

## Inocuidad y bioconservación de alimentos

Norma Margarita de la Fuente Salcido\* y José Eleazar Barboza Corona\*\*

### RESUMEN

La población está interesada en consumir alimentos libre de patógenos, con la menor cantidad de aditivos químicos, que sean sensorialmente aceptables, con un valor nutricional elevado y que representen una alternativa en la prevención de enfermedades. En este trabajo, se analiza la importancia que tiene la inocuidad de los alimentos en la salud de quién los consume y la bioconservación de los alimentos a través de proteínas de origen bacteriano conocidas como bacteriocinas. De manera particular, se analiza la bioconservación de productos derivados de la leche, de la carne, de origen marino y vegetal. Finalmente, se revisa la importancia que tiene el agua en la conservación de los alimentos y como la susceptibilidad de las bacterias a los agentes antimicrobianos puede incrementarse aplicando el concepto de tecnologías de barrera.

### ABSTRACT

People are interested in consuming free pathogen foods that contains low amount of chemical additives, with acceptable sensorial properties and nutritionally rich to represent an alternative to disease prevention. In this work, we analyzed not only the importance to consume innocuous food but also the different ways of food preservation through bacterial proteins called bacteriocins. In particular, the bio-preservation of dairy, meat, marine and vegetable products is reviewed. Finally, the importance of water in food preservation and the form to increment the bacterial susceptibility to antimicrobial agents applying the hurdle technology is discussed.

Recibido: 6 de Noviembre de 2009  
Aceptado: 22 de Febrero de 2010

### INTRODUCCIÓN

Dentro de la diversidad del asombroso metabolismo microbiano, existen bacterias capaces de sintetizar proteínas (bacteriocinas) a nivel ribosómico que pueden sufrir modificaciones post-traduccionales y tienen efecto antagónico hacia microorganismos con o sin relación filogenética. En los últimos diez años las bacteriocinas se han mantenido dentro del grupo de moléculas biológicas que captaron interés de diversos grupos de investigadores, cuyos trabajos se han dirigido principalmente a las siguientes áreas: a) Estudio de la diversidad de microorganismos que las sintetizan, b) Conocimiento de las etapas de su síntesis durante el crecimiento de la bacteria productora; c) Metodologías para su aislamiento, purificación y producción, d) Características biológicas, bioquímicas y genéticas.

De los puntos anteriores, una de las áreas más estudiadas es la relacionada con el conocimiento de su naturaleza química y genética debido a su potencial aplicación en diversas áreas del conocimiento tales como en la bioconservación de alimentos, en la medicina y en el cuidado del medio ambiente. Entre los microorganismos productores de bacteriocinas, las bacterias ácido lácticas (BAL) son las más ampliamente estudiadas. De las bacteriocinas sintetizadas por estas bacterias, la nisina es la única aplicada a nivel comercial, la cual se ha utilizado como bioconservador de alimentos en más de 50 países con una efectividad comprobada y además, es considerada como producto seguro con nivel GRAS ("Generally Recognized As Safe") y con autorización para su aplicación por la FDA ("Food and Drug Administration") (Chen y Hoover, 2003). La adición de bacteriocinas en los alimentos representa una excelente estrategia para el control de bacterias patógenas perjudiciales para la salud humana como son *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* y *Bacillus cereus*, entre otras.

#### Palabras clave:

Bioconservadores; Bacteriocinas; Tecnologías alternativas.

#### Keywords:

Biopreservatives; Bacteriocins, Alternative technologies.

\* Universidad Autónoma de Coahuila, Escuela de Ciencias Biológicas. Torreón, Coahuila, México 27440. Correo electrónico: normapdb322@hotmail.com

\*\* Departamento de Ingeniería de Alimentos, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato. Ex Hacienda "El Copal" carretera Irapuato - Silao, km. 9, Irapuato Gto. C.P. 36820, Tel. 462 624 52 15, Correo electrónico: josebar@dulcinea.ugto.mx

## INOCUIDAD

La inocuidad es uno de los cuatro grupos básicos de características que, junto con las nutricionales, las organolépticas y las comerciales, componen la calidad total de los alimentos. Un alimento inocuo es aquel que no ocasiona un daño o enfermedad a la persona que lo consume. Debido a la fuerte relación que existe entre la inocuidad y la salud de los consumidores, el obtenerla adquiere importancia fundamental e indiscutible (Figura 1). Los alimentos durante su obtención, preparación, manipulación, transporte, almacenamiento o consumo, y por causas provocadas no deliberadamente, sufren variaciones en sus características organolépticas o sensoriales (color, aroma, textura, sabor), composición química o valor nutritivo, de tal manera que su aceptabilidad para el consumo queda suprimida o sensiblemente disminuida, aunque puede sin embargo permanecer inocuo. Un alimento puede estar expuesto a diversos



Figura 1. Características de la calidad total de un alimento.

agentes y perder su inocuidad. Los agentes pueden ser físicos, químicos o biológicos, que al alterar el alimento pueden provocar un daño en la salud del consumidor ([www.sagpya.mecan.gov.ar/alimentos](http://www.sagpya.mecan.gov.ar/alimentos)). Entre los agentes físicos más alarmantes encontramos a la luz que promueve decoloraciones, oxidación de lípidos; además se pueden tener golpes y magulladuras por agentes mecánicos, por temperaturas extremas, modificaciones en el pH e inclusive la presencia de oxígeno. Con respecto a los agentes químicos, no podemos descartar la acción del oxígeno, que puede conducir a la desnaturalización de proteínas, al enranciamiento autooxidativo de lípidos o destrucción de vitaminas. También la presencia de metales pesados inactivan enzimas y son tóxicos a concentraciones altas o inducen la oxidación, e inclusive un agente químico puede llegar a considerar a algunos compuestos químicos adicionados incorrectamente que se aplican paradójicamente con la finalidad de conservar el alimento y ampliar su vida de anaquel o tiempo que permanece con calidad aceptable antes de consumirse. Los agentes biológicos pueden provocar la degradación de los nutrientes, productos de desecho pues se consideran un vehículo de enfermedades para el hombre por los insectos, parásitos y microorganismos que puedan estar presentes ya sea como agentes zoonóticos como *Brucella* u otros patógenos (Figura 2). Por otro lado, los agentes microbiológicos y las enfermedades de transmisión alimentaria que provocan los alimentos contaminados con algún microorganismo son un problema de salud pública cada vez mayor en varios países incluyendo México. Durante los últimos años se han registrado aumentos significativos de la incidencia de enfermedades provocadas por microorganismos transmitidos por los alimentos, tales como como *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. Aunado a lo anterior, en la cadena alimentaria han surgido graves peligros microbiológicos que incluyen la presencia de bacterias muy agresivas como *Escherichia coli* enterohemorrágica o de partículas infecciosas de naturaleza proteica (priones) que ocasionan las enfermedades neurodegenerativas transmisibles conocidas como encefalopatías espongiiforme (Málaga-Trillo y Solís, 2006).

