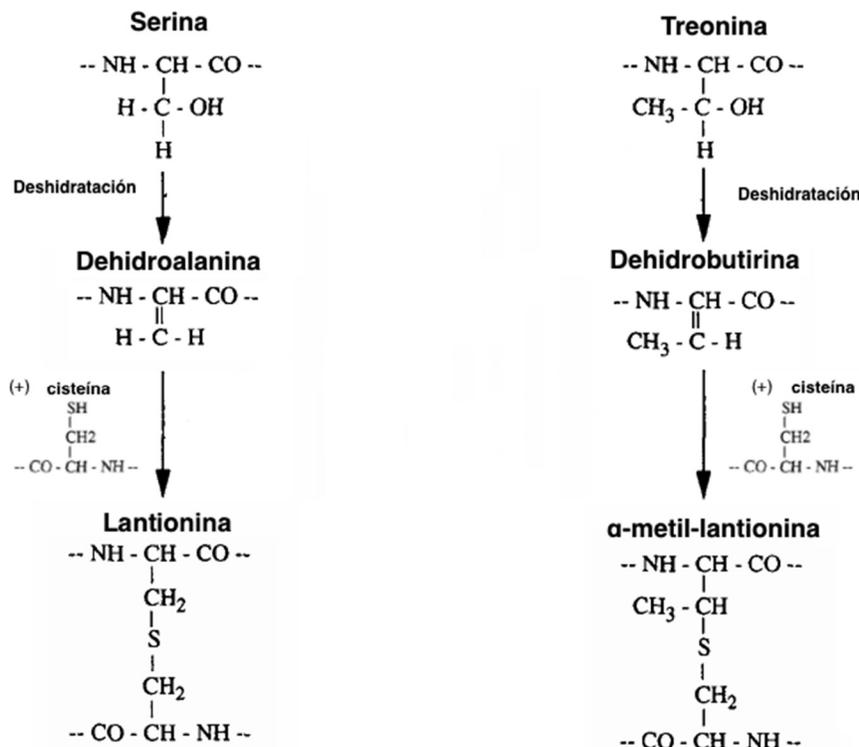


Fig. 1 Modificaciones postraduccionales de la lantionina y α -metil-lantionina de los lantibióticos (Adaptado de Suárez, 1997).

un peso molecular menor a 4 kDa, flexibles, con carga neta positiva, cuya actividad antimicrobiana se debe a la destrucción de la célula por la despolarización de la membrana citoplasmática (Chen y Hoover, 2003; Stoyanova *et al.*, 2012). La bacteriocina más representativa de este grupo es la nisina (Cintas *et al.*, 2001).

Clase Ib. Son péptidos globulares e hidrófobos, con un peso molecular entre 1.8 y 2.1 kDa. Presentan una carga neta negativa o sin carga. Su actividad antimicrobiana está relacionada principalmente con la inhibición enzimática (Riley y Wertz, 2002). Bacteriocinas como duramicina A, B, C y la cinamisina son representativas de este grupo (Naidu *et al.*, 2006).

2.2 Clase II. No lantibióticos

Los no lantibióticos están conformados por bacteriocinas constituidas por 30 a 60 aminoácidos (Montalbán-López *et al.*, 2011), con un peso molecular menor a 10 kDa, no contienen aminoácidos modificados y son estables al calor y al pH (Beshkova y Frengova, 2012). Este grupo de bacteriocinas es considerado como el mayor subgrupo de bacteriocinas provenientes de las BAL, no sólo por su gran número, sino también por su actividad antimicrobiana y aplicaciones potenciales.

Los no-lantibióticos son subdivididos en tres grupos:

Clase IIa. Este grupo se caracteriza por contar con una secuencia amino terminal - Tirosina - Glicina - Asparagina - Glicina - Valina - Xaa - Cisteína (-Try-Gly-Asn-Gly-Val-Xaa-Cys-; donde Xaa indica cualquier residuo de aminoácido) y contiene uno o dos puentes disulfuro (Chen y Hoover, 2003). Este grupo es reconocido principalmente por su alta actividad antimicrobiana contra *Listeria* (Zouhir *et al.*, 2010). Sólo tres bacteriocinas de este grupo han sido caracterizadas: pediocina PA-1, enterocina A y divercina V41 (Chen y Hoover, 2003).

Clase IIb. Este grupo está conformado por bacteriocinas con dos péptidos y la actividad antimicrobiana requiere de la presencia de ambos péptidos en proporciones similares (Oppegård *et al.*, 2007), son formadores de poros en la membrana celular. La sakacina es la bacteriocina más representativa de este grupo (Cintas *et al.*, 2001).

Clase IIc. Poseen una estructura cíclica como resultado de la unión covalente de sus extremos carboxilo y amino terminal, son termoestables y no modificados después de la traducción (Šušković *et al.*, 2010). Éstos carecen de la secuencia amino terminal Tirosina - Glicina - Asparagina - Glicina - Valina - Xaa - Cisteína - que contienen la clase IIa y IIb. La enterocina AS-48 producida por *Enterococcus faecalis* es la bacteriocina más representativa de este grupo (Dimov *et al.*, 2005).

2.3 Clase III. Termolábiles

Este grupo es denominado “bacteriolisinas”, incluye péptidos con un peso molecular mayor a 30 kDa y son lábiles al calor (Abriouel *et al.*, 2011). Su mecanismo de acción se realiza a través de la catálisis e hidrólisis de la pared celular de las células sensibles; las bacteriolisinas más representativas son la helveticina J producida por *Lactobacillus*

helveticus y la enterocina producida por *Enterococcus faecium* (Naidu *et al.*, 2006).

