

**Bacteriocinas obtenidas de bacterias lácticas como posibles reemplazos a conservantes
artificiales o químicos**

Trabajo de grado para optar por título de Especialista en Alimentación y Nutrición

Mariana Agudelo Calle

Asesor

Luz Adriana Gutiérrez Ramírez

PhD. MSc. Bióloga

Unilasallista Corporación Universitaria

Facultad de Ingenierías

Especialización en Alimentación y Nutrición

Caldas-Antioquia

2023

Contenido

Resumen.....	5
Introducción	6
Planteamiento del Problema y Justificación	8
Objetivos.....	11
Objetivo General.....	11
Objetivos Específicos	11
Metodología.....	12
Bacterias ácido-lácticas.....	13
Metabolitos producidos por Bacterias ácido-lácticas	13
Producción y purificación de bacteriocinas.....	19
Bacteriocinas y microbioma intestinal	19
Producción de Bacteriocinas	21
Evaluación de la actividad bactericida de las bacteriocinas.....	23
Purificación de Bacteriocinas.....	24
Síntesis y mecanismos de acción de las bacteriocinas	26
Diferencia de las bacteriocinas con los antibióticos.....	27
Resistencia a las bacteriocinas.....	29
Bacteriocinas empleadas en la industria alimentaria.....	30
Nisina	31
Pediocina	33
Enterocina.....	34
Bacteriocinas empleadas en la industria alimentaria: Productos lácteos	35
Análisis estadístico.....	42
Conclusiones.....	44

Bibliografía	45
---------------------------	-----------

Lista De Tablas

Tabla 1. Bacteriocinas producidas por algunas bacterias.....	15
Tabla 2. Descripción de los estudios que han abordado las bacteriocinas producidas por bacterias ácido-lácticas en alimentos.....	17
Tabla 3. Diferencias entre péptidos antimicrobianos y los antibióticos	29
Tabla 4. ANOVA para año de publicación por bases de datos	42

Lista de Ilustraciones

Ilustración 1. Dispersión por código de nivel	43
---	----

Resumen

Las bacteriocinas desde hace años se han usado para la bioconservación de alimentos, ya que son producto de las bacterias ácido-lácticas que están catalogadas como GRAS (*Generally Regarded As Safe*), lo que las convierte en una excelente opción para ser usadas en alimentos, siendo un reemplazo a los conservantes químicos. Las bacteriocinas tienen la capacidad de inhibir microorganismos patógenos, por lo que también poseen la facultad de conservar productos lácteos, sin alterar las características sensoriales de los productos.

El estudio de estos bioconservantes es impulsado por la creciente necesidad de los consumidores de alimentos menos procesados, debido a que las bacteriocinas pueden hacer parte del microbioma, además de mitigar considerablemente la resistencia que oponen algunos microorganismos a los productos químicos como conservantes sintéticos y antibióticos.

Con esta búsqueda se logra identificar las bacteriocinas más usadas en la industria alimenticia, principalmente en lácteos y repostería que extienden la vida útil de los productos con el fin de satisfacer las necesidades de los consumidores y la industria, ya que se obtendrán productos menos procesados, pero sin dejar de asegurar la inocuidad de estos.

Se realizó una búsqueda bibliográfica enmarcada en bioconservantes naturales, desde el año 2005 hasta 2023 en diferentes bases de datos y se enfoca en las bacteriocinas empleadas en la industria de productos y subproductos lácteos.

Palabras clave: Bacterias ácido-lácticas, bacteriocinas alimentos, bacteriocinas postres, bacteriocinas en lácteos.

Introducción

Los alimentos durante toda su cadena productiva pueden sufrir deterioro por diversos factores, entre los cuales se encuentra la mala manipulación lo que provoca una alteración de las características microbiológicas y por ende compromete la inocuidad de los productos. Para contrarrestar esta situación se buscan alternativas que permitan alargar la vida útil del alimento para garantizar la calidad de estos y la salud de los consumidores. El empleo de conservantes químicos se convierte en una opción que asegura dicha calidad, pero se ha generado con los años rechazos de parte de los consumidores, no solo por los efectos colaterales que estos puedan tener, sino también por la demanda en el consumo de alimentos menos procesados y que además cumplan con una función terapéutica que debería tener un alimento como valor agregado.

Las bacterias ácido-lácticas desde hace unos años han sido utilizadas como conservantes en alimentos, ya que producen moléculas con actividad antimicrobiana como el ácido láctico, ácido acético, diacetilo y sustancias proteicas denominadas bacteriocinas, estas últimas son bioconservantes que tiene la capacidad de inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos, minimizando tratamientos en los alimentos sin afectar la seguridad de estos (Agudelo Londoño et al., 2015).

Las bacteriocinas no sólo están teniendo injerencia en la conservación de alimentos, sino también en temas biomédicos, ya que se están realizando estudios para un posible reemplazo a los antibióticos, el uso desmedido de estos contra bacterias ha originado resistencia afectando la salud humana y animal. El uso de BAL (bacterias ácido-lácticas) y sus metabolitos, tienen una función probiótica en el organismo y administrado de manera adecuado protege el tracto gastrointestinal de patógenos indeseados.

La Nisina y la pediocina PA-1 producidas por los géneros *Lactococcus lactis subsp. Lactis* y *Pediococcus acidilactic* son las bacteriocinas comercialmente aprobadas por

organismos de regulación, sin embargo, en esta revisión se evidenciará con bibliografía otras bacteriocinas y sus efectos antimicrobiano en productos alimenticios y lácteos.

Con este trabajo se pretende orientar sobre el uso de bioconservantes en la industria alimentaria y láctea, determinando que bioconservante funciona de una manera más efectiva en la disminución o eliminación de microorganismos presentes en alimentos, principalmente en los alimentos a base de lácteos, alargando su vida útil.

El uso de las bacteriocinas beneficia a las empresas del sector, productoras de esta clase de alimentos, disminuye las pérdidas económicas y mejora la productividad, además de mitigar o eliminar el efecto adverso que produce el uso de conservantes artificiales.

En poco tiempo el uso de las bacteriocinas será cada vez más extensivo en virtud de las propiedades y de las ventajas competitivas, respecto a otros conservantes químicos.

Planteamiento del Problema y Justificación

La principal causa de deterioro de los alimentos es la actividad de microorganismos (bacterias, levaduras y mohos) y el problema de estas alteraciones microbianas en los alimentos son las implicaciones económicas que se tiene para los fabricantes, el deterioro de las materias primas y de los productos elaborados, sin contar, además de la pérdida de la imagen de marca, y la afectación a los consumidores, que se ve reflejado en el deterioro de productos después de su adquisición y antes de su consumo (Ibáñez et al., 2003).

Conservantes más empleados en alimentos:

Para mitigar el efecto de los contaminantes se ha empleado conservantes químicos, esto se utilizan para prolongar la vida útil de productos e inhibir el crecimiento fúngico y bacteriano, sin embargo, el consumo de estos a largo plazo está relacionado con el riesgo de enfermedades crónicas (Liu et al., 2022), como cáncer, afecciones respiratorias, Parkinson, Alzheimer, alteraciones neurológicas, entre otras (Arencibia Rivero, 2009; Ibáñez et al., 2003).

Dentro de los conservantes químicos más empleados en la industria alimentaria están:

Ácido sórbico: usado principalmente en pan y bollería, concentrados de zumos, postres a base de leche quesos fundidos, aperitivos a base de cereales (Ibáñez et al., 2003).

Ácido benzoico: utilizado en bebidas aromatizadas, cerveza sin alcohol, mermeladas y confituras, salsas de tomate o pimentón, el anhídrido sulfuroso es aplicado en zumos de uva, mostos, vinos, sidra y vinagre, cefalópodos y crustáceos frescos y congelados (Ibáñez et al., 2003).

Nitritos y nitratos: usados regularmente en productos cárnicos y embutidos (Ibáñez et al., 2003).

Los métodos físicos empleados en la conservación de alimentos, como el calentamiento, la deshidratación, la irradiación o la congelación, pueden asociarse con

métodos químicos (conservantes), mejorando la vida útil de la matriz alimentaria y por ende causando la muerte de los microorganismos patógenos y evitando así su crecimiento (Ibáñez et al., 2003)

El consumo diario o excesivo de aditivos alimentarios causan efectos nocivos en el organismo, como irritación en la mucosa intestinal, diarrea, hemorragias internas, aumento en el tamaño del hígado y el riñón, hiperactividad y alergias o pueden agravar una condición de salud preexistente (Arencibia Rivero, 2009).

Es por esta razón que los consumidores demandan alimentos con menos aditivos y conservantes químicos y una alternativa a estas demandas es el empleo de las bacterias del ácido láctico (BAL) y/o sus metabolitos.

Los metabolitos producidos por estas bacterias han sido estudiados y aplicados como conservantes biológicos novedosos que prolongan la vida útil de los productos sin afectar la parte nutricional lo que se traduce en una preservación de la inocuidad de los productos y prevención en el deterioro de la salud, ya que proviene de fuentes naturales y no sintéticas, además caracterizadas con status GRAS *Generally Regarded As Safe* (Liu et al., 2022). Los metabolitos con actividad conservante, como las bacteriocinas tienen un amplio rango de inhibición contra microorganismos alterantes de la calidad de diferentes alimentos (Liu et al., 2022).

Los productos de repostería a base de lácteos son nutritivos, pero son susceptibles a la contaminación por microorganismos, lo que conduce a una disminución de la calidad y la seguridad alimentaria. La contaminación por microorganismos no sólo reduce la calidad de los productos, sino que también genera pérdidas económicas tanto para los consumidores como para la industria, razón por la cual el estudio sobre la aplicación de BAL y sus metabolitos en industria alimenticia, constituye una alternativa tanto para productores como consumidores que buscan alimentos más naturales, mejorando la vida útil del alimento (Castellanos-Rozo et al., 2022). En este orden de ideas en la siguiente

monografía se plantea la búsqueda de bibliografía que soporte el uso de bacteriocinas como posible reemplazo a los conservantes químicos.

Objetivos

Objetivo General

Caracterizar bacteriocinas obtenidas de bacterias lácticas como posibles reemplazos a conservantes artificiales o químicos.

Objetivos Específicos

- Identificar las bacteriocinas obtenidas de bacterias ácido-lácticas más usadas en industria alimentaria
- Determinar cuáles son las bacteriocinas de mayor uso en la industria láctea y de repostería

Metodología

Para desarrollar esta monografía se realizó una revisión sistematizada, teniendo en cuenta los antecedentes que han llevado a tener información relevante a través del tiempo sobre la bioconservación de alimentos por metabolitos obtenidos de BAL, justificando la pertinencia de su empleo en la conservación de los alimentos.

Para realizar una recolección de la información se identificó, seleccionó y eligieron 50 artículos, de acuerdo con el diseño estadístico arrojado para el programa Statgraphics centurion 19. Los artículos de investigación se seleccionaron por medio de criterios de elegibilidad relacionados el objeto de la investigación con palabras claves que dan criterios de inclusión y exclusión.

Las búsquedas comprendieron desde el año 2005 hasta el 2023, donde se obtuvo información sobre los beneficios de los metabolitos de las BAL en la biopreservación y efectos antimicrobianos en los alimentos y más específicamente en productos y subproductos lácteos.

Se excluyeron investigaciones que su enfoque no contribuía en dar respuesta a los objetivos de la monografía

Para la búsqueda de artículos se emplearon las siguientes bases de datos: Scielo, Doaj, Dialnet, Scopus, Science Direct, Elsevier Journal.