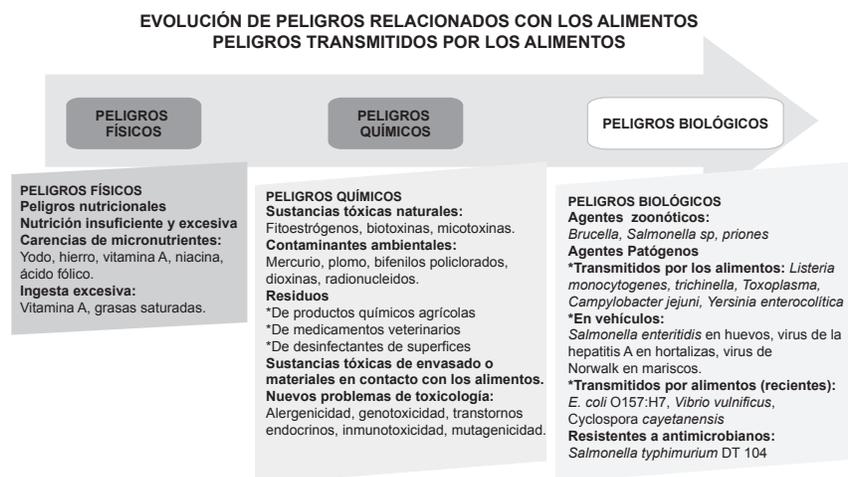


Figura 2. Los agentes físicos, químicos y biológicos pueden ocasionar un efecto deletéreo a los alimentos, los cuales una vez afectados representan riesgos a la salud de los consumidores. En la figura se muestran ejemplos de los diferentes agentes que dañan a los alimentos así como algunas de las consecuencias que ocasionan.

Un alimento puede estar expuesto a diversos peligros y consecuentemente perder inocuidad por múltiples agentes físicos, químicos o microbiológicos, los cuales potencialmente pueden provocar un daño en la salud del consumidor. A pesar del desarrollo de novedosas y sofisticadas tecnologías para obtener alimentos más seguros, persisten los riesgos microbiológicos, representados principalmente por las enfermedades transmitidas por alimentos. Éstas siguen siendo una de las razones por lo que los productores buscan alternativas de conservación de la calidad microbiológica de los alimentos que permitan asegurar alimentos inocuos y sin deterioro de sus propiedades nutritivas. Una de las alternativas modernas que pueden contribuir significativamente a lograr la inocuidad de los alimentos a través de la reducción de los agentes microbiológicos y minimizar la proliferación de las enfermedades transmitidas por los alimentos contaminados, y por ende coadyuvar en la preservación de la salud humana es la Bioconservación, considerada como un enfoque ecológico para mejorar la seguridad y alargar la vida de anaquel de los alimentos (Ananou y col., 2007).

## BIOCONSERVACIÓN

La bioconservación puede ser definida como la extensión de la vida de anaquel y seguridad de un alimento a través del uso de microbiota natural o controlada y/o sus compuestos antimicrobianos (Stiles, 1996). En la bioconservación de alimentos se incluyen desde técnicas utilizadas para obtener alimentos más seguros hasta la generación de alimentos mínimamente procesados y sin aditivos. Por lo anterior, la bioconservación ha tomado un gran auge basándose en el efecto de los llamados bioconservadores que aumentan la vida útil e incrementan la seguridad de los alimentos ([www.madrimasd.org/biotecnologia](http://www.madrimasd.org/biotecnologia)). La implementación de tecnologías modernas en el procesamiento y aseguramiento de la seguridad microbiológica de los alimentos han disminuído pero no eliminado los riesgos de las enfermedades relacionadas con el consumo de alimentos contaminados con microorganismos. En Europa la morbilidad relacionada con alimentos contaminados es la segunda causa de muerte sólo superada por enfermedades respiratorias, estimándose de 50 000 a 300 000 casos de gastroenteritis aguda por cada millón de personas al año (Luchansky, 1999). En el 7º reporte del programa de sobrevivencia (1993-1998) de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para el control de infecciones e intoxicaciones alimentarias, se reportaron