3. Actividad antimicrobiana y modo de acción de las bacteriocinas

De acuerdo con Cintas *et al.* (2001) se ha determinado que las bacteriocinas demuestran alta actividad bactericida que se relaciona principalmente con el contenido de cistina; y de acuerdo a ello, se establecen las tres espectros de acción:

- a) Bacteriocinas con espectro inhibitorio estrecho, cuyos productos inhiben microorganismos de la misma especie.
- b) Bacteriocinas con espectro inhibitorio intermedio, cuyos productos inhiben otros géneros de BAL, bacterias Gram-positivas y patógenos presentes en alimentos.
- c) Bacteriocinas con amplio espectro de inhibición que actúan contra un gran número de bacterias Gram-positivas.

La mayoría de las investigaciones han demostrado que la actividad bactericida de las bacteriocinas, se dirige principalmente contra bacterias Gram-positivas (Jack *et al.*, 1995). Sin embargo, existen numerosas bacteriocinas que presentan un amplio rango de acción, inhibiendo especies Gram-negativas (Mota-Meira *et al.*, 2000; Chung y Yousef, 2005; Gautam y Sharma, 2009), hongos patógenos (Ennahar *et al.*, 2000) y virus (Jenssen *et al.*, 2006).

Cotter *et al.* (2005) determinaron que las bacteriocinas de bacterias Gram-positivas presentan diferentes modos de acción de acuerdo a su clasificación (Fig. 2).

El modo de acción de los lantibióticos se atribuye a la desestabilización (debido a la formación de poros) de las funciones de la membrana citoplasmática. La estructura de estos péptidos, α -hélice o β -laminar, pueden formar dos caras, una hidrofílica y otra

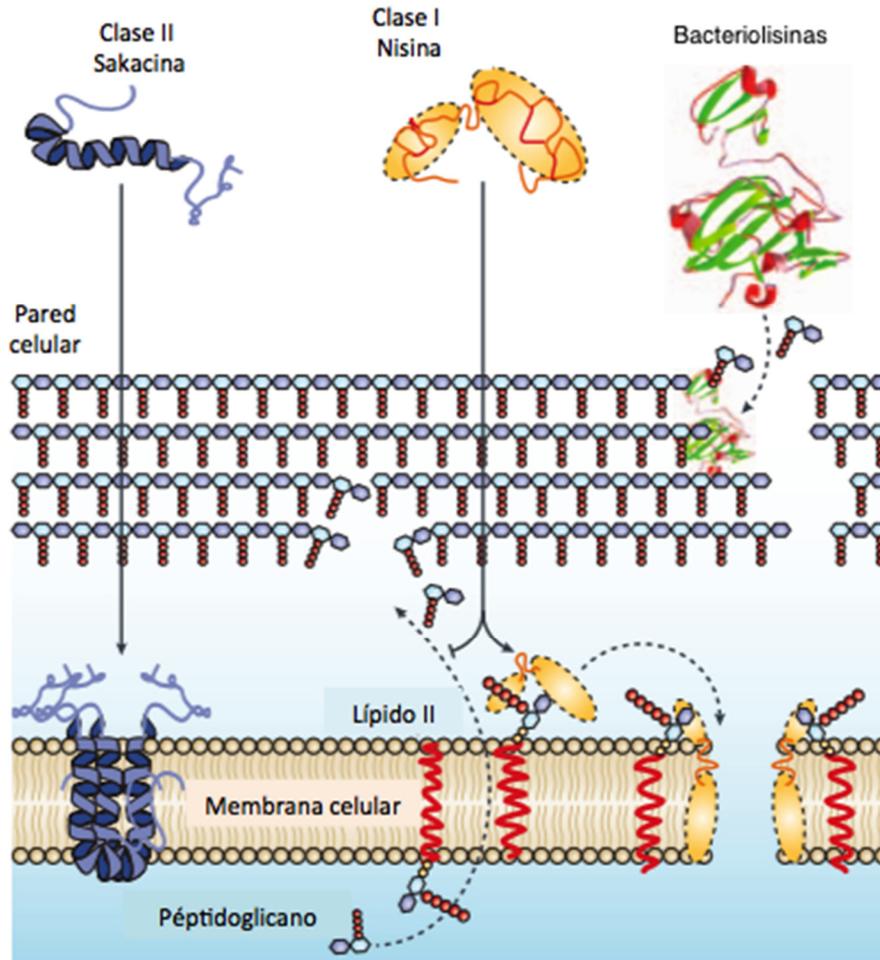


Fig. 2 Modo de acción de los lantibióticos (Clase I), no-lantibióticos (Clase II) y bacteriolisinas (Clase III) (Adaptado de Cotter *et al.*, 2005).

hidrofóbica creando oligómeros que pueden atravesar la membrana formando poros (Chen y Hoover, 2003). El lado apolar de la molécula se situará próxima a los lípidos de la membrana y el lado polar al centro del poro. Como consecuencia, se observa 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 la membrana, consumo de las reservas energéticas celulares, descenso de la síntesis de ADN, ARN y proteínas, originando la muerte celular (McAuliffe *et al.*, 2001). Algunos miembros de la clase I, como la nisina, han demostrado

un modo de acción dual. La nisina, se une a la pared celular mediante atracciones electrostáticas, lo cual se facilita debido a la carga positiva de este péptido y las cargas negativas de los componentes de la pared celular. Posteriormente, la nisina se une al lípido II, el transportador principal de las subunidades de peptidoglicano desde el citoplasma a la pared celular, y por lo tanto previene la síntesis correcta de la pared celular, provocando la formación de un poro transmembranal permitiendo la salida de aminoácidos y ATP, lo que conduce a la muerte celular (Cotter *et al.*, 2005; Hassan *et al.*, 2012).