Los artículos se agruparon y se filtraron con base en los criterios de elegibilidad y luego se leyeron completamente para su selección final. La gestión bibliográfica se realizó con el programa Mendeley Cite para facilitar las citas.

La información se seleccionó y se discriminó con pensamiento crítico y teniendo de base los objetivos y la respuesta de la pregunta de investigación con la intención de conocer que metabolitos de BAL funcionan más efectivamente en la industria alimentaria como biopreservante y por último se sintetizaron los datos seleccionados.

Bacterias ácido-lácticas

Las bacterias ácido-lácticas (BAL) son bacterias anaerobias, grampositivas, no formadoras de esporas, productoras de ácidos durante el metabolismo de los carbohidratos. Las (BAL) están ampliamente distribuidas en la naturaleza e incluyen géneros como *Bifidobacterium* sp, *Carnobacterium* sp, *Enterococcus* sp, *Lactobacillus* sp, *Lactococcus* sp, *Leuconostoc* sp, *Pediococcus* sp, *Streptococcus* sp, *Tetragonococcus* sp, *Oenococcus* sp, *Weissella* sp y *Vagococcus* sp (Stiles y Holzapfel, 1997). Estas bacterias tienen un “metabolismo estrictamente fermentativo produciendo ácido láctico como el mayor producto final de la fermentación de los azúcares” (Cabeza Herrera, 2006).

Las BAL desempeñan un papel fundamental en la fermentación de los alimentos para mejorar la vida útil de los mismos. “Las BAL inducen una rápida acidificación de las materias primas durante la fermentación, produciendo ácidos orgánicos, CO₂, H₂O₂, ácidos grasos, péptidos antimicrobianos llamados bacteriocinas, compuestos volátiles y otros compuestos que inhiben el crecimiento fúngico”, sin contar además el efecto detoxificante que tienen sobre las micotoxinas (Liu et al., 2022).

La producción de bacteriocinas de BAL está usualmente asociada con la fase de crecimiento de la cepa, y dicha producción se detiene al final de la fase exponencial (AGUDELO LONDOÑO, 2013).

Metabolitos producidos por Bacterias ácido-lácticas

Las BAL producen una serie de metabolitos generados a partir de su metabolismo homofermentador o heterofermentador, estas moléculas pueden cumplir funciones específicas en matrices alimentarias, generando transformaciones importantes sobre las mismas. Dentro de los metabolitos se destacan:

Ácido Láctico. Este ácido ha tenido a lo largo de la historia utilidades para fermentación y preservación de comestibles. Fue primero descubierto en leche cortada por

Scheele en 1780, quien inicialmente lo consideró a este como un componente de la leche. En 1789, LavOisier llamó a este componente de la leche “ácido láctico”.

“En 1857, Pasteur descubrió que no era un componente de la leche, pero si un metabolito de la fermentación generado por ciertos microorganismos”. Este ácido ha recibido el estatus GRAS para su empleo como aditivo alimenticio por la FDA (Parra Huertas, 2010).

Ácido Acético. Los compuestos antimicrobianos más importantes y mejor caracterizados producidos por las BAL, son el ácido láctico y acético, y en menor medida el ácido benzoico y propiónico, estos logran disminuir el pH del medio, proporcionando un entorno ácido desfavorable para el crecimiento de microorganismos cuyas funciones metabólicas resultan inhibidas. El ácido acético puede actuar de manera sinérgica con el ácido láctico ya que al disminuir el pH aumenta su toxicidad (Pramparo, 2018).

Ácido Propiónico. Este ácido se genera por la fermentación de algunas bacterias heterofermentativas utilizadas en quesería como starter, por ejemplo, en producción del queso Emmental, Suizo y Gruyere, entre otros, donde el ácido láctico es transformado en ácido propiónico y acético (Parra Huertas, 2010).

Bacteriocinas. “El término “bacteriocinas” fue propuesto por primera vez por Jacob y colaboradores en 1953 para referirse a las sustancias proteicas con actividad antimicrobiana de origen bacteriano” (Agudelo Londoño et al., 2015). Las bacteriocinas de uso en alimentos son producidas por las BAL (Ramos De Melo et al., 2005).

“En 1976, Tagg y colaboradores las definieron como un grupo de sustancias antimicrobianas de origen bacteriano, caracterizadas por poseer un componente proteico biológicamente activo y por ejercer un modo de acción bactericida” (Agudelo Londoño et al., 2015).

Las bacteriocinas son péptidos de origen ribosomal sintetizados por bacterias ácido-lácticas que son secretados al medio extracelular y tienen la capacidad de inhibir el crecimiento de otros microorganismos. Dentro de los residuos de aminoácidos que contienen las

bacteriocinas están: lisina, arginina e histidina, que les dan un carácter catiónico (pH neutro), sin embargo, también pueden tener residuos de alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, metionina, fenilalanina y triptófano, lo que les proporciona su naturaleza hidrofóbica; sin contar además que algunas bacteriocinas pueden tener carácter anfipático (Heredia Castro et al., 2017).

La búsqueda de nuevas y prometedoras moléculas para el control de patógenos de los alimentos ubica a las bacteriocinas en el punto más alto de la bioconservación en la industria alimentaria, su consumo favorece la microbiota intestinal, generando sinergia con los mecanismos propios de control que realiza la microbiota (Carlos Rodríguez-Figueroa et al., 2017).

Las bacteriocinas producidas por BAL poseen un efecto inhibitorio especialmente sobre microorganismos Gram positivos, existen pocos reportes de bacteriocinas que inhiban el crecimiento de microorganismos Gram negativos, sin embargo, se han encontrado algunas cepas como el *L. curvatis* y el *L. casei* que inhiben el crecimiento de cepas patógenas como *E. coli* y *Salmonella enterica*, en el trabajo realizado por Agudelo Londoño en 2013 se encontró que algunas bacteriocinas producidas por BAL, inhibían el crecimiento de *Staphylococcus aureus* o de patógenos como la *Listeria monocytogenes* (AGUDELO LONDOÑO, 2013).

En la Tabla 1 se evidencia las principales bacteriocinas y las bacterias que son sensibles a estas.

Tabla 1. Bacteriocinas producidas por algunas bacterias

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

Tomado de (Barboza-Corona et al., 2004)

* Única bacteriocina con reconocimiento GRAS y que se usa como bioconservador en la preparación de varios alimentos.

Las bacteriocinas normalmente actúan contra microorganismos no deseados, estrechamente relacionados o responsables del deterioro de alimentos y causantes de enfermedades. Por esta razón, se utilizan en varias aplicaciones, como la biopreservación, la extensión de la vida útil, la acción antimicrobiana clínica y para el control de fermentaciones (Perez et al., 2014).

Autores como Cé et al., en 2012, iniciaron algunos experimentos combinando bacteriocinas antimicrobianas y antifúngicas para aumentar la actividad inhibitoria, tanto a bacterias gram positivas como gram negativas, pudiendo mantener la calidad y seguridad de los alimentos mínimamente procesados aportando a la bioconservación de los mismos, evidenciando que no tienen efectos adversos sobre la matriz alimentaria y con actividad en productos lácteos (queso, crema agria y yogurt) y carnes (Cé et al., 2012).

Otra cualidad importante de las bacteriocinas es la capacidad de destrucción de *Listeria monocytogenes* especialmente biopelículas de instalaciones de plantas de alimentos, autores como Camargo et al., en 2018 encontraron que un desinfectante a base de ácido láctico presentó un mejor rendimiento contra biopelículas de *L. monocytogenes*, donde muy probablemente su acción se deba a las bacterias ácido-lácticas de las cepas pertenecientes a los géneros *Lactococcus sp*, *Lactobacillus sp.*, *Enterococcus sp* y *Pediococcus sp* (Camargo et al., 2018).

Autores como Castellanos-Rozo et al., presentaron en el año 2022 algunas desventajas que podían exhibir las bacteriocinas: su uso limitado contra micobacterias, hongos y virus, además la solubilidad afectada en pH altos.

Una estrategia sugerida por los mismos autores es combinar el empleo de bacteriocinas con tratamientos emergentes de la industria alimentaria, potenciando con esto las propiedades de las bacteriocinas. Por ejemplo, la combinación de altas presiones hidrostáticas, y nanopartículas promueve la actividad bactericida de las bacteriocinas. Es importante también

destacar, que “la combinación de bacteriocinas con otras sustancias naturales como los bacteriófagos, sistema lactoperoxidasa, aceites esenciales, constituyen una alternativa para producir alimentos mínimamente procesados, seguros, saludables y con menos impacto sobre el medio ambiente” (Castellanos-Rozo et al., 2022).

Europa ha avanzado en el empleo de las bacteriocinas producidas por BAL en alimentos, utilizando diversas técnicas y diferentes bacteriocinas aplicadas principalmente en productos lácteos y cárnicos, en la Tabla 2 se describen algunos ejemplos de su uso:

Tabla 2. Descripción de los estudios que han abordado las bacteriocinas producidas por bacterias ácido-lácticas en alimentos.

Autor	País	Técnica	Bacteriocina y/o Microorganismo	Alimento	Microorganismos patógenos
Arqués	España	Actividad Antimicrobiana	Nisina, Lacticina 481, Enterocinas I y AS-48, y Reuterina	Leche descremada	<i>L. monocytogenes</i> y <i>S. aureus</i>
Chang	Corea	Enumeración de células viables	<i>Leuconostoc citreum</i> GJ7	Kimichi	<i>E. coli</i> O157:H7, <i>Salmonella typhi</i> y <i>S. aureus</i>
Cobo	España	Concentración inhibitoria mínima (CIM)	Enterocina AS-48	Coles	<i>Salmonella entérica</i> <i>E.coli</i>
Molinos	España	PCR y recuento en placa	Enterocina AS-48	Ensalada	<i>L. monocytogenes</i>
<u>Dal</u>	Italia	Conteo de células viables	Nisina A, nisina Z y lacticina 48, <i>Lactococcus lactis</i>	Queso Cotagge	<i>L. monocytogenes</i>
<u>Dimitrieva</u>	Estados unidos	Conteo de células viables	Sin dato	Queso cheddar	<i>L. monocytogenes</i> , <i>S. aureus</i>
<u>Dortu</u>	Alemania	Espectro de actividad de sobrenadante BAL	Sakacin P: <i>Lactobacillus curvatus</i> CWBI-B28 y Sakacin G: <i>Lactobacillus sakei</i> CWBI-B1365	Carne de ave	<i>L. monocytogenes</i>
Hartman	Alemania	Concentración mínima efectiva	Mundtacin L, Sakacina X, Pediocina PA-1, Sakacina A, Leucocin A, Leucocin B, Pediocina PA-1 entre otras	Leche entera y carne molida de res	<i>Listeria monocytogenes</i>
Jofré	España	Conteo de células viables	Enterocins A y B por <i>Enterococcus faecium</i> CTC492	Salchichas	<i>L. monocytogenes</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Salmonella</i> spp.
Kouakou	Bélgica	Recuento de UFC	<i>Lactobacillus curvatus</i> CWBI-B28	Carne de cerdo	<i>L. monocytogenes</i>