5 517 brotes por alimentos contaminados en España que ocasionaron la infección de 69 553 personas de las cuales 6 820 fueron hospitalizadas (Schmidt y Tirado, 2001). En Estados Unidos la gastroenteritis aguda afecta de 250 a 350 millones de personas anualmente y se estima que del 22 % al 30 % de estos casos están relacionados con muertes originadas por consumo de alimentos contaminados, principalmente pollo, huevo, mariscos y lácteos (Mead y col., 1999). De acuerdo a datos reportados por Centros para la Prevención y Control de Enfermedades Infecciosas se ha estimado que una de cada cuatro personas en los Estados Unidos han experimentado anualmente alguna enfermedad por alimentos contaminados. Las bacterias patógenas encontradas en la mayoría de estos casos fueron: *Salmonella* spp, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Clostridium botulinum* (McCabe-Sellers y Beattie, 2004). Además de los microorganismos anteriores, el Servicio de Salud Pública de los Estados Unidos ha identificado a *Shigella*, *Vibrio vulnificus*, *Yersinia enterocolitica* y *Toxoplasma gondii* como los principales microorganismos causantes de enfermedades transmitidas por alimentos, ya sea por la severidad de la enfermedad o por el número de casos que produce ([www.cfsan.fda.gov](http://www.cfsan.fda.gov)) (Tabla 1). De igual forma, la Secretaría de Salud en México ha reportado que bacterias, protozoarios y virus son transmitidos por alimentos y son responsables de enfermedades como el cólera, fiebre tifoidea, shigelosis, brucelosis, salmonelosis, amebiasis, giardiasis, cisticercosis, teniasis, hepatitis viral A, entre otras. Sin embargo, el mayor porcentaje de casos detectados correspondió a la amebiasis intestinal con un 22 %, aunque lamentablemente el mayor porcentaje (71 %) se lo adjudicaron infecciones intestinales cuyo agente etiológico no fue identificado (Flores-Luna y Vélez-Méndez, 2002). De manera particular, en el estado de Guanajuato, México, la Secretaría de Salud reportó durante los años 2003 y 2004 un total de 8 939 casos de paratifoidea y otras salmonelosis, los cuales probablemente pudieron tener como fuente de contaminación directa a los alimentos ([www.guanajuato.gob.mx](http://www.guanajuato.gob.mx)).

Una aproximación en la investigación para mejorar la seguridad en los alimentos se enfoca en la búsqueda de nuevos conservadores químicos o en la aplicación de tratamientos físicos más drásticos (altas temperaturas); sin embargo, este tipo de soluciones muestran muchas desventajas como la toxicidad de los conservadores químicos comunes (nitritos),

Tabla 1.

Principales microorganismos causantes de enfermedades transmitidas por alimentos con base a la severidad de la enfermedad o por el número de casos que produce.

Microorganismo patógeno	Efecto y origen
<i>Campylobacter jejuni</i>	Causa más común de diarrea. Origen: Carnes y pollos crudos o mal cocinados, leche cruda y agua sin tratamiento.
<i>Clostridium botulinum</i>	Produce el botulismo, que es caracterizado por parálisis muscular. Origen: Alimentos preparados en el hogar y aceite de hierbas.
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	Puede producir una toxina mortal. Origen: carnes mal cocidas, leche cruda y productos agrícolas.
<i>Listeria monocytogenes</i>	Causa listeriosis, una enfermedad grave en mujeres embarazadas, recién nacidos y adultos con un sistema inmune débil. Origen: suelo y agua. Se ha encontrado en productos lácteos carne cruda y mal cocida, en pollos y productos del mar frescos o en conserva.
<i>Salmonella</i>	Es la segunda causa más común de enfermedades transmitidas por alimentos. Es responsable de millones de casos al año de enfermedades transmitidas por alimentos; Origen: huevos crudos y mal cocidos, pollos y carnes mal cocidas, productos lácteos, mariscos, frutas y vegetales.
<i>Staphylococcus aureus</i>	Produce una toxina que causa vómitos al poco tiempo de ser ingerida. Origen: alimentos cocinados con alto contenido en proteínas (jamón cocido, ensaladas, pasteles, lácteos).
<i>Shigella</i>	Ocasiona alrededor de 300 000 casos de enfermedades diarreicas. La falta de higiene hace que <i>Shigella</i> sea fácilmente transmitida de persona en persona. Origen: ensaladas, leche, productos lácteos y agua sucia.
<i>Vibrio vulnificus</i>	Causa gastroenteritis (síndrome de septicemia primaria). Las personas con enfermedades en el hígado son de alto riesgo. Origen: mariscos crudos o mal cocidos.
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Causa yersiniosis, una enfermedad caracterizada por diarrea y/o vómitos Origen: cerdo, productos lácteos y agrícolas.
<i>Toxoplasma gondii</i>	Parásito que causa toxoplasmosis, una enfermedad muy severa que puede producir desórdenes del sistema nervioso central, particularmente retardo mental y deterioro visual en niños. Origen: carnes, principalmente de cerdo.

\* Datos reportados por el Servicio de Salud Pública de los Estados Unidos (<http://www.cfsan.fda.gov/~moinro.html>).

la alteración de las propiedades organolépticas y nutricionales de los alimentos, y especialmente contra las nuevas tendencias de compra y consumo de los clientes que demandan alimentos más seguros pero a la vez mínimamente procesados y sin aditivos. La conservación de alimentos es una condición de seguridad que a través del tiempo permanece y no cambiará para los humanos. El secado, el salado y la fermentación han sido los métodos tradicionales de conservación, hasta que aparecieron posteriormente el enlatado y la congelación antes de la época Napoleónica y la década de los 20s, respectivamente. En las sociedades desarrolladas, la conservación de alimentos se ha considerado como una "conveniencia" (o comodidad) de un eficiente sistema de alimentos y consideran que la conservación de alimentos es la clave para asegurar la disponibilidad de alimentos como un beneficio vital. La fermentación de alimentos se desarrolló más por defecto que por diseño, debido a que los alimentos que se contaminaban durante el almacenamiento y se consideraban aceptables para consumo fueron la base para el desarrollo de los alimentos fermentados. Actualmente las bacterias ácido lácticas

(BAL) desempeñan un papel muy importante en los alimentos fermentados ya que les confieren el sabor característico y ejercen un efecto de conservación en los productos fermentados. Se ha estimado que los productos alimenticios fermentados comprenden un 25 % de la dieta en los Europeos y hasta un 60 % de la dieta en países desarrollados (Holzapfel y col., 1995). Para conciliar las demandas de los consumidores con los estándares de seguridad necesarios, se ha empezado a sustituir los métodos tradicionales para controlar la descomposición y los microorganismos patógenos en los alimentos a partir de las combinaciones de tecnologías innovadoras que incluyen sistemas biológicos antimicrobianos como las bacterias ácido lácticas (BAL) y/o sus bacteriocinas. El uso de BAL o sus bacteriocinas ya sea aisladas o en combinación con tratamientos fisicoquímicos suaves o bien, con bajas concentraciones de conservadores químicos naturales o tradicionales, representan una alternativa eficiente para alargar la vida de anaquel y al mismo tiempo incrementar la seguridad de los alimentos a través de la inhibición de bacterias saprófitas y patógenas presentes, pero sin alterar las cualidades nutricionales y sensoriales tanto de materias primas como de los productos alimenticios. En las últimas dos décadas se ha incrementado notablemente la investigación sobre las cepas BAL, sus productos antimicrobianos (bacteriocinas) y sus posibles aplicaciones en la bioconservación de alimentos, dando un nuevo giro a la conservación de alimentos a partir del empleo de productos naturales.