Los no-lantibióticos contienen dos péptidos en su estructura principal, los cuales pueden presentar actividades duales distribuidas a través de sus dos péptidos (Ennahar *et al.*, 2000). En general, los péptidos de esta clase tienen una estructura anfifílica helicoidal, lo que les permite orientarse e insertarse en la membrana de la célula, provocando la muerte celular. El modo de acción principal se debe a las interacciones con la membrana celular, se inicia con el reconocimiento entre la bacteriocina y el receptor de la membrana celular, seguido de una serie de interacciones electrostáticas, que le permite insertarse dentro de la membrana interfiriendo con su estructura y conduciendo a una despolarización y muerte (Hu *et al.*, 2006). El mecanismo de la pediocina PA-1 es el más estudiado. En este caso, el extremo N-terminal de la molécula adopta una conformación β que es estabilizada por un puente disulfuro entre Cisteína-9 y Cisteína-14, para promover la unión de los aminoácidos catiónicos (Lisina-11 e Histidina-12) a los fosfolípidos aniónicos, en la membrana a través de interacciones electrostáticas. Posteriormente el extremo C-terminal sufre una transformación donde el puente disulfuro entre Cisteína-24 y Cisteína-44 ayuda a la formación de una estructura α -helicoidal que favorece el contacto con los lípidos de la membrana celular. La pediocina PA-1 se introduce en la membrana, causando la formación de poros y la disipación de protones lo que causa un colapso en el gradiente de la membrana, incrementando el voltaje celular y haciendo susceptible a la célula de perder iones intracelulares y ATP, absorbiendo radiación UV y evitando el transporte de aminoácidos; para finalmente provocar la muerte celular (Naidu *et al.*, 2006).

El mecanismo de acción de las bacteriocinas de la clase III “bacteriolisinas” es menos complejo con respecto a los lantibióticos y los no-lantibióticos, ya que actúan directamente sobre la pared celular de las bacterias Gram-positivas lo que conduce a

la muerte y lisis de la célula (Cotter *et al.*, 2005).

Los investigadores se han centrado en realizar estudios para determinar el efecto inhibitorio que presentan las bacteriocinas sobre las bacterias Gram-negativas y han encontrado que su inhibición es menor. Esta resistencia posiblemente se debe a que éstas cuentan con la presencia de una membrana externa, conformada por lipopolisacáridos que actúa como una barrera de permeabilidad efectiva (Chung y Yousef, 2005). Debido a ello, los investigadores han propuesto la combinación de métodos, donde las bacteriocinas podrían ejercer un efecto sinérgico con tratamientos como altas presiones hidrostáticas (HHP) y pulsos eléctricos (Ananou *et al.*, 2010; Saldaña *et al.*, 2011). También han adicionado sustancias quelantes que hacen permeables la pared y membrana celular a las bacteriocinas permitiendo así la inactivación de las bacterias Gram-negativas (Rodgers, 2001).

4. Bacteriocinas de uso potencial en alimentos

Las bacteriocinas son una opción atractiva como conservadores naturales para el desarrollo de alimentos mínimamente procesados. Actualmente, se ha demostrado que presentan alto potencial en la biopreservación de carne, productos lácteos, alimentos enlatados, pescado, bebidas alcohólicas, ensaladas, huevo, productos de panificación, vegetales fermentados, entre otros, ya sea solos o en combinación con otros métodos.

De acuerdo con lo propuesto por Cleveland *et al.* (2001), las bacteriocinas pueden ser utilizadas en los alimentos de las siguientes maneras:

a) Como cultivos iniciadores en alimentos fermentados.

- b) Adicionadas directamente al producto, purificadas o semipurificadas.
- c) Como un ingrediente en la elaboración de alimentos (aditivos).

Sin embargo, las bacteriocinas deben cumplir con importantes criterios de regulación para su aplicación en los alimentos (Gautam y Sharma, 2009) describiéndose a continuación:

- a) La cepa productora debe estar dentro de la clasificación GRAS, es decir, no estar asociada con proveer algún riesgo a la salud.
- b) Deben ser reconocidas y aceptadas para su uso en alimentos por una autoridad reguladora.
- c) Deben cumplir con un espectro de inhibición que puede incluir microorganismos patógenos o tener actividad contra uno en particular.
- d) Su adición en los productos debe de presentar efectos benéficos, tales como mejorar la seguridad, calidad y/o sabor.
- e) Alta actividad antimicrobiana a bajas concentraciones.