Autor	País	Técnica	Bacteriocina y/o Microorganismo	Alimento	Microorganismos patógenos
Liu	Irlanda	Enumeración de patógeno en matriz alimentaria	Enterocina A por <i>Lactococcus lactis</i>	Queso	<i>Listeria monocytogenes</i>
Malheiro	Brasil	Conteo de células viables	Nisina- (BLS) P34	Queso Minas	<i>L. monocytogenes</i>
Regazzo	México	Recuento de UFC	<i>Lactobacillus plantarum</i> A6 - <i>L. fermentum</i> OgiE1	Mangos, agua de grifo y agua de tanque	<i>Salmonella</i> spp.
Sarika	India	Recuento de células viables	<i>Lactococcus lactis</i> PSY2	Filetes de bacalao	<i>E. coli</i> , <i>L. monocytogenes</i> , y <i>S. aureus</i>
Settanni	Italia	Conteo de células viables	Sustancia inhibidora de tipo bacteriocina (BLIS)	Queso tosela	<i>Salmonella</i> spp. Y <i>L. monocytogenes</i>
Siboukeur	Argelia	Recuento de células	Nisina asilada de <i>Lactococcus lactis</i> sub sp. <i>lactis</i>	Leche de camella	<i>S. aureus</i>
Singh	India	PCR	Mesentericin, pediocina y plantaricina A	Pepino fermentado	<i>E.coli</i> MTCC 433, <i>B. cereus</i> MTCC 1305; <i>S. aureus</i> MTCC 96 y <i>L. monocytogenes</i>
Tahiri	Canadá	Concentración Inhibitoria mínima	Divergicin M35 <i>Carnobacterium divergens</i> ATCC 35677 y <i>C. divergens</i> M35	Salmón ahumado	<i>L. monocytogenes</i>
Trias	España	Espectro de inhibición de sobrenadantes	<i>Leuconostoc</i> spp.	Manzana y lechuga	<i>L. monocytogenes</i>
Trmčić	Eslovenia	Recuento en placa del patógeno	Bacteriocinas de bacterias ácido-lácticas	Quesos de leche cruda	<i>S.aureus</i>
Udhayashree	India	Eficacia de bacteriocina	<i>Lactobacillus fermentum</i> UN01	Manzana y pescado	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> y <i>Salmonella thypi</i>
Vera	Brasil	Efecto antagónico frente a patógenos.	<i>Enterococcus mundtii</i> CRL35 y <i>Enterococcus faecium</i> ST88Ch	Queso	<i>L. monocytogenes</i>
Viedman	España	Conteo de células viables	Enterocina AS-48 <i>Enterococcus faecalis</i>	Ingredientes de panadería	<i>S. aureus</i>

Tomado de (Fernández Villa et al., 2014)

Producción y purificación de bacteriocinas

Bacteriocinas y microbioma intestinal

Los probióticos de BAL son microorganismos vivos, no patógenos, los cuales administrados en cantidades adecuadas confieren un beneficio sobre la salud del huésped. Los beneficios potenciales propuestos de los probióticos incluyen: adherencia a las células; eliminación o disminución de adherencia de patógenos; capacidad para formar una flora normal equilibrada; producción de ácidos, peróxido de hidrógeno y bacteriocinas que son antagonistas del crecimiento de patógenos. Dichos beneficios constituyen características seguras, no invasivas, no carcinogénicas y no patogénicas (Gamiño-Arroyo et al., 2005).

Cabe destacar que los efectos beneficiosos de estos son específicos de la cepa (Arbulu Ruiz, 2016). Los probióticos disminuyen la producción de enzimas como la β -glucoronidasa, la β -glucosidasa, la nitroreductasa y la ureasa; enzimas producidas por patógenos responsables de la activación metabólica de los mutágenos y carcinógenos (Jaramillo Giraldo, 2009).

“Los cultivos probióticos se desarrollaron inicialmente en productos lácticos, ya que actúan como cultivos iniciadores de reacciones de fermentación, en las cuales está involucrado el ácido láctico” (Jaramillo Giraldo, 2009).

Las BAL que son utilizadas como probióticos reúnen las siguientes características: propiedades no patogénicas ni toxigénicas, resistencia a productos tecnológicos y viabilidad en productos comerciales, estabilidad en secreciones gástricas del estómago y biliares en el duodeno, capacidad de adhesión a las células epiteliales del intestino, habilidad para adaptarse dentro del tracto gastrointestinal sin desplazar la microbiota nativa (Costas Malvido, 2019) y estabilizándola (Teso Pérez, 2023), producción de sustancias antimicrobianas (Costas Malvido, 2019), inhibición de la acción de microorganismos patógenos (Teso Pérez, 2023), habilidad para

modular el sistema inmune y para influenciar actividades metabólicas. Además, mejoran las propiedades de la microbiota nativa, protección de infecciones gastrointestinales, aumento del valor nutritivo de los alimentos, favorecen la tolerancia a la lactosa, reducen la acumulación de compuestos tóxicos o cancerígenos en el alimento, disminuyen los niveles de colesterol en sangre y/o controlan algunos tipos de cáncer, así también se emplean como vehículos en la administración de vacunas (Costas Malvido, 2019).

Los microorganismos utilizados como probióticos pertenecen a los géneros *Lactobacillus sp*, *Bifidobacterium sp* (algunas cepas), *Enterococcus sp*, *Lactococcus sp*, *Streptococcus sp*, *Bacillus sp* y *Saccharomyces sp*, están presentes en diversos medios y pueden transformar numerosas fuentes de azúcares: lactosuero, ensilados, extractos vegetales, almidón hidrolizado, etc., enriqueciendo el medio en vitaminas, aminoácidos, o enzimas (β -galactosidasa). Por otra parte, una BAL no patógenas como *Pediococcus* es empleada como probióticos gracias a su capacidad de producir sustancias antimicrobianas, así como de conferir beneficios nutricionales y de salud (Teso Pérez, 2023).

Al llegar los microorganismos probióticos al tracto gastrointestinal pueden interactuar con los allí presentes, principalmente estabilizando la comunidad bacteriana y restaurar la microbiota intestinal original. Entre estas interacciones se encuentra la competencia con patógenos por conseguir nutrientes o adherirse al epitelio. Algunos microorganismos probióticos como *Lactobacilos* o *Bifidobacterias* pueden modificar el entorno, produciendo ácidos orgánicos que bajen el pH intestinal, inhibiendo de esta forma el crecimiento de microorganismos patógenos. Otros regulan la expresión de genes relacionados con la secreción de moco intestinal, mejorando la función barrera y excluyendo a los patógenos. Estos también pueden inducir cambios en la microbiota intestinal y estabilizar las comunidades microbianas. Sin embargo, es necesario más estudios en humanos para evaluar

hasta qué punto los probióticos influyen el microbioma intestinal humano y si los cambios están asociados con beneficios clínicos en el hospedador. Gracias al uso de los probióticos se han podido tratar múltiples enfermedades, principalmente intestinales, aunque en el futuro se espera que ayuden en el tratamiento de enfermedades orales o respiratorias (Teso Pérez, 2023).

Las bacteriocinas se están convirtiendo en una alternativa al uso de antibióticos ya que la dependencia exclusiva y “el uso excesivo o indebido de estos se han atribuido a la aparición de patógenos resistentes a los antibióticos, poniendo en peligro la eficacia de los antibióticos actualmente disponibles y, en consecuencia, planteando una enorme amenaza para la salud humana”. Por lo tanto, la búsqueda de diferentes alternativas es de gran importancia para superar la problemática en cuestión de resistencia microbiana (Yap et al., 2022).

Las bacteriocinas han ganado mucha atención como una posible solución a las deficiencias antibacterianas, ya que su espectro de destrucción es relativamente estrecho y específico y no compromete la microflora circundante y su naturaleza proteica, que es sensible a las enzimas digestivas en el tracto gastrointestinal.

Las bacteriocinas, cuando se usan solas o en combinación con otros agentes antimicrobianos, han demostrado ser eficaces para inhibir patógenos resistentes a los antibióticos (Yap et al., 2022).

Se deben realizar pruebas de toxicidad para considerar la viabilidad clínica y la relevancia comercial de las bacteriocinas, también es un criterio clave durante la selección de un agente terapéutico deseado es la estabilidad y supervivencia de estas en condiciones gastrointestinales ácidas, donde se demuestre su uso seguro en una fase preclínica (Yap et al., 2022).

Producción de Bacteriocinas

La producción de bacteriocinas depende del crecimiento y actividad fisiológica de la cepa productora. La producción de estos péptidos está generalmente asociada a la producción de

biomasa (Agudelo Londoño et al., 2015) la cual es obtenida con la cantidad de bacteriocina que se produjo. Hay factores muy importantes que influyen en la producción como la naturaleza de la cepa productora, la composición del medio de cultivo (relación entre carbono, nitrógeno y fósforo) y las condiciones de fermentación (temperatura, tiempo de crecimiento, pH inicial y final, que generalmente se encuentra entre 5.5 a 6.0, agitación, aireación, entre otras). “Existen BAL que producen más de una bacteriocina, y en este caso el pH y temperatura del medio juegan un papel muy importante en dicha producción” (AGUDELO LONDOÑO, 2013).

La detección de cepas productoras de bacteriocinas permite hacer estudios posteriores que puedan establecer su potencial en el manejo y control de los procesos en la industria alimenticia. También se ha concluido que la glucosa es mejor fuente de carbono que la sacarosa o la fructosa para la producción de Nisina y pediocina, disminuyendo hasta 2 veces con estas fuentes de carbono la producción de la misma bacteriocina. También se observó que algunos aniones como el fosfato y cationes como el magnesio y el calcio afectan la producción de bacteriocinas, aunque esto depende de la cepa (Carlos Rodríguez-Figueroa et al., 2017)

Variables como la temperatura tiene un efecto importante en la producción de bacteriocinas, en la mayoría de los casos se encuentra una coincidencia entre la temperatura óptima de crecimiento y de producción de bacteriocinas. El pH es generalmente mantenido constante para la producción mediante la neutralización de los ácidos producidos durante el proceso de fermentación, demostrando tener un efecto en la estabilidad en la solubilidad y en la adsorción que tienen las bacteriocinas en la membrana citoplasmática. La aireación también afecta las bacteriocinas producidas por bacterias ácido lácticas, la presencia de oxígeno puede activar diferentes rutas metabólicas que pueden dar origen a diferentes rendimientos, hay investigaciones que sugiere utilizar condiciones anaeróbicas y otras en las que propone emplear una atmósfera enriquecida con oxígeno para incrementar la producción y esto varía de acuerdo con la bacteriocina (Agudelo Londoño et al., 2015).

Para comprobar las características bioquímicas de la bacteriocina producida, estas son tratadas con diferentes proteasas (quimiotripsina, tripsina, proteinasa K, y pronasa E), o con otras enzimas (α -amilasa, lipasa A, lisozima, aminopeptidasa, mutanolisina, DNAsa, y RNAsa) y después se determina el tamaño por ultrafiltración (Sánchez et al., 2010).

Evaluación de la actividad bactericida de las bacteriocinas

Para determinar el campo de acción inhibitorio de una bacteriocina se hacen pruebas in vitro con técnicas de antagonismo directo que consiste en hacer crecer la cepa productora de la sustancia inhibidora junto a una cepa indicadora y luego observar los halos de inhibición, y antagonismo indirecto que consiste en hacer crecer en primer lugar la cepa productora de la sustancia inhibidora, de esta forma se permite que libere la sustancia y solo entonces se siembra la cepa contra la cual se desea observar el efecto antagónico (AGUDELO LONDOÑO, 2013).

Para determinar la actividad antibacteriana de las bacteriocinas frente a una bacteria blanco, se han empleado métodos como el ensayo de difusión en medios de cultivo, en donde se establece, en forma cuantitativa, el efecto de estas moléculas sobre las cepas bacterianas (Beristain-Bauza et al., 2016).