## BIOCONSERVACIÓN DE PRODUCTOS LÁCTEOS

Los principales patógenos relacionados con la industria de productos

lácteos son: *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, sin embargo, el principal microorganismo causante del deterioro en quesos como el Kasserli, Emmentaler, Gruyère, Grana, Edam, Gouda es *Clostridium tyrobutyricum* (De Buyser y col., 2001). Además, *L. monocytogenes* también es la causante de brotes de listeriosis asociados con el consumo de leche pasteurizada y quesos. La bacteriocina nisina en su presentación comercial (Nisaplin®) ha demostrado ser efectiva en el control de *C. tyrobutyricum* (Fleming y col., 1985). En el procesado de elaboración de quesos y sus productos como el queso suave, rebanado, dips y salsas de queso, la nisina se aplica para evitar el desarrollo de microbios esporulados y productores de gas como los clostridios, incluso *C. botulinum*, además de controlar otros contaminantes comunes después del procesado como *L. monocytogenes*. Esta bacteriocina también se ha utilizado en otros productos lácteos pasteurizados como postres frescos y leches saborizadas, crema o leches evaporadas (Thomas y Delves-Broughton, 2001). En cremas, la nisina (incluso a bajas concentraciones) inhibe el crecimiento de *Bacillus cereus* durante su almacenamiento (Nissen y col., 2001). La vida de anaquel de quesos pasteurizados adicionados con 301 UI/gr y 387 UI/gr de nisina en proceso es mucho mayor que la de quesos donde se aplicó la nisina después del proceso. En quesos para untar empacados en frío, 100 UI/gr y 300 UI/gr de nisina reducen significativamente las cuentas microbianas de *L. monocytogenes*, *S. aureus*, y esporas de *C. sporogenes* (Zottola y col., 1994). Adicionar nisina en leche esta permitido en ciertos países para evitar la descomposición en tiempos de mucho calor, durante el transporte a largas distancias o en sistemas refrigeración inadecuada (Thomas y Delves-Broughton, 2001). En leche descremada, suero o leche ultrafiltrada, se ha combinado la nisina con campos de pulsos eléctricos para inhibir diversos microbios como *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *B. cereus*, y *E. coli* (Sobrino-López y Belloso, 2006). Otra bacteriocina de amplio espectro y de dos componentes la lactacina 314, producida por *L. lactis* subsp. *Lactis* DPC 3147, se utiliza en el control de calidad de queso cheddar para reducir poblaciones de cepas no ácido lácticas durante el proceso de maduración (Ross y col., 1999). Además de lo anterior, existen diversas publicaciones relacionadas con el control de microorganismos patógenos presentes en productos lácteos en los cuales pueden aplicarse otras bacteriocinas enterococicas. Por ejemplo, las bacteriocinas de *E. faecium* DPC1146 inhiben a *L. monocytogenes* en leche (Parente y Hill, 1992), la enterocina CCM 4231 reduce las cuentas viables de *S.*

*aureus* SA1 en leche descremada y leche para formulas infantiles y yogurt (Lauková y col., 1999). La enterocina 226 NWC producida por *E. faecalis* 226, inhibe a *L. monocytogenes* por co-cultivo a 30° C en la leche descremada (Villani y col., 1993). La enterocina A producida por *E. faecium* DPC 1146 se produce durante la manufactura de queso cheddar (Foulquié-Moreno y col., 2003). Enterocinas A, B, y P producidas por *E. faecium* RZS C5 en la manufactura de queso cheddar presentan actividad anti-listeria por co-cultivo (Leroy y col., 2003).

### BIOCONSERVACIÓN DE PRODUCTOS CÁRNICOS

Los productos cárnicos dependiendo de sus condiciones de almacenamiento representan un excelente medio para el crecimiento microbiano, aún en refrigeración llegan a crecer bacterias gram-negativas aerobias como *Pseudomonas*, BAL anaerobias como *Carnobacterium*, *Lactobacillus* y *Leuconostoc*, incluso bacterias tolerantes al CO<sub>2</sub>, como los lactobacilos principalmente *Lactobacillus sakei* y *L. curvatus*, *Leuconostoc carnosum*, *L. gasicomitatum*, *L. mesenteroides*, *Weissella* spp. y *Carnobacterium* spp. Estos microorganismos representan la causa principal de deterioro en productos cárnicos provocando acidez, decoloración, producción de gas, formación de baba y cambios de pH (Chenoll y col., 2007). Adicionalmente, *Brochothrix thermosphacta* es un microorganismo cuyo crecimiento se favorece selectivamente en las temperaturas de refrigeración, razón por la cual es frecuentemente señalado como responsable de la descomposición de alimentos. A pesar de que no se ha comprobado su patogenicidad, se encuentra estrechamente relacionado con géneros como *Lactobacillus* y *Listeria* predominantemente en la descomposición de carnes crudas refrigeradas y productos cárnicos procesados y almacenados en condiciones de atmósferas modificadas (Masana y Baranyi, 2000). Al desarrollarse esta bacteria en cárnicos, produce olores característicos de los productos fermentados (Gram y col., 2002). Es importante comentar que bajo ciertas condiciones pueden desarrollarse patógenos como *E. coli* enterohemorrágica y *L. monocytogenes*. Esta última, tiene capacidad de crecer en refrigeración bajo ciertas condiciones de anaerobiosis y está implicada en brotes por alimentos contaminados (Ryser y Marth, 1999). La bacteriocina más empleada para bioconservar estos productos y protegerlos de *L. monocytogenes* es la nisina en concentraciones de 400 UI/gr a 800 UI/gr, o bien combinada con 2 % de NaCl (Pawar y col., 2000); sin embargo, al bajar las temperaturas de refrigeración, la efectividad de la nisina es baja. También se ha evalua-