Entre las aplicaciones más importantes de las bacteriocinas en alimentos, se encuentran las siguientes:

- a) En los productos enlatados como en granos de elote, chícharos, papas, hongos y zanahoria se aplican para controlar el crecimiento de termófilos esporulados. Estos alimentos de baja acidez (pH mayor a 4.5), son susceptibles al crecimiento de esporas resistentes a los tratamientos térmicos como *Bacillus stearothermophilus* y *Clostridium thermosaccharolyticum*. La adición de la nisina además de inhibir dichos microorganismos, prolonga el almacenamiento de estos productos a temperatura ambiente (Delves-Broughton, 2005).
- b) El uso de las bacteriocinas en los productos del mar es muy complejo, debido a la constitución del producto (matriz baja en

azúcares), por lo tanto, la bacteriocina que se adicione, no debe ocasionar un deterioro en el producto, por la baja acidificación que ésta puede proveer. Sin embargo, en estos alimentos retoma importancia ya que las investigaciones actuales han demostrado la inhibición de *L. monocytogenes* en langosta y *C. botulinum* en alimentos marinos empacados con atmósferas modificadas (Pilet y Leroi, 2011).

- c) En los productos cárnicos se utilizan para inhibir *C. botulinum*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* y *E. coli* (Naidu *et al.*, 2006). También se busca reducir el uso de los nitritos y sus derivados que pueden formar nitrosaminas carcinogénicas.

- d) En el vino y cerveza, el objetivo principal es inhibir levaduras, el crecimiento de lactobacilos y pediococos como microorganismos deteriorativos. Las bacteriocinas son adicionadas en los vinos para prevenir el crecimiento de las BAL y asegurar la ausencia de la fermentación maloláctica, evitando la disminución del pH del producto que causa defectos como la mucosidad y el exceso de acetato, que promueven un efecto negativo en la calidad del vino. En la cerveza, inhiben el crecimiento de lactobacilos y pediococos que conducen a una cerveza con exceso de acidez y sabores extraños, debido a la producción de diacetilo (Naidu *et al.*, 2006).

- e) El uso de las bacteriocinas en productos lácteos es más común. En los quesos, las bacteriocinas controlan el crecimiento de las BAL ya que un exceso de ellas proveerá de sabores extraños a los productos, por otro lado su aplicación promueve la aceleración de su maduración (Beshkova y Frengova, 2012). En los postres lácteos, se utilizan para extender su vida útil, ya que éstos no pueden ser completamente esterilizados sin dañar sus características sensoriales. En la leche, previene la esporulación de bacterias termofílicas resistentes al calor que pueden

sobrevivir a la pasteurización (Ekbal *et al.*, 2012). Principalmente, la actividad antimicrobiana de las bacteriocinas en estos productos es inhibir microorganismos como *Clostridium* y *Listeria* (Cleveland *et al.*, 2001).

Como lo demuestran los reportes de investigación, las bacteriocinas son potencialmente útiles para garantizar la inocuidad de los alimentos así como mejorar sus características sensoriales y fisicoquímicas. En la Tabla I, se muestra un resumen de algunas bacteriocinas provenientes de las BAL y sus principales aplicaciones en los alimentos.

5. Bacteriocinas comerciales utilizadas en la industria alimentaria

5.1 Nisina, regulación y su aplicación en los alimentos

La nisina es la bacteriocina comercial más importante y la primera aprobada para su uso en la industria alimentaria. La nisina es producida por *Lactococcus lactis*, es un péptido pequeño policíclico con un peso molecular de 3.4 kDa, se encuentra conformada por 34 aminoácidos, con residuos deshidratados (dehidrolanina y dehidrobutirina) y cinco anillos de lantionina

Tabla I. Bacteriocinas de uso potencial aplicadas en los alimentos.

BAL	Bacteriocina	Micoorganismo susceptible	Alimento	Referencia
<i>Enterococcus durans</i> 41D	Duracina GL	<i>Listeria monocytogenes</i> SCOTT A	Queso artesanal	Du <i>et al.</i> , 2011
<i>Lactobacillus curvatus</i>	Curvaticina FS47	<i>L. monocytogenes</i>	Carne molida	Naidu <i>et al.</i> , 2006
<i>Lactobacillus sake</i>	Sakacina P		Filetes de salmón	
<i>Enterococcus</i>	Enterocina AS-48	<i>L. monocytogenes</i> <i>Bacillus cereus</i>	Jugo de lechuga Purés y sopas de vegetales	Settanni y Corsetti, 2008 Grande <i>et al.</i> , 2007
			Alimento infantil a base de arroz	Grande <i>et al.</i> , 2006
<i>Lactobacillus sake</i>	Sakacina	<i>L. monocytogenes</i>	Carne	Garriga <i>et al.</i> , 2002
	Sakacina P	<i>L. monocytogenes</i>	Pollo refrigerado	Katla <i>et al.</i> , 2002
<i>Enterococcus faecalis</i>	Enterocina A y Enterocina B	<i>Listeria innocua</i> CTC1014	Salchichas	Aymerich <i>et al.</i> , 2000
<i>Lactococcus lactis</i>	Lacticina 3147	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC6538 <i>Listeria innocua</i> DPC1770	Leche y suero de leche	Morgan <i>et al.</i> , 2000
<i>Enterococcus faecalis</i>	Enterocina 226 NWC	<i>L. monocytogenes</i>	Queso mozzarella	Villani <i>et al.</i> , 1993

En 1969, la nisina fue reconocida por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura/Organización mundial de la salud, FAO/WHO, por sus siglas en inglés, como un preservativo en los alimentos, pero fue hasta el año 1988 cuando la FDA aprobó su uso como un aditivo, estableciéndolo en el Código Federal de Regulaciones (CFR) título 21, apartado 184 de la sección 184.1538 “Preparación de nisina”. Su uso se permite en productos enlatados y quesos fermentados para la inhibición del crecimiento de *C. botulinum* y en procesos de pasteurización para inhibir *L. monocytogenes*, estableciendo un límite máximo de 250 ppm en el producto terminado, límite establecido por los métodos estándares del instituto británico (FDA, 2012).