El método de difusión en pozo se basa en la relación entre la concentración de la sustancia necesaria para inhibir una cepa bacteriana y el halo de inhibición de crecimiento en la superficie de una placa de agar con un medio de cultivo adecuado y sembrado homogéneamente con la bacteria a ensayar y sobre el cual se ha sembrado en pozo impregnado con una cantidad de sustancia bacteriana. Los medios de cultivo más utilizados en dichas técnicas son el agar Mueller Hinton y agar tripticasa soya, ya que sus componentes facilitan el crecimiento de diferentes cepas bacterianas y una mayor difusión de las muestras (Ramirez & Marin Castaño, 2009). Las placas inoculadas se pueden refrigerar a 4 °C (Vélez Zea et al., 2015), para permitir la predifusión de los extractos antes de la incubación (Ramirez & Marin Castaño, 2009). A

continuación, se procede a la incubación a una temperatura y tiempo adecuados. Luego se mide el halo de inhibición (Ramírez & Marín Castaño, 2009).

2La actividad bactericida se detecta por la presencia de una zona clara de inhibición alrededor del pozo y es significativa cuando el halo alrededor de este es mayor a 2 mm” (Vélez Zea et al., 2015).

Es preciso señalar que el tamaño del halo de inhibición es influenciado por varios factores, los cuales incluyen; medio de cultivo en que se realiza la prueba, capacidad de difusión del compuesto, cantidad de inóculo, tiempo de generación del microorganismo, sensibilidad a la bacteriocina, y período de incubación (Ramírez & Marín Castaño, 2009).

Purificación de Bacteriocinas

Diferentes investigaciones han demostrado que las bacteriocinas pueden ser adsorbidas por la célula productora y por esto se hace importante la liberación de estas moléculas para obtener una mayor cantidad de bacteriocinas purificadas.

Autores como Agudelo Londoño y colaboradores han empleado diferentes técnicas de separación para evitar el efecto de adsorción en la cepa productora (Agudelo Londoño et al., 2015).

Las bacteriocinas pueden ser utilizadas como preservante de manera purificada o semipurificada (Rojas & Vargas, 2008). El proceso de purificación se relaciona con la producción: de acuerdo con el medio de cultivo donde se desarrollen las BAL, se debe garantizar la separación y purificación de las bacteriocinas (Jaramillo Giraldo, 2009).

Las bacteriocinas presentan una marcada tendencia a asociarse con otras debido a su hidrofobicidad, sin contar además que la estabilidad de estas disminuye a medida que se incrementa su grado de purificación y la estabilidad térmica decrece notablemente en las que son parcialmente purificadas o purificadas a homogeneidad (Costas Malvido, 2019).

El primer paso que se requiere para la purificación de las bacteriocinas se refiere a la concentración del supernadante. Algunas de ellas se encuentran en agregados moleculares, induciendo a errores en la determinación del peso molecular de la bacteriocina, entonces estas macromoléculas se disgregan usando agentes que disocian las macromoléculas, ultrafiltración o eliminando material lipídico por la extracción con metanol – cloroformo o etanol – dietil eter. Para obtener una alta pureza es necesario realizar su separación de otros compuestos proteínicos con técnicas basadas en sus características fisicoquímicas (Rojas & Vargas, 2008).

La purificación inicia desde el crecimiento de la bacteria en un medio líquido conveniente y bajo óptimas condiciones, removiendo las células por centrifugación y precipitando la proteína con la adición de sulfato de amonio, seguido de varios pasos de cromatografía. Se han desarrollado otros métodos con separaciones por cromatografía y de acuerdo al pH del medio donde logran una total liberación o absorción de las bacteriocinas dentro de la célula. El método más común utilizado es la precipitación con sulfato de amonio seguido de una cromatografía HPLC (Rojas & Vargas, 2008). También existen métodos rápidos para la purificación de las bacteriocinas, las cuales consisten en separación múltiple por cromatografía, incluyendo el intercambio catiónico, filtración por gel, precipitación por $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$, interacción hidrofóbica y cromatografía líquida en fase reversa; no obstante el grado de purificación es bajo (AGUDELO LONDOÑO, 2013).

“Yang y col en 1992, desarrollaron un procedimiento alternativo, basado en la propiedad de las bacteriocinas producidas por bacterias lácticas de ser frecuentemente adsorbidas sobre las células de las cepas productoras”, el procedimiento consiste en ajustar el pH del caldo de cultivo de una cepa productora, después de un tratamiento térmico para inactivar la función biológica de las células, a un valor al que ocurre la adsorción de la bacteriocina a la superficie celular (usualmente pH 6 a 6.5), se permite una fácil separación de las moléculas (adsorbidas en

las células) del caldo de cultivo por simple centrifugación. Posteriormente, los péptidos son liberados selectivamente de las células a pH bajos (1.5 – 2.0). Este método se presenta como una técnica que produce péptidos con alta potencia y en una forma más concentrada (ALQUICIRA PAEZ, 2006) para las bacteriocinas que presentan la característica inicialmente mencionada (Tâm et al., 2016).

Síntesis y mecanismos de acción de las bacteriocinas

La síntesis de las bacteriocinas se produce, generalmente, en situaciones de estrés. Como es habitual en las rutas metabólicas de los microorganismos, la síntesis de las bacteriocinas también depende del ecosistema, pH, potencial de óxido-reducción, cantidad de nutrientes, fase de crecimiento, temperatura y oxígeno disponible. Así mismo, son inactivadas por enzimas como la tripsina y la pepsina, las cuales al encontrarse en el tracto digestivo no permiten que las bacteriocinas alteren la microbiota existente en él (Agudelo Londoño et al., 2015).

Los mecanismos de acción de estas moléculas son variados. Entre los mecanismos de acción reportados se destacan varios eventos para que puedan llevar a cabo su actividad antimicrobiana independiente del blanco celular, membrana o pared celular, así como la interacción con algunas proteínas importantes en el metabolismo de la célula.

Aunque su carácter catiónico facilita su interacción e inserción en las paredes celulares aniónicas y membranas de fosfolípidos de los microorganismos se han propuesto varios mecanismos que explican su modo de acción:

Ejercen una acción detergente sobre la membrana celular generando poros en la membrana celular. Las bacteriocinas poseen una carga neta positiva que favorece su interacción con la carga negativa de los lipopolisacáridos de la membrana de las bacterias Gram negativas, o con los ácidos teicoicos y lipoteicoicos de la pared de las bacterias Gram positivas. La hidrofobicidad y la flexibilidad, les permite realizar un cambio conformacional de un estado

soluble a uno de interacción con la membrana. A pesar de que estas características varían de molécula a molécula, todas son importantes para la actividad antimicrobiana.

Unión de las bacteriocinas a la membrana citoplasmática a través de uniones electrostáticas con los fosfolípidos cargados negativamente y luego se insertan a la membrana con una reorientación que depende del potencial de membrana, el cual está influenciado por el pH y la composición fosfolipídica, con la consecuente salida de iones (principalmente potasio y magnesio), pérdida de la fuerza motriz de protones (FMP), salida de ATP y aminoácidos.

Resistencia a la neutralización de las bacteriocinas: esta se realiza a través de la unión de moléculas unidas a la membrana o secretadas por ella, o por inducción de moléculas del huésped que se unan a las bacteriocinas (Téllez & Castaño, 2010; Mondragón Preciado et al., 2013; Kristiansen et al., 2016; Ghequire et al., 2017). Aun cuando la utilización de cultivos iniciadores productores de bacteriocinas como preservantes naturales en alimentos motiva a su utilización y se han realizado avances en los conocimientos sobre mecanismos de acción, estructura, síntesis y caracterización molecular de estas sustancias, el surgimiento de cepas resistentes a bacteriocinas hace necesario la ampliación de los estudios hacia ese campo.

Diferencia de las bacteriocinas con los antibióticos

La aplicación principal de las bacteriocinas ha sido siempre la de conservante natural. La resistencia antimicrobiana a los antibióticos convencionales presenta nuevas oportunidades a la aplicación de las bacteriocinas en una variedad de productos sanitarios donde deben controlarse los microorganismos no deseados y potencialmente resistentes. Las áreas de interés potenciales incluyen, el área biomédica, interviniendo en el cuidado oral y de la piel, infecciones respiratorias, gastrointestinales, del tracto urogenital y otras. Además de la actividad antiviral, las bacteriocinas podrían utilizarse potencialmente en el control postquirúrgico de las bacterias infecciosas (Costas Malvido, 2019).

Algunas BAL producen compuestos antimicrobianos que se postulan como posibles alternativas a antibióticos, unas de las aplicaciones más novedosas es su utilización en el ámbito médico, “concretamente como agentes vehiculares de fármacos, así como su uso en las vacunas” (Teso Pérez, 2023).

“Los péptidos antimicrobianos se clasifican como péptidos de síntesis ribosomal o no ribosomal. Los péptidos antimicrobianos no ribosomales se incluyen en el grupo de los antibióticos tradicionales” (Arbulu Ruiz, 2016). Las bacteriocinas son sustancias que pueden romperse fácilmente por medio de proteasas y son rápidamente inactivadas en el estómago y en el intestino delgado mientras que los antibióticos no. Aunque las bacteriocinas pueden llegar a cumplir el papel antibiótico en algunos casos existen muchas diferencias entre estos que pueden llevar a preferir uno del otro dependiendo de las necesidades.

La síntesis de las bacteriocinas es ribosomal y los antibióticos son metabolitos secundarios, las bacteriocinas no causan daño a la bacteria productora, esto debido a la presencia de genes que codifican para proteínas de inmunidad, mientras que los antibióticos no presentan esta propiedad, por otro lado las bacteriocinas tienen un efecto directo en la membrana de las bacterias blanco, eventualmente pueden afectar pared celular como lo hacen algunos antibióticos (Kumar, M., Jain, A. K., Ghosh, M., & Ganguli, 2014).

. Por otra parte, los antibióticos actúan inmediatamente, pero tienen un efecto de corta duración. En comparación, los probióticos actúan lentamente, por lo que su efecto beneficioso puede mantenerse durante varios días o semanas. “Finalmente se diferencian por su campo de aplicación debido a que las bacteriocinas se utilizan principalmente en los alimentos y los antibióticos con fines clínicos” (Jaramillo Giraldo, 2009). En la Tabla 3 se exponen las principales diferencias entre péptidos antimicrobianos como las bacteriocinas y los antibióticos.

Tabla 3. Diferencias entre péptidos antimicrobianos y los antibióticos

Característica	PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS RIBOSOMALES	ANTIBIÓTICOS
Naturaleza	Proteica	Variable, a veces proteica
Síntesis	Ribosomal, generalmente como precursores inactivos Metabolitos primarios	No ribosomal (complejos multienzimáticos) Metabolitos secundario
Espectro de actividad antimicrobiana	Variable. Los PAMs producidos por procariotas suelen manifestar un espectro antimicrobiano reducido (especies relacionadas filogenéticamente); PAMs producidos por eucariotas, un mayor espectro de acción	Variable Afectan a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas y a células eucariotas
Modo de acción	Generalmente mediante la formación de poros en la membrana citoplasmática. En ocasiones, inhibición de la síntesis de la pared bacteriana, proteínas, ADN y ARN	Inhiben diversas funciones celulares (síntesis de la pared bacteriana, proteínas, ADN y ARN)
Requerimientos para la interacción con la célula diana	En ocasiones, receptores específicos o de anclaje (que facilitan su interacción con las dianas celulares de las células sensibles)	Receptores específicos
Inmunidad de la célula productora	Genes que sintetizan proteínas de inmunidad en procariotas. No descrita en eucariotas	No descrita
Resistencia/tolerancia	Mutaciones en receptores específicos o de anclaje. Modificaciones en la composición de la membrana lipídica	Genes de resistencia específicos y transferibles, transportadores de resistencia a múltiples fármacos, mutaciones en las dianas celulares
Toxicidad/efectos colaterales	No descritos	Variables (diarreas, reacciones alérgicas y fotosensibilización)
Aplicación	Alimentos y clínica	Clínica
Nota. Tomado de (Arbulu Ruiz, 2016).		