do la actividad anti-listeria de la nisina A y la pediocina AcH en carne de cerdo cruda, considerando a la nisina A más efectiva (Murray y Richard, 1997). Una cepa productora de pediocina se adicionó a embutidos y redujo el número de bacterias patógenas unas 10 000 veces comparado con embutidos no tratados, permaneciendo activa después de dos meses en refrigeración. Otro ejemplo es la bacteriocina piscicolina, la cual ha sido patentada para su probable aplicación en productos cárnicos y como desinfectante para lavar ensaladas verdes (Raloff, 1998). En carne de cerdo picada y paté de hígado de cerdo, jamón y pechuga de pollo, la adición de enterocinas A y B muestran elevados efectos anti-listeria (Aymerich y col., 2000). En jamón horneado se aplica una mezcla modelo de varias bacteriocinas: enterocinas A y B, sakacina K, pediocina AcH o nisina, y se demuestra que actúan sinérgicamente en combinación con alta presión hidrostática para reducir o inhibir bacterias (Garriga y col., 2002). La leucocina A se ha empleado para evitar el deterioro de carne empacada al vacío causado por *L. sakei*. La leucocina 410 responde satisfactoriamente ante la inhibición de *L. monocytogenes* en productos cárnicos en rebanadas. En la carne de puerco empacada al vacío, se aplica una combinación de nisina y lisozima muy efectiva para inhibir *B. thermosphacta* y bacterias ácido lácticas (Jacobsen y col., 2003; Natress y Baker, 2003).

#### BIOCONSERVACIÓN DE PRODUCTOS MARINOS

En los productos marinos preservados con bajos niveles de sales como el NaCl, ligera acidificación y empacados al vacío y en refrigeración (pescado ahumado), la microflora contaminante está compuesta de BAL, principalmente *Lactobacillus* y *Carnobacterium* y gram-negativos como *Photobacterium phosphoreum* y psicrófilos como *Enterobacteriaceae*. Algunas bacterias como *L. sakei*, *B. thermosphacta*, *Serratia liquefaciens*, y *P. phosphoreum* causan olores desagradables y pueden ocasionar descomposición en productos marinos ahumados empacados al vacío (Stohr y col., 2001). Además, *L. monocytogenes* se ha convertido en un patógeno importante en la industria de los mariscos, el cual se ha tratado de controlar con la nisina, aunque su aplicación en cantidades que van de 500 UI/g hasta 1 000 UI/g (por ejemplo en salmón ahumado) solo retrasa, pero no reduce su crecimiento (Nilsson y col., 2004). En productos de sardina contaminados ha sido efectivo el uso combinado de nisina y el sistema lactoperoxidasa (Elotmani y Assobhei, 2004). También se probaron la nisina Z, la carnocina UI49 y bavaricina

A para extender la vida de anaquel de los langostinos; la carnocina no surtió efecto comparada con un control (10 días), la bavaricina A aumentó la vida de anaquel en 16 días y la nisina Z en 31 días. Cepas de *C. piscicola* A9 productora de la carnobacteriocina B2 y *C. piscicola* CS526 productora de piscicolina CS526 se adicionaron en jugo de salmón y salmón ahumado, mostrando un efecto anti-listeria (Nilsson y col., 2004; Yamazaki y col., 2003).

#### BIOCONSERVACIÓN DE PRODUCTOS VEGETALES Y BEBIDAS

Los microorganismos contaminantes predominantes en vegetales capaces de causar enfermedades son *C. botulinum*, *B. cereus* y *L. monocytogenes*, puesto que se encuentran en la mayoría de los suelos, además *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli* y *Campylobacter* pueden llegar a contaminar las frutas y vegetales a través de desechos fecales, aguas residuales, agua de irrigación contaminada o agua superficial (Cliver, 1997). Varios casos de listeriosis se han asociado con vegetales frescos como apio, tomates y lechuga (Beuchat, 1996). Una alternativa para evitar microorganismos en vegetales es la aplicación de nisina que reduce significativamente los niveles de *L. monocytogenes* en ejotes en refrigeración (Cai y col., 1997). La mundticina producida por *Enterococcus mundtii* inhibe a *L. monocytogenes* en vegetales mínimamente procesados, pero no en ejotes frescos (Bennik y col., 1999). La nisina y la pediocina individualmente o en combinación con lactato de sodio, sorbato de potasio, ácido pítico y ácido cítrico se han probado en tratamientos de sanitización para reducir niveles de *L. monocytogenes* en brócoli, repollo y frijol germinado. La enterocina AS-48 puede ser de mucha utilidad en la desinfección de vegetales crudos, causando una fuerte inhibición de *S. aureus* y la total inactivación de *L. monocytogenes* y *B. cereus* en lechugas. En jugos y bebidas de frutas, la nisina previene la descomposición causada por *Alicyclobacillus acidoterrestris*. Este microorganismo también se inhibe totalmente por la enterocina AS-48 (Grande y col., 2005). La nisina y enterocina AS-48 son capaces de inactivar endosporas de *A. acidoterrestris* (Grande y col., 2005).