Debido a ello, la nisina ha sido uno de los conservadores más utilizados en la industria alimentaria, además sus características la convierten en un aditivo adaptable a la naturaleza de los alimentos; es aplicable en bebidas como vinos y cerveza, inhibiendo la fermentación de la levadura y evitando el deterioro del producto; en algunos jugos de

frutas, es utilizada para inhibir el crecimiento de *Bacillus*; en lácteos, su principal aportación es la inhibición de *L. monocytogenes* por su alta estabilidad térmica y en productos enlatados la inhibición de *C. botulinum*; siendo éstas sus principales aplicaciones. La Tabla II muestra algunas de las aplicaciones más relevantes de la nisina en la industria alimentaria.

5.2 Pediocina, regulación y su aplicación en los alimentos

La pediocina es otra bacteriocina que tiene un amplio campo de aplicación en la industria alimentaria principalmente por el control que ejerce en la inhibición de patógenos como *L. monocytogenes* (Jack *et al.*, 1995). La pediocina que pertenece a la clase II, no-lantibióticos de la clasificación de las bacteriocinas, es sintetizada vía ribosomal por bacterias lácticas del género *Pediococcus* el cual está conformado por las siguientes especies: *P. acidilactici*, *P. pentosaceus*, *P. damnosus*, *P. parvulus*, *P. inopinatus*, *P. halophilus*, *P. dextrinicus* y *P. urinaeequi* (Naidu *et al.*, 2006).

Tabla II. Aplicación de la nisina en la industria alimentaria.

Alimento	Concentración	Microorganismo susceptible	Referencia
Cerveza	3 mg/L	<i>Lactobacillus brevis</i> CCT 3745	Franchi <i>et al.</i> , 2012
	>100 mg/L	<i>Acetobacter aceti</i> CCT 2565	
	0.8 mg/L	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ATCC 9649	
	>200 mg/L	<i>Schizosaccharomyces ludwiggi</i> <i>Saccharomyces diastaticus</i>	
Leche y huevo líquido	250 mg	<i>L. monocytogenes</i> SCOTT A 724	Jin, 2010
Jugo de manzana y zanahoria	10 UI/ml	<i>Escherichia coli</i> K12 <i>Listeria innocua</i> ATCC 51742	Pathanibul <i>et al.</i> , 2009
Jugo de naranja	100 UI/ml	<i>Salmonella</i> Typhimurium	Liang <i>et al.</i> , 2002
Queso cheddar	300 UI/g	<i>Listeria innocua</i>	Benech <i>et al.</i> , 2002
	300 UI/g	<i>Listeria monocytogenes</i> V7 <i>Staphylococcus aureus</i> 196 E <i>Clostridium sporogenes</i> PA 3679	Zottola <i>et al.</i> , 1994

UI: Unidades arbitrarias.

La pediocina es un péptido con un peso molecular de 4.6 kDa, se encuentra conformada por 44 aminoácidos que no se modifican postraduccionalmente. Es un péptido con carga neta positiva, anfifílico con altas regiones hidrofóbicas con la presencia de dos enlaces disulfuro. Presenta un punto isoeléctrico entre 8.6 y 10. Es estable en soluciones acuosas diluidas, principalmente a pH 4 y pH 6, siendo inactivada a pH 7 (Ennahar *et al.*, 2000). Tiene una amplia estabilidad térmica y durante periodos largos, se ha demostrado que presenta actividad inhibitoria después de un tratamiento a 80°C durante 60 minutos (Rodríguez *et al.*, 2002); sin embargo, en tratamientos con mayor temperatura, 120°C, durante 15 min es parcialmente inactivada, es decir, se desnaturaliza debido a la interacción con el medio y la oxidación de las moléculas de metionina a sulfóxido de metionina (Quintero, 2006).

La pediocina junto con la nisina han sido las bacteriocinas con mayor aplicación en la industria alimentaria; sin embargo, aunque han demostrado alta efectividad antimicrobiana, la pediocina es comercializada y se encuentra incluida en varias patentes europeas y norteamericanas (Chen y Hoover, 2003), la FDA aún no le otorga el estatus GRAS lo que limita su uso en los alimentos.

La pediocina presenta un gran potencial para ser utilizada como un excelente agente antimicrobiano en los alimentos, principalmente en los cárnicos (Cleveland *et al.*, 2001). Se han realizado varios estudios donde la pediocina es aplicada en salchichas, jugos de carne, lácteos (Cintas *et al.*, 2001) y vegetales, principalmente para el control de bacterias deteriorativas y patógenas (Naidu *et al.*, 2006).

La Tabla III, muestra las aplicaciones más relevantes de la pediocina en la industria alimentaria.

Conclusiones y comentarios finales

El empleo de bacteriocinas como antimicrobianos naturales es de gran interés en la industria alimentaria, principalmente por su amplio espectro antimicrobiano. Como se ha presentado, las bacteriocinas son aplicadas en una amplia variedad de productos lo que diversifica su uso, con alto potencial para sustituir a los conservadores sintéticos por naturales, abriendo paso a nuevas tecnologías en la biopreservación alimentaria.

Es importante que los investigadores, intensifiquen la búsqueda de nuevas

Tabla III. Aplicación de la pediocina en la industria alimentaria.