Resistencia a las bacteriocinas

“Existen factores que pueden influir negativamente en la acción de las bacteriocinas; entre ellos se encuentra la aparición de microorganismos resistentes”. Las células que adquieren resistencia frente una bacteriocina suele mostrar resistencia cruzada frente a otras bacteriocinas de la misma clase. El pH, proteasas, procesos oxidativos, aditivos alimentarios, la unión de las bacteriocinas a ciertos componentes alimentarios como grasas o proteínas y la dificultad para lograr que la bacteriocina se solubilice pueden alterar la estructura o función de estas (Jaramillo Giraldo, 2009).

“La resistencia puede existir de forma natural o intrínseca, o bien generarse como resultado a la exposición continua, que se le conoce como resistencia adquirida”. Esta resistencia puede relacionarse con cambios en la pared y membrana celular, así como alteraciones en el potencial eléctrico, la fluidez, la composición y carga de lípidos de membrana o espesor de la pared celular (Mondragón Preciado et al., 2013). Es importante conocer si estas bacterias resistentes son mutantes o sólo presentan una tolerancia temporal a la acción de las bacteriocinas y de esta manera estudiar el mecanismo por el cuál estas bacterias patógenas pueden desarrollar resistencia al uso de bacteriocinas (ALQUICIRA PAEZ, 2006).

En patógenos como *L. monocytogenes*, *Listeria innocua*, *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus bovis*, la resistencia se relaciona con cambios en la pared y membrana celular, también con cambios como la variación en la composición de ácidos grasos de la membrana y la reducción de la concentración de fosfolípidos, esto último dificulta la formación de poros (Mondragón Preciado et al., 2013).

La Nisina adicionada en altas concentraciones favorece la resistencia de *Listeria monocytogenes* a la acción de la bacteriocina, generando una enzima (Nisinasa) capaz de inactivar la acción de la nisina, sin embargo, adicionada a bajas concentraciones presenta mayor inhibición (Meral Aktaş et al., 2023). Para mejorar el potencial de las bacteriocinas se propone el uso de mezclas de bacteriocinas con el fin de reducir la capacidad con la que los microorganismos desarrollan resistencia (Mondragón Preciado et al., 2013).

Bacteriocinas empleadas en la industria alimentaria

Los consumidores están demandando cada vez más productos frescos y más saludables, lo que ha llevado a la industria a encontrar opciones que cumplan con estas expectativas, entre ellas se encuentra la de eliminar o sustituir parcialmente los conservantes químicos y es ahí donde las bacteriocinas obtenidas de bacterias ácido lácticas toman gran relevancia (Rojas &

Vargas, 2008), ya que son conservadores de alimentos, no alteran las características del producto y provienen de fuentes naturales (Castellanos-Rozo et al., 2022).

Las bacteriocinas comúnmente tienen tres métodos de aplicación en los alimentos:

1. La inoculación directa de BAL en el alimento para producir bacteriocinas en el producto.
2. Aplicación de la bacteriocina purificada o semipurificada como preservador en el alimento.
3. Uso de un producto previamente fermentado con la producción de la bacteriocina como un ingrediente en un alimento procesado.

(Mondragón Preciado et al., 2013)

Es necesario identificar las bacteriocinas que ejercen un efecto preservante de acuerdo con el espectro de inhibición que poseen y “las condiciones bajo las cuales puede tener actividad antimicrobiana” (Rojas & Vargas, 2008). De acuerdo a las características de las bacteriocinas y su mecanismo de acción funcionan de manera más apropiada en ciertas clases de alimentos.

Las bacteriocinas aceptadas por la FDA (American Food and Drug Administration) para su uso en alimentos son: Nisina y pediocina, por su parte la bacteriocina AS-48 ofrece perspectivas prometedoras como bioconservante en alimentos. Tanto la Nisina como la Pediocina, son bacteriocinas producidas por diferentes especies de bacterias ácido-lácticas. Algunas características de estas bacteriocinas son:

Nisina

La Nisina es un péptido producido por bacterias comunes de la leche y fue identificado por primera vez en 1928. La Nisina se produce naturalmente en muchos alimentos fermentados, especialmente productos lácteos, y ha sido consumido por los humanos durante siglos. Su uso en alimentos en ha sido aprobado en más de 50 países. En 1988, la FDA le otorgó el estatus GRAS ("Generalmente reconocido como seguro")

“Está clasificada dentro de la clase Ia, es termoestable y acidotolerante” (Castellanos-Rozo et al., 2022). “La Nisina es escasamente soluble en un medio acuoso neutro a moderadamente alcalino” (Ramos De Melo et al., 2005).

Es producida por diversas cepas de *Lactococcus lactis subsp. Lactis*. Fue la primera bacteriocina aislada a partir de esta cepa y fue descubierta por Rogers en 1928, quien observó que, durante la maduración de unos quesos, determinadas cepas de *Lactococcus lactis* inhibían el crecimiento de otras bacterias lácticas patógenas y que ésta además no era perjudicial para la salud. El espectro de acción de la Nisina incluye a potenciales patógenos y alterantes asociados a los alimentos como son *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium spp* y *Escherichia coli*, entre otros (Agudelo Londoño et al., 2015).

Se realizan experimentos en diferentes alimentos fermentados que son ideales para BAL productoras de bacteriocinas y la principal cepa es *Lactococcus lactis subsp. grupo lactis* (Nisina), dando un amplio panorama como bioconservante de alimentos, ya que su actividad inhibitoria incluía *Bacillus coagulans*, *Listeria monocytogenes* y *Bacillus cereus* (Bakar Diop et al., 2007).

Existen variantes de la Nisina, estas son: la Nisina A que es producida por *L. lactis subsp. Lactis*, la Nisina Z que es producida por *L. lactis* NIZO 22186 y la Nisina Q producida por *L. lactis* 61-14 (Castellanos-Rozo et al., 2022).

En los últimos años se han realizado también estudios sobre la aplicación de Nisina en combinación con pulsos eléctricos (PEF) o alta presión hidrostática (HHP) con el propósito de aumentar la eficacia en los tratamientos, debido a que originan un menor impacto en el valor nutricional y en las propiedades organolépticas de los alimentos (Grande Burgos et al., 2017).

Con el fin mejorar la estabilidad y conseguir una liberación más lenta y gradual, se realizó un ensayo de la Nisina Z encapsulada en liposomas, consiguiendo el efecto de inhibición más prolongado (Grande Burgos et al., 2017).

Debido a que la Nisina tiene un amplio espectro en diferentes alimentos, es una bacteriocina producida industrialmente y comercializada con los nombres de NISAPLIN® y CHRISIN®, también existen empresas que la producen en combinación con otros agentes conservadores. La Nisina es un polvo blanco soluble en medios acuosos, de fácil aplicación en el alimento, estable al calor y compatible con productos elaborados con leche fresca o productos lácteos. Dentro de sus beneficios se encuentra que es un producto que no desprende, sabores, olores o colores extraños, mejorando así la calidad del producto proporcionando una mayor vida útil en almacenamiento. Este producto se recomienda aplicarlo de 10 a 500 mg por litro o kilo de alimento. La dosis aplicada depende de la matriz, la elaboración y la carga microbiana.

Empresas como Tecnas S.A, Cimpa S.A.S, Dunamis S.A.S en Medellín e Interenzimas en Bogotá están comercializando la Nisina en diferentes presentaciones, de acuerdo a la empresa su precio puede variar y este oscila entre 20 y 30 US por kilo de producto, en combinación con otros conservantes químicos su precio puede estar por debajo del antes mencionado. Las demás bacteriocinas aún no han sido aprobadas para su venta en Colombia (AGUDELO LONDOÑO, 2013; Campos Newman, n.d.).

Pediocina

“Es producida por cepas de las especies *Pediococcus acidilactici*, *P. parvulus*, *P. pentosaceus*, *P. damnosus*, y una cepa de *Lactobacillus plantarum* aislada de queso” (Agudelo Londoño et al., 2015) “Es estable al calor y pH 4, pero es inactiva a pH 7 y temperaturas de 80°C por 60 minutos” (Castellanos-Rozo et al., 2022). “La pediocina es utilizada como conservador en productos vegetales y cárnicos, y por su elevada actividad contra especies de *Listeria* tiene un alto potencial para ser utilizada como conservante en alimentos lácteos” (Agudelo Londoño et

al., 2015). “También puede inhibir el crecimiento de *S. aureus* y *E. coli* O157:H7 en leche y en quesos Cheddar y Munster” (Castellanos-Rozo et al., 2022).

Enterocina

La Enterocina AS-48 es un péptido antimicrobiano de amplio espectro producida por *Enterococcus faecalis subsp. liquefaciens* S-48 muy evaluado como estrategia de aplicación un recubrimiento comestible combinados, con el fin de reducir los recuentos de agentes contaminantes (López Aguayo, 2017). Aún no ha sido aprobada por la FDA. “Tiene una amplia actividad bactericida contra bacterias patógenas que deterioran los alimentos, se determinó que inhibió el crecimiento de bacterias alteradoras de los alimentos como *Alicyclobacillus acidoterrestris*, *Paenibacillus spp.*, *Geobacillus stearothermophilus*, *Brochothrix thermosphacta*, *Staphylococcus carnosus* y *Bacillus cereus*” (Castellanos-Rozo et al., 2022).

Las cepas aisladas de *E. faecium* en comparación con *L. lactis* han mostrado mejores efectos inhibidores contra *Listeria*. Por lo tanto, “las cepas de *Enterococcus* muestran un espectro inhibidor limitado debido a la producción de Enterocinas dirigidas a *Listeria* y/o *Clostridium*”. Se encuentra que “enterococos productores de bacteriocina fueron identificados como productores de Enterocina A” (Mirhosseini et al., 2010).

Ramos De Melo et al., informaron que los estudios que contenían queso manchego inoculado con una cepa de *Enterococcus faecalis* redujeron el recuento de *L. monocytogenes* Ohio (Ramos De Melo et al., 2005).

Se distinguieron BAL productoras de bacteriocinas de productos lácteos como yogurt, queso y leche. Las cepas aisladas fueron identificadas previamente como *Enterococci spp.* Con actividad *antilisteriana*. Adicional, por PCR se sugirió que “*Enterococcus faecium* es la especie *enterococal* predominante en los productos lácteos”. Las cepas de *Enterococcus* ofrecen la posibilidad de ser un cultivo protector útil y un cultivo iniciador contra una contaminación por *L. monocytogenes* en leche cruda y productos lácteos (Mirhosseini et al., 2010).

Bacteriocinas empleadas en la industria alimentaria: Productos lácteos

Los productos lácteos durante su obtención, preparación, manipulación, transporte, almacenamiento o consumo, y por causas aleatorias pueden sufrir variaciones en sus características microbiológicas y sensoriales. La contaminación del producto final por microorganismos presentes en el ambiente de plantas de producción, a pesar de las buenas prácticas de manufactura, es la primera causa de deterioro de estos productos, su aparición depende de varios factores, entre ellos “la calidad de las materias primas, de los programas de higiene y desinfección y del ambiente” (Olivares Tenorio & Klotz Ceberio), por lo que se debe garantizar que la inocuidad no se vea afectada, ya que esta se relaciona directamente con la salud de los consumidores (De La et al., 2010).