#### IMPORTANCIA DEL AGUA EN LA CONSERVACIÓN DE ALIMENTOS

Otro factor esencial para la proliferación de los microorganismos es la presencia de agua en forma disponible para realizar sus funciones metabólicas, y su disponibilidad está determinada por la medida de la

actividad de agua ( $a_w$ ). En un alimento la  $a_w$  se puede reducir aumentando la concentración de solutos en la fase acuosa o mediante la adición de solutos y al quedar el agua en forma menos reactiva se puede limitar el crecimiento de microorganismos indeseables o patógenos. Los distintos grupos de alimentos presentan  $a_w$  característicos, por ejemplo las carnes y pescados frescos, las frutas, hortalizas y verduras frescas, la leche, las hortalizas en salmuera enlatadas presentan valores de  $a_w$  entre 0,98 o superior. Las leches evaporadas, concentrado de tomate o productos cárnicos y marinos ligeramente salados tienen un  $a_w$  entre 0,93 y 0,98. De igual forma, los embutidos fermentados y madurados, el queso Cheddar salado, el jamón tipo serrano, la leche condensada azucarada muestran un  $a_w$  entre 0,85 y 0,93, mientras que los alimentos de humedad intermedia, las frutas secas, la harina, los cereales, las confituras y mermeladas tienen un  $a_w$  entre 0,60 y 0,85, lo cual restringe el crecimiento de la mayoría de microorganismos solo a microorganismos xerófilos, osmófilos o halófilos. Finalmente, se ha reportado que la reproducción microbiana no se realiza a valores debajo de una  $a_w$  de 0,60, pero los microorganismos pueden permanecer vivos durante largos períodos de tiempo en alimentos como los dulces, el chocolate, la miel, los fideos, las galletas, las verduras secas, huevos y leche en polvo. Tomando como lo anterior, diversos métodos tradicionales de conservación de alimentos utilizan la deshidratación que se basa en la reducción de la  $a_w$  (lo que se consigue eliminando el agua de los productos). También el agregado de solutos descende la  $a_w$  lo cual se da durante el curado y salado, así como en el almíbar y otros alimentos azucarados (Badui-Dergal, 1993).

## TECNOLOGÍAS DE BARRERA

La susceptibilidad de los microbios a los agentes antimicrobianos puede incrementarse o mejorarse si aplicamos el concepto de barrera, el cual establece que dos o más agentes antimicrobianos en niveles sub-óptimos pueden actuar mejor sinérgicamente que cada uno por separado aún niveles óptimos (Leitsner, 2002). Las células sub-letalmente tratadas por diferentes condiciones de estrés, pueden llegar a ser sensibles a diversos agentes físicos y químicos, a los cuales bajo condiciones normales presentan resistencia. Diversas investigaciones han tratado de vencer las barreras de penetración en bacterias Gram-negativas para sensibilizarlas al efecto de las bacteriocinas a través de métodos físicos, químicos o genéticos. Por ejemplo, la *Salmonella* y otras 22 bacterias Gram-ne-

gativas se han sensibilizado a la nisina y a otras bacteriocinas después de exponerlas a tratamientos que modifican su permeabilidad en la membrana externa como la combinación de tratamientos físicos con presión hidrostática, calentamiento, congelación y secado. También se han combinado tratamientos químicos adicionando ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) o etil maltol (Stevens y col., 1991; Schved y col., 1996).

El referido "efecto barrera" es de fundamental importancia para la conservación de alimentos dado que las barreras en un producto estable controlan los procesos de deterioro, intoxicación y fermentación no deseados. Además, el concepto de barrera ilustra el hecho de que las complejas interacciones entre temperatura, actividad de agua ( $a_w$ ), pH, potencial redox, etc., son significativas para la estabilidad microbiana de los alimentos. La tecnología de barreras o tecnología de obstáculos o métodos combinados permite mejoras en la seguridad, calidad y en las propiedades económicas de los alimentos, por ejemplo, cuánta agua en un producto es compatible con su estabilidad, mediante una combinación inteligente de barreras que aseguran la estabilidad y seguridad microbiológica, así como propiedades nutritivas y económicas satisfactorias.

Las tecnologías de barrera cada día avanzan en su aplicación para el diseño de alimentos, tanto en los países industrializados como en los países en desarrollo, con varios objetivos de acuerdo a cada necesidad (Alzamora y col., 1998), por ejemplo, en las distintas etapas de la cadena de distribución, durante el almacenamiento, procesamiento y/o envasado, como una medida de soporte en los productos mínimamente procesados de corta vida útil para disminuir el riesgo de contener patógenos y/o aumentar su vida de anaquel a través del uso de agentes antimicrobianos y la reducción de la actividad de agua ( $a_w$ ) y pH, además de la refrigeración. También son una herramienta para mejorar la calidad de productos de larga vida de anaquel sin disminuir su estabilidad microbiológica, como se observa en el uso de coadyuvantes al calor para reducir la severidad de los tratamientos térmicos en los procesos de esterilización. Además, son novedosas técnicas de conservación para obtener alimentos nuevos, por ejemplo combinando innovadoramente los factores de conservación.

En los países industrializados, el concepto de barrera se dirige principalmente al desarrollo de una gran variedad de alimentos con procesamiento térmico suave y distribuido en forma refrigerada o congelada. Las aplicaciones típicas son para desinfección

de materias primas (carne, frutas, hortalizas), para carnes fermentadas como los jamones crudos, los embutidos crudos fermentados y para carnes con tratamiento térmico suave (productos «listos para consumir»), en frutas y hortalizas frescas troceadas, en alimentos empacados al vacío y cocidos-refrigerados. También se aplican en alimentos de bajo contenido calórico, bajos en grasas y sales, así como también en alimentos funcionales. El efecto barrera se utiliza en alimentos procesados por las técnicas emergentes que incluyen altas presiones hidrostáticas, pulsos eléctricos de alto voltaje, radiación ultravioleta, etc., o como tecnología “invisible” que incorpora barreras adicionales que doblemente aseguran la calidad de alimentos refrigerados expuestos a abusos de temperatura. En muchos países en desarrollo, el enfoque del efecto barrera se aplica en el desarrollo de alimentos estables a temperatura ambiente, con requerimientos de equipamiento y de infraestructura mínimos, tanto para el procesamiento como para la distribución y el almacenamiento (Leitsner y Gould, 2002). Comúnmente se aplica en alimentos con baja  $a_w$  como la deshidratación parcial o por agregar sales o azúcares combinadas con acidificación y antimicrobianos, en alimentos fermentados, en alimentos con bajo pH y antimicrobianos naturales y en alimentos envasados con exclusión de oxígeno ya sea envasados al vacío o cubiertos con una capa de aceite.