Alimento	Concentración	Microorganismo susceptible	Referencia
Salchicha	5 000 UI/ml	<i>Listeria monocytogenes</i> <i>Clostridium perfringens</i>	Nieto-Lozano <i>et al.</i> , 2010
Carne bologna	7 500 UI/g	<i>Listeria monocytogenes</i> LM 101M	Maks <i>et al.</i> , 2010
Filete de pescado	3 000 UI/ml	<i>Listeria monocytogenes</i> BCRC 14845	Ying <i>et al.</i> , 2007
Carne de res	6 000 IU/ml	<i>Listeria monocytogenes</i>	Uhart <i>et al.</i> , 2004
Queso	25 000 UI/ml	<i>L. monocytogenes</i> WSLC 1364	Loessner <i>et al.</i> , 2003
Leche en polvo y carne de res	30 000 UI/ml	<i>Listeria monocytogenes</i>	Degnan <i>et al.</i> , 1993

UI: Unidades arbitrarias.

bacteriocinas así como su análisis en los alimentos, logrando que en un futuro sean aprobadas para su uso industrial.

Agradecimientos

Beristain-Bauza, S.C. agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el financiamiento de sus estudios de doctorado y a la Fundación Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) por la beca de posgrado.

Referencias

- Abriouel, H., Franz, C.M.A.P., Omar, N.B. y Gálvez, A. 2011. Diversity and applications of *Bacillus* bacteriocins. *FEMS Microbiology Reviews*. 35(1):201-232.
- Alquicira, L. 2006. Determinación del mecanismo de resistencia a la acción inhibitoria de la bacteriocina producida por *Pediococcus parvulus* MXVK 133. Tesis de Maestría, Universidad Autónoma Metropolitana. México. 100 p.
- Ananou, S., Garriga, M., Jofré, A., Aymerich, T., Gálvez, A., Maqueda, M., Martínez-Bueno, M. y Valdivia, E. 2010. Combined effect of enterocin AS-48 and high hydrostatic pressure to control food-borne pathogens inoculated in low acid fermented sausages. *Meat Science*. 84(4):594-600.
- Aymerich, T., Garriga, M., Ylla, J., Vallier, J., Monfort, J.M. y Hugas, M. 2000. Application of enterocins as biopreservatives against *Listeria innocua* in meat products. *Journal of Food Protection*. 63:721-726.
- Badr, S., Karem, H.A., Hussein, H. y El-Hadedy, D. 2005. Characterization of nisin produced by *Lactococcus lactis*. *International Journal of Agriculture and Biology*. 7(3):499-503.
- Benech, R.O., Kheadr, E.E., Laridi, E., Lacroix, D. y Fliss, I. 2002. Inhibition of *Listeria innocua* in cheddar cheese by addition of nisin Z in liposomes or by in situ production in mixed culture. *Applied and Environmental Microbiology*. 68(8):3683-3690.
- Beshkova, D., Frengova, G. 2012. Bacteriocins from lactic acid bacteria: microorganisms of potential biotechnological importance for the dairy industry. *Engineering in Life Sciences*. 12(4):1-14.
- Cheigh, C-I. y Pyun, Y-R. 2005. Nisin biosynthesis and its properties. *Biomedical and Life Sciences*. 27(21):1641-1648.
- Chen, H. y Hoover, D.G. 2003. Bacteriocins and their food applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2:82-100.
- Chung, H-J. y Yousef, A.E. 2005. *Lactobacillus curvatus* produces a bacteriocin-like agent active against gram-negative pathogenic bacteria. *Food Science and Technology*. 25(614):59-79.
- Cintas, L.M., Casaus, M.P., Herranz, C., Nes, I.F. y Hernández, P.E. 2001. Review: bacteriocins of lactic acid bacteria. *Food Science Technology International*. 7(4):281- 305.
- Cleveland, J., Monteville, T.J., Nes, I.F. y Chikindas, M.L. 2001. Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *International Journal of Food Microbiology*. 71(1):1-20.
- Cotter, P.D., Hill, C. y Roos, R.P. 2005. Bacteriocins: developing innate immunity for food. *Nature Reviews Microbiology*. 3(10):777-788.
- Degnan, A.J., Buyong, N. y Luchansky, J.B. 1993. Antilisterial activity of pediocin AcH in model food systems in the presence of an emulsifier or encapsulated within liposomes. *International Journal of Food Microbiology*. 18(2):127-138.
- Delves-Broughton, J. 2005. Nisin as a food preservative. *Food Australia*. 57(12):525:527.
- De Vuyst, L. y Leroy, F. 2007. Bacteriocins from lactic acid bacteria: Production, purification, and food applications. *Journal of Molecular*

Microbiology and Biotechnology. 13:194-199.