Para la fermentación las BAL interactúan con los componentes de los alimentos y cambian las propiedades de estos a través de reacciones bioquímicas, esto se da en virtud de que estas toman nutrientes de la leche y los catalizan por medio de reacciones enzimáticas que son la degradación de ácidos, grasas y proteínas. Las BAL confieren características sensoriales a los quesos y son incorporadas como un cultivo iniciador o como un cultivo secundario no iniciador, estas son las principales productoras de compuestos bioactivos en los quesos (López-Mendoza et al., 2023).

Existen diferentes métodos para la conservación y preservación de la inocuidad de los productos lácteos, algunos de estos relacionados con las temperaturas, como la pasteurización de la leche o yogurt; (esto disminuye la carga microbiana (Heredia-Castro et al., 2021), “pero puede ocurrir una recontaminación en los pasos posteriores a la pasteurización” (Eghbal et al., 2022) o también la maduración prolongada en el caso de los quesos que ayudan a mejorar la calidad microbiológica de estos productos, debido a que estos se convierten en un buen medio de crecimiento para diferentes bacterias patógenas como “*Staphylococcus spp.*, *Listeria spp.*, *Escherichia spp.* y *Salmonella spp.*, que son los patógenos alimentarios más comunes que contaminan la leche y los productos lácteos” (Heredia-Castro et al., 2021). Para complacer la

demanda de los consumidores con los estándares de seguridad necesarios, se empieza a sustituir los métodos tradicionales para controlar la descomposición y la proliferación de estos microorganismos a partir de bacterias ácido-lácticas y/o sus bacteriocinas, ya que el uso de conservantes naturales puede resultar útil para garantizar la seguridad alimentaria sin alterar las cualidades nutricionales y sensoriales de los alimentos (De La et al., 2010).

Para garantizar esta seguridad se han desarrollado estrategias para aumentar la actividad de las bacteriocinas en productos lácteos como por ejemplo la encapsulación de la Nisina y la Nisina Z en liposomas (Heredia Castro et al., 2017), debido a que varios factores afectan la eficacia antimicrobiana de la Nisina cuando se agrega directamente a la matriz del alimento, como la falta de estabilidad a pH neutro, la interacción con glóbulos de grasa, caseína y cationes divalentes, adsorción en la grasa y la superficie de glóbulos proteicos (Sobrino-López & Martín-Belloso, 2008), con este procedimiento se logra superar esas limitaciones (Ibarra-Sánchez et al., 2020), consiguiendo efectividad en la inhibición del crecimiento de *Listeria* (Heredia Castro et al., 2017), la Nisina Z encapsulada en liposomas tuvo una mayor actividad antibacteriana contra *L. Innocua*, en comparación con Nisina (*Lactococcus lactis subsp. Lactis*) (Eghbal et al., 2022), incluso la combinación de Nisina con Pediocina incrementa su acción antimicrobiana contra este mismo patógeno y se ha reportado que *Lactococcus lactis* CL2, productora de Nisina y pediocina, además de disminuir el conteo de *Listeria monocytogenes*, también lo hizo con *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en queso (Heredia Castro et al., 2017). La Nisina, además “ha sido empleada en otros productos lácteos pasteurizados, como postres frescos, leches saborizadas, leches evaporadas y cremas”, siendo más efectivo en la inhibición de la proliferación de *Bacillus cereus* (Bautista & Barrado, 2023). Martínez Viedma et al., en 2009, probó la Nisina como conservante en postres y productos lácteos refrigerados dando como resultado también la inhibición de *B. cereus* (Martínez Viedma et al., 2009), al agregarla en leche tuvo el mismo efecto, incluso en malas condiciones de refrigeración teniendo en cuenta que esta tenía tratamiento térmico previo (Sobrino-López & Martín-Belloso, 2008).

En productos a base de lácteos, la Nisina mantiene la ausencia de *Salmonella*, *E. coli* durante un periodo de tiempo, en cambio los aerobios mesófilos, después de la aplicación siguen presentes, aunque en menor medida (Romero-Machado & Héctor-Ardisana, 2016). Según estudios realizados por Nutsuda Sumonsiri en 2017, “la concentración recomendada de Nisina en budín de leche con cóctel de frutas fue de 5,00 µg/g, ya que redujo eficientemente los cambios en el crecimiento microbiano” (Sumonsiri, 2017).

La Nisina no es tan recomendable usarla en yogurt con frutas frescas, ya que acelera el crecimiento de microorganismos perjudiciales por la adición de nuevos sustratos de carbohidratos y la eliminación de competidores bacterianos de ácido láctico, lo cual estimula el crecimiento de levadura (Sobrino-López & Martín-Belloso, 2008). La Nisina A y Z están propensos a la oxidación lo que causa que se pierda su actividad antimicrobiana en esta matriz y si esto no se estabiliza no se puede asegurar su bioactividad (Wee et al., 2023). A pesar de esto, la Lacticina 3147 mostro un efecto eficaz en la inhibición de *Listeria* en este producto (Sobrino-López & Martín-Belloso, 2008).

Además de estos usos, la Nisina también es empleada en envases que contengan productos lácteos, los cuales son recubiertos por esta bacteriocina, encontrando que retarda el crecimiento microbiano, extendiendo así la vida útil (Sobrino-López & Martín-Belloso, 2008).

Existen técnicas como la nano/microencapsulación que permiten preservar los péptidos antimicrobianos de condiciones adversas y liberar los compuestos de manera controlada. El tamaño de la cápsula tiene un papel muy importante en la liberación y entrega del compuesto bioactivo al sitio objetivo, cuando es un nano tamaño se obtiene más área de superficie por unidad de volumen, lo que produce un sistema de administración mejorado, aumentando la solubilidad, biodisponibilidad y direccionamiento de los agentes activos encapsulados. Se debe tener en cuenta la compatibilidad con las microcápsulas y la capacidad de estas para proteger los agentes encapsulados (Eghbal et al., 2022).

Siguiendo las alternativas naturales para la conservación existe un interés por la aplicación de aceites esenciales en el sector lácteo. La actividad antimicrobiana de los productos naturales no sólo se evalúa frente a los principales patógenos y bacterias de descomposición en los productos lácteos, sino también en levaduras y mohos, como *Penicillium sp* y *Aspergillus sp*, no obstante, las grasas lácteas, los carbohidratos y las proteínas pueden reducir las propiedades funcionales, entonces para superar esto se ha investigado la combinación de bacteriocinas con aceites esenciales nano o microencapsulados, o también en películas o recubrimientos comestibles que confieren propiedades antimicrobianas y antioxidantes, ayudando a prevenir el deterioro y garantizar la seguridad alimentaria y una estrategia para aumentar la vida útil de manera más natural (Xicki et al., 2023).

La Lacticina producida por *Lactococcus*, es efectiva a la hora de conservar productos lácteos, impidiendo el crecimiento de *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y la germinación de esporas de *Clostridium tyrobutyricum* y evita la contaminación de los quesos en la etapa de maduración (Bautista & Barrado, 2023). “En un estudio realizado con queso manchego contaminado artificialmente con endosporas de *C. beijerinckii*, al ser inoculado con una cepa de

L. lactis productora de Nisina y Lacticina 481 como cultivo iniciador, no se observó deterioro durante 120 días” (Grande Burgos et al., 2017), “aunque esta bacteriocina presenta una efectividad como antimicrobiano más reducida” (Bautista & Barrado, 2023). En estudios realizados por Zhanget al., en 2023, se purificó una bacteriocina de *Lactococcus lactis* (RSQ01), con bajo peso molecular lo que ayuda a su estabilidad, esta cepa combate la *Salmonella enteritidis*, que es común en productos lácteos. Esta afectó la permeabilidad de la membrana, formó poros en las células y fuga del contenido citoplasmático y deformación celular. Esta bacteriocina mostró una propiedad como antioxidante en los alimentos durante el almacenamiento, además de mantener las propiedades nutricionales y sensoriales de la leche (Zhang et al., 2023).

“Los enterococos son un grupo relevante en cuanto a su capacidad de producir bacteriocinas, pero también son conocidos como patógenos oportunistas”, motivo por el cual son

pocas las Enterocinas estudiadas para la bioconservación de derivados lácteos. Sin embargo, se han hecho estudios con estas. Por otro lado, las bacteriocinas procedentes de enterococos han sido usadas para desarrollar películas o recubrimientos activos para su uso en la industria quesera (Grande Burgos et al., 2017).

En fases experimentales cepas de *Pediococcus acidilactici*, *Enterococcus faecium* y *Lactobacillus plantarum* inhibieron el crecimiento de *Listeria innocua* CCM4030 y *Listeria innocua* Ln08. *Pediococcus acidilactici* y *Lactobacillus plantarum* mostraron mayores efectos antimicrobianos contra este patógeno es condiciones de refrigeración (Patrovský et al., 2016). Aunque la Pediocina PA-1 es usado principalmente en productos cárnicos, también se estudia su aplicación en productos lácteos por su actividad antilisteriana y por ser estable en soluciones acuosas, en diferentes pH y temperaturas (Sobrino-López & Martín-Belloso, 2008).

Los postres son productos ricos en nutrientes, altamente perecederos y con una vida útil corta, lo que conlleva a posibles intoxicaciones alimentarias. La aplicación de bacteriocinas en estos productos como conservante no ha sido muy estudiada (Martínez Viedma et al., 2009) sin embargo, la Enterocina AS-48, que es producida por alimentos, principalmente leche y quesos (Grande Burgos et al., 2014), podría ser utilizada en la bioconservación de platos preparados y postres lácteos, para estos y productos de panadería el efecto bactericida se da contra una variedad de bacterias grampositivas y también contra algunas gramnegativas (Martínez Viedma et al., 2009), principalmente *S. aureus*, *B. cereus* y *L. monocytogenes*(Grande Burgos et al., 2017) y su acción bactericida mejora en combinación con agentes que dañan la membrana externa (Martínez Viedma et al., 2009). La inhibición por Enterocina AS-48 depende del sustrato alimentario; en los postres, la mayor inactivación de *S. aureus* se observó en las cremas de repostería (Grande Burgos et al., 2014), en estas la actividad antimicrobiana incrementó en combinación con Nisina (Grande Burgos et al., 2017). Aplicando esta bacteriocina, la población de estafilococos se redujo significativamente, sin embargo, no se eliminan por completo.

La *L. Monocytogenes*, en los postres a una temperatura ambiente requiere de más concentración de bacteriocina para reducir los recuentos. *S. aureus* es uno de los patógenos más resistente a las bacteriocinas y se requiere de altas concentraciones para reducir las poblaciones, asimismo, se evidenció que la Enterocina AS 48 es una buena opción para conservar una vida útil más prolongada de productos que se almacenen a temperatura ambiente (Martinez Viedma et al., 2009).

La Enterocina AS-48 también tuvo una fuerte actividad antiestafilocócica y de reducción de la población de bacilos en los quesos (Grande Burgos et al., 2014)

Sheoran & Tiwari, han estudiado la actividad antiestafilocócica de bacteriocinas de *Enterococcus hirae* LD3 y *Lactobacillus plantarum* LD4 aplicadas en la leche para inhibir el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, demostrando que ambas son eficaces en la destrucción de este patógeno (Sheoran & Tiwari, 2019), de la misma forma Bolívar Parra et al., en 2020 realizaron un estudio in vitro con una bacteriocina sintética que se encuentra en el genoma de *Lactobacillus casei* en quesito Antioqueño para evaluar su efecto en condiciones controladas, dando como resultado una disminución en el recuento de coliformes totales durante el tratamiento (Bolívar Parra et al., 2020). Estudios similares se realizaron del queso artesanal mexicano, del cual también se aislaron bacteriocinas producidas por cepas de *Lactobacillus fermentum* (Heredia-Castro et al., 2021).