## CONCLUSIONES

Tradicionalmente se consideraba que los alimentos para consumo humano únicamente servían como una fuente de energía. Sin embargo, con los avances que se han tenido en la nutrición y en el desarrollo de productos novedosos funcionales, se ha observado que es posible para los consumidores no solamente seleccionar alimentos que satisfagan su paladar sino que también contribuyan a mejorar su salud. Lo anterior nos muestra un fenómeno en la sociedad que demanda alimentos frescos, seguros desde el punto de vista de la inocuidad, sensorialmente agradables, fáciles de preparar, en muchas ocasiones bajos en calorías, con ventajas nutricionales, con disponibilidad en cualquier época del año y por si no fuera suficiente, preferentemente con precios accesibles. Estos cambios radicales en los hábitos alimenticios de los consumidores que son acordes al estilo de vida moderno han convertido en un gran desafío el satisfacer las necesidades alimenticias, pero se vuelve un mayor reto cuando la mayoría de la población solicita consu-

mir alimentos que estén libres de pesticidas (alimentos orgánicos) o que contengan menos aditivos químicos como los conservadores. El uso de compuestos de naturaleza proteica, con propiedades antimicrobianas puede representar una excelente alternativa para satisfacer las demandas de este segmento de la población que se incrementa día con día. Lamentablemente sólo existe una bacteriocina de uso comercial, la nisina, la cual probablemente ha tenido gran éxito en parte por la gran cantidad de estudios que se hicieron desde su descubrimiento en 1928 hasta su empleo en alimentos en la década de los 50, donde se demostró que es segura para consumo humano. Sin embargo, la Nisina presenta como desventaja su rango de actividad limitado a las bacterias Gram-positivas, lo cual representa una buena oportunidad para que otras bacteriocinas recientemente descubiertas, y que tienen actividad contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, puedan tener un uso comercial. Consideramos que en los próximos años deberán introducirse al mercado nuevas bacteriocinas de las cuales se ha demostrado sus extraordinarias propiedades antimicrobianas y pueden ser empleadas de forma segura y natural como bioconservadores bajo diferentes condiciones, y coadyuvar en la preservación de alimentos con una amplia demanda como son los derivados lácteos y productos cárnicos.

## REFERENCIAS

- Alzamora SM, Tapia MS, Welte-Chanes J (1998) New strategies for minimal processing of foods: the role of multi-target preservation. *Food Science and Technology International* 4: 353-361.
- Ananou S, Ananou S, Maqueda M, Martínez-Bueno M, Valdivia E (2007) *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology* A. Méndez-Vilas, Editorial. (p- 476).
- Aymerich MT, Garriga M, Ylla J, Vallier J, Monfort JM, Hugas M (2000) Application of enterocins as biopreservatives against *Listeria innocua* in meat products. *Journal of Food Protection* 63: 721-726.
- Badui-Dergal S (1993) *Química de Alimentos* (p. 28-32). Pearson Education. México.
- Bennik MHJ, van Overbeek W, Smid EJ, Gorris LGM (1999) Biopreservation in modified atmosphere stored mungbean sprouts: the use of vegetable-associated bacteriocinogenic lactic acid bacteria to control the growth of *Listeria monocytogenes*. *Letters Applied Microbiology* 28: 226-232.
- Beuchat LR. (1996) *Listeria monocytogenes*: Incidence on vegetables. *Food Control* 7: 223-228.
- Cai Y, Ng LK, Farber JM (1997) Isolation and characterization of nisin-producing *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* from bean sprouts. *Journal of Applied Microbiology* 83: 499-507.