- Dimov, S.G., Ivanova, P.M., Harizanova, N.T. y Ivanova, I.V. 2005. Bioactive peptides used by bacteria in the concurrence for the ecological niche: general classification and mode of action (overview). *Biotechnology and Biotechnological Equipment*. (2):3-22.
- Du, L., Somkuti, J., Renye, J. y Huo, G. 2011. Properties of durancin GI, a new antilisterial bacteriocin produced by *Enterococcus durans* 41D. *Journal of Food Safety*. 32: 74-83.
- Ekbal, M., Ibrahim, A. y Elbarbary, H.A. 2012. Effect of bacteriocin extracted from *Lactobacillus acidophilus* on the shelf-life of pasteurized milk. *Journal of American Science*. 8(2): 620-626.
- Ennahar, E., Sashihara, T., Sonomoto, K. y Ishizaki, A. 2000. Class IIa bacteriocins: biosynthesis, structure and activity. *FEMS Microbiology Reviews*. 24(1):85-106.
- FDA. 2012. Code of Federal Regulations (annual edition). Title 21-Food and Drugs. <http://www.gpo.gov/fdsys/browse/collectionCfr.action;jsessionid=PJygQQ3hC6bGHVcCxp1Dt2dh9ZbVn9JW3LlJ5qhnLXr7YpDhTw1R!-394132962!533076816?selectedYearFrom=2012&page.go=Go>, accesada 12/09/2012.
- Franchi, M., Tribst, A. y Cristianini, M. 2012. The effect of antimicrobials and bacteriocins on beer spoilage microorganisms. *International Food Research Journal*. 19(2):783-786.
- Garriga, M., Aymerich, M.T., Costa, S., Monfort, J.M. y Hugas, M. 2002. Bactericidal synergism through bacteriocins and high pressure in a meat model system during storage. *Food Microbiology*. 19(5):509-518.
- Gautam, N. y Sharma, N. 2009. Bacteriocin: safest approach to preserve food products. *Indian Journal Microbiology*. 49(3):204-211.
- Grande, M., Lucas, R., Abriouel, H., Valdivia, E., Nabil, B., Maqueda, M., Martínez-Bueno, M., Martínez-Cañamero, M. y Gálvez, A. 2006. Inhibition of toxicogenic *Bacillus cereus* in rice-based foods by enterocin AS-48. *International Journal of Food Microbiology*. 106:185-194.
- Grande, M., Abriouel, H., López, R., Valdivia, E., Nabil, B., Martínez-Cañamero, M. Y Gálvez, A. 2007. Efficacy of enterocin AS-48 against Bacilli in ready-to-eat vegetable soups and purees. *Journal of Food Protection*. 70:2339-2345.
- Guder, A., Wiedemann, I. y Sahl, H.G. 2000. Posttranslationally modified bacteriocins-the lantibiotics. *Biopolymers*. 55(1):62-73.
- Hassan, M., Kjos, M., Diep, D.B. y Lotfipour, F. 2012. Natural antimicrobial peptides from bacteria: characteristics and potential applications to fight against antibiotic resistance. *Journal of Applied Microbiology*. 1:1-14.
- Hu, H., Moake, M. y Worobo, R. 2006. Genetic characterization of antimicrobial peptides. En: Shetty, K., Paliyath, G., Pometto, A. y Levin, R.E. (Eds). *Food Biotechnology*. Segunda edición, CRC Press, Boca Raton, Florida. pp.1349-1478.
- Jack, R.W., Tagg, J.R. y Ray, B. 1995. Bacteriocins of gram-positive bacteria. *Microbiological Reviews*. 59(2):171-200.
- Jeevaratnam, K., Jamuna, M. y Bawa, A.S. 2005. Biological preservation of foods- bacteriocins of lactic acid bacteria. *Indian Journal of Biotechnology*. 4:446-454.
- Jenssen, H., Hamill, P. y Hancock, R.E.W. 2006. Peptide antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 19(3):491-511.
- Jin, T. 2010. Inactivation of *Listeria monocytogenes* in skim milk and egg white by antimicrobial bottle coating with polylactic acid and nisin. *Journal of Food Science*. 75(2): M83-M88.
- Katla, T., Moretro, T., Svein, I., Aasen, I., Axelsson, L., Rorvik, L. y Naterstad, K. 2002. Inhibition of *Listeria monocytogenes* in chicken cold cuts by addition of sakacina P and sakacin P- producing *Lactobacillus sakei*. *Journal Applied Microbiology*. 93(2):191-196.
- Liang, Z., Mittal, G.S. y Griffiths, M.W. 2002. Inactivation of *Salmonella* Typhimurium in orange juice containing antimicrobial agents by pulsed electric field. *Journal of Food*

Protection. 65(7):1081-1087.