Heredia-Castro et al., en 2021 evaluó la actividad antimicrobiana de estas bacteriocinas hallando que las fracciones que las contienen inhibieron el crecimiento de bacterias (gram positivas y gram negativas) “asociadas con la intoxicación alimentaria, como *E. coli*, *S. aureus*, *L. innocua* y *Salmonella Typhimurium*” (Heredia-Castro et al., 2021).

Nutsuda Sumonsiri en 2017, informó que “la bacteriocina de la cepa *Lactobacillus acidophilus* mostró una actividad antimicrobiana eficaz y extendió la vida útil de la leche pasteurizada durante el almacenamiento refrigerado” (Sumonsiri, 2017).

En otros estudios se ha demostrado que los microorganismos probióticos pueden intervenir en el comportamiento de la *L. monocytogenes* en los alimentos, debido a la producción de ácidos orgánicos, péptidos y bacteriocinas, siendo su mecanismo de inhibición bacteriostático, los postres lácteos son una matriz alimentaria que proporciona probióticos al cuerpo humano (Fernandes et al., 2013).

Como una alternativa antifúngica, se encuentra la natamicina que es un “macrólido polieno sintetizado por especies de *Streptomyces* con una actividad antifúngica que casi no tiene efecto sobre bacterias, protozoos y virus”. La natamicina no desarrolla resistencia en los hongos y se ha utilizado principalmente para controlar el crecimiento de levadura en quesos (Amiri et al., 2021) y en combinación con bacteriocinas puede tener un gran espectro de inhibición, puesto que atacaría tanto los microorganismos gram positivos, como gram negativos.

Además de su capacidad bioconservante, las bacteriocinas también tienen otras posibles aplicaciones que incluyen “acelerar el tiempo de maduración del queso y un mejor control de la fermentación” (Grande Burgos et al., 2017).

Análisis estadístico

Los artículos de investigación revisados para esta monografía fueron agrupados por bases de datos y año desde 2005 hasta 2023, esto con el fin de evaluar si había o no diferencias estadísticamente significativas entre la cantidad de publicaciones realizadas en péptidos antimicrobianos o bacteriocinas, en las diferentes bases de datos a lo largo del tiempo.

Los resultados mostrados en la Tabla 4 evidencian de acuerdo con el valor F, que no hubo diferencias estadísticamente significativas en las diferentes bases de datos revisadas, $p > 0,05$.

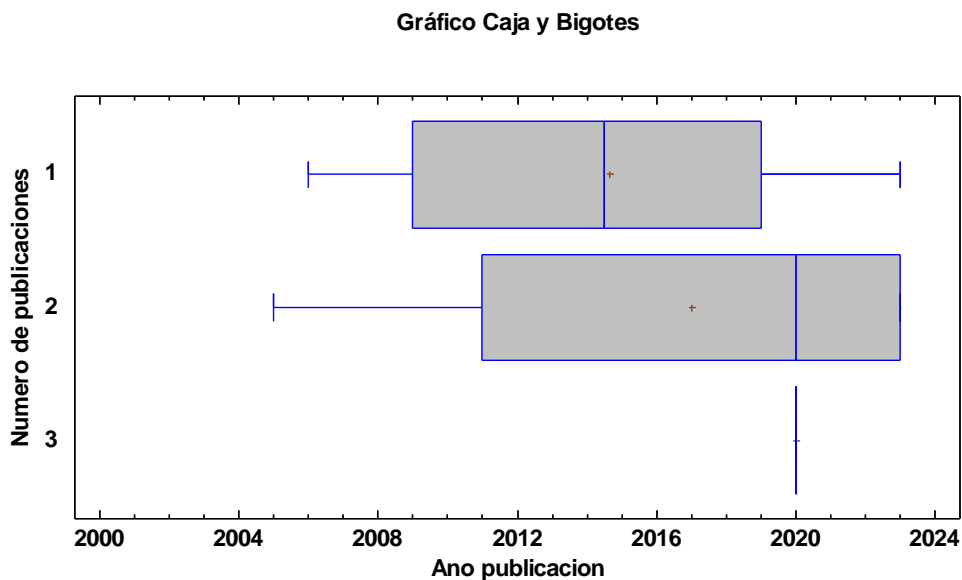
Tabla 4. ANOVA para año de publicación por bases de datos

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	185,364	7	26,4806	0,77	0,6152
Intra grupos	925,379	27	34,2733		
Total (Corr.)	1110,74	34			

Fuente: Elaboración de Luz Adriana Gutiérrez Ramírez, PhD. MSc. Bióloga

Así mismo, se evaluó por el grafico de bigotes (Ilustración 1) en qué años se aumentó más el número de publicaciones respecto al tema de bacteriocinas.

Ilustración 1. Dispersión por código de nivel



Fuente: Fuente: Elaboración de Luz Adriana Gutiérrez Ramírez, PhD. MSc. Bióloga

Los diferentes estadísticos de para cada uno de los 3 niveles de número de publicaciones. La intención principal del análisis de varianza de un factor es la de comparar las medias de los diferentes niveles, separándolos por cuartiles, el cuartil 2 es el que recupera el mayor número de publicaciones, observándose un marcado aumento a partir de 2008 y 2009, en donde se inicia las transformaciones alimentarias fuertes hacia el consumo de productos más naturales y con actividad funcional.

Conclusiones

El empleo de bacteriocinas en la industria alimenticia se vuelve cada vez más amplio, ya que tiene efecto bactericida contra varios microorganismos patógenos y alterantes del alimento, adicional que alargan la vida útil de los productos sin comprometer la salud del consumidor.

Las bacteriocinas tienen un rango de inhibición estrecho, por su modo de acción, por lo que es recomendable combinarlo con otras bacteriocinas o métodos de conservación para garantizar la calidad de los productos, también ocurre en el caso en que los microorganismos se vuelven resistentes a las bacteriocinas y hay que emplear estas mezclas para evitar dicha resistencia.

Se debe identificar los espectros de inhibición de las bacteriocinas para elegir la correcta en la aplicación a los alimentos.

La Nisina y Pediocina son las bacteriocinas aceptadas para su uso como bioconservante en alimentos.

Las bacteriocinas además de ser bioconservantes ayudan a la maduración y fermentación de productos lácteos.

Se están realizando investigaciones que ponen a las bacteriocinas como posibles reemplazos a los antibióticos para controlar microorganismos no deseados o resistentes, interviniendo en el cuidado oral y de la piel, infecciones respiratorias, gastrointestinales, del tracto urogenital y otras, además de la actividad antiviral.

Las BAL, también son usadas como probióticos, ya que reúnen ciertas características que les permiten interactuar con la microflora intestinal, inhibiendo el crecimiento de microorganismos patógenos y su uso como agente terapéutico, sin embargo, se requieren más estudios que demuestren su uso seguro.

Bibliografía

- AGUDELO LONDOÑO, N. (2013). *ESTADO DEL ARTE DE LA OBTENCIÓN DE BACTERIOCINAS A PARTIR DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS Y SU APLICACIÓN EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS*.
- Agudelo Londoño, N., Torres Taborda, M. M., Alvarez López, C., & Vélez Acosta, L. M. (2015). BACTERIOCINAS PRODUCIDAS POR BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS Y SU APLICACIÓN EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS. *Alimentos Hoy*, 23(36), 186–205.
- ALQUICIRA PAEZ, L. (2006). *DETERMINACIÓN DEL MECANISMO DE RESISTENCIA A LA ACCIÓN INHIBITORIA DE LA BACTERIOCINA PRODUCIDA POR *Pediococcus parvulus* MXVK 133*. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA UNIDAD IZTAPALAPA.
- Amiri, S., Moghanjoughi, Z. M., Bari, M. R., & Khaneghah, A. M. (2021). Natural protective agents and their applications as bio-preservatives in the food industry: An overview of current and future applications. *Italian Journal of Food Science*, 33(SP1), 55–68. <https://doi.org/10.15586/ijfs.v33iSP1.2045>
- Arbulu Ruiz, S. (2016). *Caracterización, diseño y producción recombinante de bacteriocinas y otros péptidos antimicrobianos, secuenciación genómica y efecto en la microbiota de péptidos bioactivos producidos por enterococos*. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID.
- Arencibia Rivero, T. (2009). *Aditivos alimentarios*.
- Bakar Diop, M., Dubois-Dauphin, R., Tine, E., Ngom, A., Destain, J., & Thonart, P. (2007). Bacteriocin producers from traditional food products. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 11(4), 275–281. <http://www>.

- Barboza-Corona, J. E., Vázquez-Acosta, H., Salcedo-Hernández, R., & Bautista-Justo, M. (2004). Probióticos y Conservadores Naturales en Alimentos. *ACTA UNIVERSITARIA*, 14(3).
- Bautista, A. G., & Barrado, A. G. (2023). Bacteriocinas como bioconservador alimentario: características generales y aplicación en alimentos. *PubSaúde*, 12, 1–9. <https://doi.org/10.31533/pubsaude12.a366>
- Beristain-Bauza, S. C., Mani-López, E., Palou, E., & López-Malo, A. (2016). Antimicrobial activity and physical properties of protein films added with cell-free supernatant of *Lactobacillus rhamnosus*. *Food Control*, 62, 44–51. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.10.007>
- Bolívar Parra, L., Giraldo Hincapié, P. A., & Montoya Campuzano, O. I. (2020). Antimicrobial activity of a synthetic bacteriocin found in the genome of *Lactobacillus casei* on the microbiota of antioquian soft cheese (Quesito antioqueño). *Vitae*, 27(1), 1–9. <https://doi.org/10.17533/udea.vitae.v27n1a02>
- Bukvicki, D., D'Alessandro, M., Rossi, S., Siroli, L., Gottardi, D., Braschi, G., Patrignani, F., & Lanciotti, R. (2023). Essential Oils and Their Combination with Lactic Acid Bacteria and Bacteriocins to Improve the Safety and Shelf Life of Foods: A Review. *Foods*, 12(17). <https://doi.org/10.3390/foods12173288>
- Cabeza Herrera, E. A. (2006). *Bacterias ácido-lácticas (BAL): aplicaciones como cultivos estarter para la industria láctea y cárnica 1*.
- Camargo, A. C., Todorov, S. D., Chihib, N. E., Drider, D., & Nero, L. A. (2018). Lactic Acid Bacteria (LAB) and Their Bacteriocins as Alternative Biotechnological Tools to Control *Listeria monocytogenes* Biofilms in Food Processing Facilities. *Molecular Biotechnology*, 60(9), 712–726. <https://doi.org/10.1007/s12033-018-0108-1>
- Campos Newman, J. A. (n.d.). *Nisina*. <http://www.raff.com.mx>

- Carlos Rodríguez-Figueroa, J., Antonio Noriega-Rodríguez, J., Lucero-Acuña, A., Tejada Mansir Doctor en Biotecnología, A., Politécnico Nacional México, I., & El Estudio De La Bioactividad Multifuncional Del Kéfir, A. E. (2017). *PALABRAS CLAVE / Alimento Funcional / Bioactividad Multifuncional / Kéfir / Lácteos*. 42(6).
- Castellanos-Rozo, J., Galvis López, J. A., Pérez Pulido, R., Grande Burgos, M. J., Lucas, R., & Gálvez, A. (2022). Las bacteriocinas y su efecto sinérgico con tecnologías emergentes en alimentos. *Revista Mutis*, 12(2). <https://doi.org/10.21789/22561498.1841>
- Cé, N., Noreña, C. P. Z., & Brandelli, A. (2012). Antimicrobial activity of chitosan films containing nisin, peptide P34, and natamycin. *CYTA - Journal of Food*, 10(1), 21–26. <https://doi.org/10.1080/19476337.2010.537371>
- Costas Malvido, M. (2019). *Producción de biomasa probiótica y nisina por Lactococcus Lactis subsp. Lactis CECT 539*. Universidad de Vigo.
- De La, N. M., Salcido, F., Eleazar, J., & Corona, B. (2010). *Inocuidad y bioconservación de alimentos CIENCIAS DE LA SALUD* (Vol. 20, Issue 1). Enero-Abril. www.madrimasd.org/biotecnologia
- Eghbal, N., Viton, C., & Gharsallaoui, A. (2022). Nano and microencapsulation of bacteriocins for food applications: A review. *Food Bioscience*, 50. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.102173>
- Fernandes, M. S., Cruz, A. G., Dias Arroyo, D. M., Faria, J. de A. F., Cristianini, M., & Sant'Ana, A. S. (2013). On the behavior of *Listeria innocua* and *Lactobacillus acidophilus* co-inoculated in a dairy dessert and the potential impacts on food safety and product's functionality. *Food Control*, 34(2), 331–335. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.04.040>
- Fernández Villa, K. J., Chanci Echeverri, I. C., Wilches López, L., & Cardona Arias, J. A. (2014). CHARACTERIZATION OF METABOLITES OF LACTIC ACID

BACTERIA AND INHIBITORY EFFECT OF BACTERIOCINS ON PATHOGENIC MICROORGANISMS IN FOODS: A SYSTEMATIC LITERATURE REVIEW. *Revista Biosalud*, 13(1), 47–63.