- Chen H, Hoover DG (2003). Bacteriocins and their Food Applications. *Comprehensive reviews in Food Science and food safety* 2: 82-100.
- Chenoll E., Macian MC, Elizaquivel P, Aznar R (2007). Lactic acid bacteria associated with vacuum-packaged cooked-meat product spoilage: population analysis by rDNA-based methods. *Journal of Applied Microbiology* 102: 498-508.
- Cliver DO (1997). Foodborne viruses. In: Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ (ed.) *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers* (p. 437-446). Washington, D.C., American Society De Buyser ML, Dufour B, Maire M, Lafarge V (2001) Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialized countries. *International Journal of Food Microbiology* 67: 1-17.
- Elotmani F, Assobhei O (2004). In vitro inhibition of microbial flora of fish by nisin and lactoperoxidase system. *Letters in Applied Microbiology* 38: 60-65.
- Fleming DW, Cochi SL, MacDonald KL, Brondum J, Hayes PS, Plikaytis BD, Holmes MB, Audurier A, Broome CV, Reingold AL (1985). Pasteurized milk as a vehicle of infection in an outbreak of listeriosis. *New England Journal Medical* 312: 404-7.
- Flores-Luna, JL, Vélez-Méndez A (2002). Comunicación y participación, la experiencia de México, versión 2. En *Foro Mundial FAO/OMS. De autoridades sobre inocuidad de los alimentos*. Marruecos, 28-30 de Enero.
- Foulquié-Moreno MR, Rea MM, Cogan TM, De Vuyst L (2003). Applicability of bacteriocin-producing *Enterococcus faecium* as a co-culture in a Cheddar cheese manufacture. *International Journal of Food Microbiology* 81: 73-84.
- Garriga M, Aymerich MT, Costa S, Monfort JM, Hugas M (2002). Bactericidal synergism through bacteriocins and high pressure in a meat model system during storage. *Food Microbiology* 19: 509-518.
- Grande MJ, Lucas R, Abriouel H, Ben Omar N, Maqueda M, Martínez-Bueno M, Martínez-Cañamero M, Valdivia E, Gálvez A (2005). Control of *Alicyclobacillus acidoterrestris* in fruit juices by enterocin AS-48. *International Journal of Food Microbiology* 104: 289-297.
- Gram L, Ravn L, Rasch M, Bruhn JB, Christensen AB, Givskov M (2002). Food spoilage-interactions between food spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology* 78: 79-97.
- Holzappel WH, Geisen R, Schillinger U (1995). Biological preservation of foods with reference to protective cultures bacteriocins and food grade enzymes. *International Journal of Food Microbiology* 24: 343-362.
- Jacobsen T, Budde BB, Koch AG (2003). Application of *Leuconostoc carnosum* for biopreservation of cooked meat products. *Journal of Applied Microbiology* 95: 242-249.
- Lauková A, Czikková S, Dóbransky T, Burdova O (1999). Inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* by enterocin CCM4231 in milk products. *Food Microbiology* 16: 93-99.
- Leitsner L, Gould GW (2002). Hurdle technologies. *Combination treatments for food stability, safety and quality*. New York, USA, Kluwer Academic/Plenum Publishers.
- Leroy F, Foulquié-Moreno MR, De Vuyst L (2003). *Enterococcus faecium* RZS C5, an interesting bacteriocin producer to be used as a co-culture in food fermentation. *International Journal of Food Microbiology* 88: 235-240.
- Luchansky JB (1999). Overview on applications for bacteriocin-producing lactic acid bacteria and their bacteriocins. *Antonie van Leeuwenhoek* 76: 335.
- Málaga-Trillo E, Solís GP (2006). Proteínas de príon: de la patogénesis a la función. En: Flores- Herrera O, Oria-Hernandez J, Rendón-Huerta E, Velázquez-López I (Eds), *XXX Mensaje Bioquímico* (p: 167-184). Departamento de Bioquímica. Facultad de Medicina, UNAM.
- Masana MO, Baranyi J (2000). Growth/no growth interface of *Brochothrix thermosphacta* as a function of pH and water activity. *Food Microbiology* 17: 485-493
- McCabe-Sellers BJ, Beattie SE (2004). Food safety: emerging trends in foodborne illness surveillance and prevention. *Journal of the American Dietetic Association* 104: 1708-1717.
- Mead PS, Slutsker L, Dietz V, McCaig LF, Bresee JS, Shapiro C, Griffin PM, Tauxe RV (1999). *Emerging Infectious Diseases* 5: 607-625.
- Murray M, Richard JA (1997). Comparative study of the antilisterial activity of nisin A and pediocin AcH in fresh ground pork stored aerobically at 5°C. *Journal of Food Protection* 60: 1534-40.
- Nattress FM, Baker LP (2003). Effects of treatment with lysozyme and nisin on the microflora and sensory properties of commercial pork. *International Journal of Food Microbiology* 85: 259-267.
- Nilsson L, Ng YY, Christiansen JN, Jorgensen BL, Grotnum D, Gram L (2004). The contribution of bacteriocin to inhibition of *Listeria monocytogenes* by *Carnobacterium piscicola* strains in cold-smoked salmon systems. *Journal of Applied Microbiology* 96: 133-143.
- Nissen H, Holo H, Axelsson L, Blom H (2001). Characterization and growth of *Bacillus* spp. in heat-treated cream with and without nisin. *Journal of Applied Microbiology* 90: 530-534.
- Parente E, Hill C (1992). Inhibition of *Listeria* in buffer, broth, and milk by enterocin 1146, a bacteriocin produced by *Enterococcus faecium*. *Journal of Food Protection* 55: 503-508.
- Pawar DD, Malik SVS, Bhilegaonkar KN, Barbudde SB (2000). Effect of nisin and its combination with sodium chloride on the survival of *Listeria monocytogenes* added to raw buffalo meat mince. *Meat Science* 56: 215-219.
- Raloff J (1998). Staging germ warfare in foods. *Science News* 153: 89-90.
- Ross RP, Galvin M, McAuliffe O, Morgan SM, Ryan MP, Twomey DP, Meaney WJ, Hill C (1999). Developing applications for lactococcal bacteriocins. *Antonie van Leeuwenhoek* 76: 337-46.
- Ryser ET, Marth EH (1999). *Listeria, listeriosis and food Safety*. 2nd ed. New York: Marcel Dekker, Inc. (p- 738).
- Schmidt K, Tirado C (2001). *Seventh report 1993-1998. WHO Surveillance programme for control of foodborne infections and intoxications in Europe Berlin*. (p-321-333). Edited by C. Tirado and K. Schmidt.
- Schved F, Pierson MD, Juven BJ (1996). Sensitization of *Escherichia coli* to nisin by maltol and ethyl maltol. *Letters in Applied Microbiology* 22: 305-314.
- Sobrinho-López A, Martí-Belloso O (2006). Enhancing inactivation of *Staphylococcus aureus* in skim milk by combining high-intensity pulsed electric fields and nisin. *Journal of Food Protection* 69: 345-353
- Stevens KA, Sheldon BW, Klapes NA, Klaenhammer TR (1991). Nisin treatment for inactivation of *Salmonella* species and other Gram-negative bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 57: 3613-3615.

- Stiles ME (1996). Biopreservation by lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* 70: 331-345.
- Stohr V, Joffraud JJ, Cardinal M, Leroi F (2001). Spoilage potential and sensory profile associated with bacteria isolated from cold-smoked salmon. *Food Research International* 34: 797-806.
- Thomas LV, Clarkson MR, Delves-Broughton J (2000). Nisin. In: *Natural Food Antimicrobial Systems*, (p- 463–524). Naidu, A. S., ed., CRC Press, Boca Raton, FL.
- Thomas LV, Delves-Broughton J (2001). New advances in the application of the food preservative nisin. *Advanced Food Science* 2: 11–22.
- Villani F, Salzano G, Sorrentino E, Pepe O, Marino P, Coppola S (1993). Enterocin 226 NWC, a bacteriocin produced by *Enterococcus faecalis* 226, active against *Listeria monocytogenes*. *Journal of Applied Bacteriology* 74: 380–387.
- Yamazaki K, Suzuki M, Kawai Y, Inoue N, Montville TJ (2003). Inhibition of *Listeria monocytogenes* in cold-smoked salmon by *Carnobacterium piscicola* CS526 isolated from frozen surimi. *Journal of Food Protection* 66: 1420-1425.
- Zottola EA, Yezzi TL, Ajao DB, Roberts RF (1994). Utilization of cheddar cheese containing nisin as an antimicrobial agent in other foods. *International Journal of Food Microbiology* 24: 227-38.