- Liu, W. y Hansen, N. 1990. Some chemical and physical properties of nisin, a small-protein antibiotic produced by *Lactococcus lactis*. *Applied and Environmental Microbiology*. 56(8): 2551-2558.
- Loessner, M., Guenther, S., Steffan, S. y Scherer, S. 2003. A pediocin-producing *Lactobacillus plantarum* strain inhibits *Listeria monocytogenes* in a multispecies cheese surface microbial ripening consortium. *Applied and Environmental Microbiology*. 69(3):1854-1857.
- Maks, N., Zhu, L., Juneja, V. y Ravishankar, S. 2010. Sodium lactate, sodium diacetate and pediocin: effects and interactions on the thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* on bologna. *Food Microbiology*. 27:64-69.
- McAuliffe, O., Ross, R.P. y Hill, C. 2001. Lantibiotics: structure, biosynthesis and mode of action. *FEMS Microbiology Reviews*. 25(3):285-308.
- Montalbán-López, M., Sánchez-Hidalgo, M., Valdivia, E., Martínez-Bueno, M. y Maqueda, M. 2011. Are bacteriocins underexploited? novel applications for old antimicrobials. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 12(8):1205-1220.
- Morgan, S.M., Roos, R.P., Beresford, T. y Hill, C. 2000. Combination of hydrostatic pressure and lactacin 3147 causes increased killing of *Staphylococcus* and *Listeria*. *Journal of Applied Microbiology*. 88:414-420.
- Mota-Meira, M., LaPointe, G., Lacroix, C. y Lavoie, M.C. 2000. MICs of mutacin B-Ny266, nisina A, vancomycin, and ozacillin against bacterial pathogens. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 44(1): 24-29.
- Naidu, A.S., Unal, R. y Tulpinski, J. 2006. Bacteriocins: antimicrobial activity and applications. En: Shetty, K., Paliyath, G., Pometto, A. y Levin, R.E. (Eds). *Food Biotechnology*. Segunda edición, CRC Press, Boca Raton, Florida. pp. 1391-1437.
- Nes, I.F., Yoon, S-S. y Diep, D.B. 2007. Ribosomally synthesized antimicrobial peptides (bacteriocins) in lactic acid bacteria: a review. *Food Science Biotechnology*. 16(5):657-690.
- Nieto-Lozano, J., Reguera-Useros, J., Peláez-Martínez, M., Sacristán-Pérez-Minayo, G., Gutierrez-Fernández, A. y Hardisson de la Torre, A. 2010. The effect of the pediocin PA-1 produced by *Pediococcus acidilactici* against *Listeria monocytogenes* and *Clostridium perfringens* in Spanish dry-fermented sausages and frankfurters. *Food Control*. 21(5):679-685.
- Oppergård, C., Rogne, P., Emanuelsen, L., Kristiansen, P.E., Fimland, G. y Nissen-Meyer, J. 2007. The two-peptide class II bacteriocins: structure, production, and mode of action. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*. 13(4):210-219.
- Pathanibul, P., Taylor, T., Davidson, P. y Harte, F. 2009. Inactivation of *Escherichia coli* and *Listeria innocua* on apple and carrot juices using high pressure homogenization and nisin. *International Journal of Food Microbiology*. 129: 316-320.
- Pilet, M-F. y Leroi, F. 2011. Applications of protective cultures, bacteriocins and bacteriophages in fresh seafood and seafood products. In *Protective Cultures, Antimicrobial Metabolites and Bacteriophages for Food and Beverage Biopreservation*. 1:1-21.
- Quintero, B.S. 2006. Incorporación de la pediocina producida por *Pediococcus parvulus* MXVK133 en películas y recubrimientos comestibles. Tesis Doctoral, *Universidad Autónoma Metropolitana*. México. 111 p.
- Riley, M.A. y Wertz, J.E. 2002. Bacteriocins: evolution, ecology and application. *Annual Review of Microbiology*. 56:117-137.
- Rodgers, S. 2001. Preserving non-fermented refrigerated foods with microbial cultures-a review. *Trends in Food Science and Technology*. 12(8):276-284.
- Rodríguez, J.M., Martínez, M.I. y Kok, J. 2002. Pediocin PA-1, a wide-spectrum bacteriocin from lactic acid bacteria. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 42(2): 91-121.
- Saldaña, G., Minor-Pérez, H., Raso, J. y Álvarez, I.

2011. Combined effect of temperature, pH, and presence of nisin on inactivation of *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* by pulsed electric fields. *Foodborne Pathogens and Disease*. 8(7):797-802.
- Savadogo, A., Ouattara, A.T., Bassole, H.N. y Traore S.A. 2006. Bacteriocins and lactic acid bacteria - a minireview. *African Journal of Biotechnology*. 5(9):678-683.
- Settanni, L. y Corsetti, A. 2008. Application of bacteriocins in vegetable food biopreservation. *International Journal of Food Microbiology*. 121: 123-138.
- Stoyanova, L.G., Ustyugova, E.A. y Netrusov, A.I. 2012. Antibacterial metabolites of lactic acid bacteria: their diversity and properties. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 48(3):229-243.
- Suárez, G.A. 1997. Producción de anticuerpos frente a la nisina A: estrategias de inmunización y desarrollo de inmunoensayos. Tesis de Doctorado, *Universidad Complutense de Madrid*. España. 272 p.
- Šušková, J., Kos, B., Beganović, J., Leboš, A., Habjanič, K. y Matošić, S. 2010. Antimicrobial activity - the most important property of probiotic and starter lactic acid bacteria. *Food Technology and Biotechnology*. 48(3):296-307.
- Uhart, M., Ravishankar, S. y Marks, N.D. 2004. Control of *Listeria monocytogenes* with combined antimicrobials on beef franks stored at 4 degrees. *Journal of Food Protection*. 67(10):2296-2301.
- Villani, F., Salzano, G., Sorrentino, E., Pepe, O., Marino, P. y Coppola, S. 1993. Enterocin 226NWC, a bacteriocin produced by *Enterococcus faecalis* 226, active against *Listeria monocytogenes*. *The Journal of Applied Bacteriology*. 74:380-387.
- Wu, C.W., Yin, L.J. y Jiang, S.T. 2004. Purification and characterization of bacteriocins from *Pediococcus pentosaceus* ACCEL. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52:1146-1151.
- Ying, L-Y., Wu, C-W. y Jiang S-T. 2007. Biopreservative effect of pediocin ACCEL on refrigerates seafood. *Japanese Society of Fisheries Science*. 73:907-912.
- Zottola, E.A., Yezzi, T.L., Ajao, D.B. y Roberts R.F. 1994. Utilization of cheddar cheese containing nisin as an antimicrobial agent in other foods. *International Journal of Food Microbiology*. (1-2):227-238.
- Zouhir, A., Hammami, R., Fliss, I. y Hamida, J.B. 2010. A new structure-based classification of gram-positive bacteriocins. *Protein Journal*. 29(6):432-439.