Gamiño-Arroyo, A. E., Barrios-Ceballos, M. P., Cárdenas De La Peña, L. P., Anaya-Velázquez, F., & Padilla-Vaca, F. (2005). Flora Normal, Probióticos y Salud Humana. *Acta Universitaria*, 15(3), 34–40.

Grande Burgos, M. J., Pérez Pulido, R., Cobo Molino, A., Lucas, R., & Gálvez, A. (2017). BIOCONSERVACIÓN DE ALIMENTOS LÁCTEOS. *Anales*, 30(1).

Grande Burgos, M. J., Pérez Pulido, R., López Aguayo, M. del C., Gálvez, A., & Lucas, R. (2014). The cyclic antibacterial peptide enterocin AS-48: Isolation, mode of action, and possible food applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(12), 22706–22727. <https://doi.org/10.3390/ijms151222706>

HEREDIA CASTRO, P. Y., HÉRNÁNDEZ MENDOZA, A., GONZÁLEZ CÓRDOVA, A. F., & VALLEJO CORDOBA, B. (2017). Bacteriocinas de bacterias ácido-lácticas: mecanismos de acción y actividad antimicrobiana contra patógenos en quesos. *Interciencia*, 42(6), 340–346.

Heredia-Castro, P. Y., Reyes-Díaz, R., Rendón-Rosales, M. Á., Beltrán-Barrientos, L. M., Torres-Llenez, M. J., Estrada-Montoya, M. C., Hernández-Mendoza, A., González-Córdova, A. F., & Vallejo-Cordoba, B. (2021). Novel bacteriocins produced by *Lactobacillus fermentum* strains with bacteriostatic effects in milk against selected indicator microorganisms. *Journal of Dairy Science*, 104(4), 4033–4043. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19531>

Ibáñez, F. C., Torre, P., & Irigoyen, A. (2003). *Aditivos alimentarios*.

Ibarra-Sánchez, L. A., El-Haddad, N., Mahmoud, D., Miller, M. J., & Karam, L. (2020). Invited review: Advances in nisin use for preservation of dairy products. *Journal of Dairy Science*, 103(3), 2041–2052. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17498>

- Jaramillo Giraldo, D. (2009). *EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE BÁCTERIAS A PARTIR DE LACTOBACILLUS Y BIFIDOBACTERIAS*. Universidad de los Andes.
- Kumar, M., Jain, A. K., Ghosh, M., & Ganguli, A. (2014). Characterization and Optimization of an Anti-Aeromonas Bacteriocin Produced by *Lactococcus lactis* Isolated from Hukuti Maas an Indigenous Fermented Fish Product. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(3), 935–947.
- Liu, A., Xu, R., Zhang, S., Wang, Y., Hu, B., Ao, X., Li, Q., Li, J., Hu, K., Yang, Y., & Liu, S. (2022). Antifungal Mechanisms and Application of Lactic Acid Bacteria in Bakery Products: A Review. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 13). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.924398>
- LÓPEZ AGUAYO, M. D. C. (2017). *APLICACIÓN DE BACTERIOCINAS PARA LA BIOPROTECCIÓN DE ALIMENTOS*. UNIVERSIDAD DE JAÉN.
- López-Mendoza, J., Adriano-Anaya, L., Gálvez-López, D., & Vázquez-Ovando, A. (2023). Bioactive compounds in cheeses: biosynthesis, biological activity, and contribution of lactic acid bacteria. *Agronomia Mesoamericana*, 34(2). <https://doi.org/10.15517/am.v34i2.51432>
- Martinez Viedma, P., Abriouel, H., Omar, N. Ben, Lopez, R. L., Valdivia, E., & Galvez, A. (2009). Assay of Enterocin AS-48 for Inhibition of Foodborne Pathogens in Desserts. *Journal of Food Protection*, 72(8), 1654–1659.
- Meral Aktaş, H., Erdoğan, A., & Çetin, B. (2023). Bacteriocin characterization of autochthonous *Lactococcus lactis* L54 and its application as starter culture for Beyaz cheese. *Food Bioscience*, 53, 102739. <https://doi.org/10.1016/J.FBIO.2023.102739>
- Mirhosseini, M., Nahvi, I., Emtiazi, G., & Tavassoli, M. (2010). Characterisation of anti-*Listeria monocytogenes* bacteriocins from *Enterococcus faecium* strains

isolated from dairy products. *International Journal of Dairy Technology*, 63(1), 55–61. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2009.00543.x>

Mondragón Preciado, G., Escalante Minakata, P., Osuna Castro, J. A., Ibarra Junquera, V., Morlett Chávez, J. A., Aguilar González, C. N., & Rodríguez Herrera, R. (2013). Bacteriocinas: características y aplicación en alimentos. *Investigación y Ciencia*, 21(59), 64–70.

OLIVARES TENORIO, M. L., & KLOTZ CEBERIO, B. (2020). Evaluación del efecto antifúngico de metabolitos de cultivos bioprotectores: aplicación en derivados lácteos. *Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 18(2), 15–25. [https://doi.org/10.18684/bsaa\(18\)15-25](https://doi.org/10.18684/bsaa(18)15-25)

PARRA HUERTAS, R. A. (2010). Review: Bacterias ácido lácticas: papel funcional de los alimentos. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 8(1), 93–105.

Patrovský, M., Kouřimská, L., Havlíková, Š., Marková, J., Pechar, R., & Rada, V. (2016). Utilization of bacteriocin-producing bacteria in dairy products. *Mljekarstvo*, 66(3), 215–224. <https://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2016.0306>

Perez, R. H., Zendo, T., Sonomoto, K., Vuyst, L. De, Leroy, F., Cleveland, J., Montville, T., Nes, I., Chikindas, M., Kemperman, R., Kuipers, A., Karsens, H., Nauta, A., Kuipers, O., Kok, J., Kemperman, R., Jonker, M., Nauta, A., Kuipers, O., ... Sonomoto, K. (2014). Novel bacteriocins from lactic acid bacteria (LAB): various structures and applications. *Microbial Cell Factories*, 13(Suppl 1), S3. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-13-S1-S3>

Pramparo, R. del P. (2018). *Actividad antimicrobiana in vitro y caracterización de metabolitos secundarios producidos por cepas de Lactococcus, Pediococcus y Leuconostoc aisladas de residuos de cervecera* [TEBAJO FINAL DE GRADO]. Universidad Nacional de Río Cuarto.

- Ramirez, L. S., & Marin Castaño, D. (2009). METODOLOGIAS PARA EVALUAR IN VITRO LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE COMPUESTOS DE ORIGEN VEGETAL. *Scientia et Technica Año XV*, 42, 263–268.
- Ramos De Melo, N., Ferreira Soares, N. de F., & Junqueira C. Gonçalves, M. P. (2005). NISINA: UM CONSERVANTE NATURAL PARA ALIMENTOS. *Revista Ceres*, 52(303), 921–938.
- Rojas, C., & Vargas, P. (2008). Bacteriocinas: sustituto de preservantes tradicionales en la industria alimentaria. *Tecnología En Marcha*, 21(2), 9–16.
- Romero-Machado, E., & Héctor-Ardisana, E. (2016). Efecto de la nisina sobre la conservación del helado tipo italiano. *Revista Ciencia Unem*, 9(20), 93–99.
- Sánchez, B., Urdaci, M. C., & Margolles, A. (2010). Extracellular proteins secreted by probiotic bacteria as mediators of effects that promote mucosa-bacteria interactions. In *Microbiology* (Vol. 156, Issue 11, pp. 3232–3242).
- Sheoran, P., & Tiwari, S. K. (2019). Anti-staphylococcal activity of bacteriocins of food isolates *Enterococcus hirae* LD3 and *Lactobacillus plantarum* LD4 in pasteurized milk. *3 Biotech*, 9(1). <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1546-y>
- Sobrino-López, A., & Martín-Belloso, O. (2008). Use of nisin and other bacteriocins for preservation of dairy products. In *International Dairy Journal* (Vol. 18, Issue 4, pp. 329–343). <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2007.11.009>
- Sumonsiri, N. (2017). EFFECT OF NISIN ON QUALITIES OF MILK PUDDING WITH FRUIT COCKTAIL DURING REFRIGERATED STORAGE. *CARPATHIAN JOURNAL OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY*, 9(3), 38–45. http://chimie-biologie.ubm.ro/carpathian_journal/index.html
- Tâm, T., Và, N. C. Ú U., Giao, C. Ê N., Ngh, C., & Chu, Ả N B Ụ I. (2016). 濟無No Title No Title No Title. *01(Atcc 29212)*, 1–23.

- Teso Pérez, C. (2023). *BASES BIOLÓGICAS DE LOS PATRONES DE PRODUCCIÓN Y RESISTENCIA DE PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS (BACTERIOCINAS)* [Universidad de Granada]. <https://hdl.handle.net/10481/84443>
- Vélez Zea, J. M., Gutiérrez Ramírez, L. A., & Montoya Campuzano, O. I. (2015). Evaluación de la Actividad Bactericida de Bacterias Ácido-Lácticas Aisladas en Calostro de Cerdas Frente a *Salmonella typhimurium*. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 68(1), 7481–7486. <https://doi.org/10.15446/rfnam.v68n1.47834>
- Wee, S., Lay Chua, S., Yu, D., Peng Koh, S., Meng Lee, K., Wu, Y., & Harn Chan, S. (2023). *The detection, characterization, and quantification of dominant degradation products of nisin A and Z in selected dairy products by liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry technique.*
- Yap, P. G., Lai, Z. W., & Tan, J. S. (2022). Bacteriocins from lactic acid bacteria: purification strategies and applications in food and medical industries: a review. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 11(1), 1–18. <https://doi.org/10.1186/s43088-022-00227-x>
- Zhang, Y. M., Yang, L. Y., Ying, J. P., Fu, C. M., Wu, G., Li, X. R., & Zhang, Q. L. (2023). A novel bacteriocin RSQ01 with antibacterial activity and its application and metabolomic mechanism in milk preservation. *Food Control*, 151. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.109823>