Rojas, Carolina, Vargas, Pedro.
Bacteriocinas: sustituto de preservantes tradicionales en la industria alimentaria
Tecnología en Marcha, ***Vol. 21-2, Abril-Junio 2008, P. 9-16***

Bacteriocinas: sustituto de preservantes tradicionales en la industria alimentaria

Fecha de recepción: 22/03/2007
Fecha de aceptación:20/09/2007

Carolina Rojas[1]
Pedro Vargas[2]

Durante los últimos años, el consumidor se ha vuelto más exigente en cuanto a calidad y expectativas de un producto saludable y fresco. Para satisfacer al consumidor es necesario investigar y encontrar opciones que permitan obtener alimentos que ofrezcan características interesantes, como es el caso de alimentos donde la tendencia es eliminar el uso de preservantes y obtener productos más naturales.

Palabras clave

Bacteriocinas, actividad antimicrobiana, biosíntesis, péptidos antimicrobianos.

Key words

Bacteriocins, microbiology activity, biosynthesis, peptides anti microorganism.

Resumen

Durante los últimos años, el consumidor se ha vuelto más exigente en cuanto a calidad y expectativas de un producto saludable y fresco. Para satisfacer al consumidor es necesario investigar y encontrar opciones que permitan obtener alimentos que ofrezcan características interesantes, como es el caso de alimentos donde la tendencia es eliminar el uso de preservantes y obtener productos más naturales. Las bacteriocinas han atraído la atención como sustituto potencial de compuestos preservantes porque son producidas por bacterias consideradas benéficas para la salud y en la producción de alimentos. Estos compuestos purificados o semipurificados pueden ser utilizados como biopreservantes en alimentos para la reducción o eliminación de ciertos microorganismos de deterioro y algunos patógenos como *Listeria monocytogenes*. (Joerger, 2003; Ogunbanwo et al, 2003).

La presencia de las bacterias productoras de bacteriocinas pueden ser un componente de la flora natural o añadido como cultivo iniciador (Svetoslav *et al*, 2004).

Sin embargo, mucho del trabajo realizado hasta ahora se ha centrado en el estudio de bacteriocinas producidas por bacterias lácticas LAB, debido a su amplia aplicación en productos lácteos y fermentados (Visan et al, 2005) y se cree que su aplicación podría ser, de manera general, en la industria alimentaria. Debido a este factor no claro aún, se pretende con este trabajo explicar qué son las bacteriocinas, cómo actúan y si se tiene claro el concepto correcto de la aplicación de estos compuestos en la industria alimentaria para llegar a ser

1. Carolina Rojas. Posgrado en Ciencias de Alimentos, Universidad de Costa Rica. San Pedro. Tel: (506) 2207-3462. Correo electrónico: *crojas@cita.ucr.ac.cr*
2. Pedro Vargas. Escuela de Tecnología de Alimentos, Universidad de Costa Rica. San Pedro. Tel: (506) 2207-3469. Correo electrónico: *p.vargas@ucr.ac.cr*

la alternativa que permita sustituir los preservantes por compuestos naturales.

Abstract

Every day consumers are more demanding about food quality they eat. To satisfy consumers more research has to be done in order to give them different options. Lately, the trend is to eliminate food additives and give consumers more natural products. The bacteriosins are potential substitutes of food additives since they can control certain spoil and pathogenic microorganisms. They are produced by health benefit bacteria and they can be part of regular human intestinal flora. Although, most studies have been done with lactic bacteria. This purified or semi purified compound could be used as bio - preservatives in foods to eliminate o reduce the microbiological charge as *Listeria monocytogenes*.

La frescura ha sido identificada como el factor más importante en la preservación de los alimentos: este concepto no es compatible con el uso de preservantes químicos (Rodgers, 2001). Debido a un mercado cada vez más exigente se hace necesario encontrar alternativas que permita cumplir con las expectativas del consumidor.

Introducción

La frescura ha sido identificada como el factor más importante en la preservación de los alimentos: este concepto no es compatible con el uso de preservantes químicos (Rodgers, 2001). Debido a un mercado cada vez más exigente se hace necesario encontrar alternativas que permita cumplir con las expectativas del consumidor.

La última tendencia del mercado es la combinación sinergética de factores preservantes que incluye biopreservantes como bacteriocinas, los cuales extienden la vida útil y aumentan la seguridad de los alimentos usando componentes naturales y controlados (Rodgers, 2001).

Debido a ello, recientemente, se ha dado mucha atención a entender las propiedades de las bacteriocinas producidas por algunas bacterias, por la posibilidad de minimizar o eliminar el uso de preservantes químicos que pueden ser un riesgo para la salud humana (Elegado et al, 2004).

En la actualidad, un gran número de bacteriocinas han sido identificadas y caracterizadas en distintos grupos de acuerdo con su peso molecular y estabilidad al calor, mostrando un amplio o reducido campo de acción antimicrobiano (Cintas *et al*, 2001), según su medio.

El campo de acción de estas bacteriocinas, ha sido estudiado en productos donde hay uso de bacterias lácticas en los procesos de producción, dejando un amplio escenario de alimentos sin evaluar la posibilidad del uso de bacteriocinas como preservante natural y lograr la sustitución de componentes químicos.

Las bacterias lácticas son generalmente reconocidas como GRAS, por su siglas en inglés (Generally recognized as safe) y tiene un papel importante en la preservación y fermentación de alimentos, además de mejorar la calidad higiénica en alimentos por inhibir la flora competitiva la cual incluye patógenos (Cintas *et al*, 2001).

Algunas de las bacteriocinas son producidas durante la fermentación. La bacteria es el cultivo iniciador, a pesar de que la principal causa de preservación de un producto fermentado es la reducción de pH por la formación de ácidos, las bacteriocinas juegan un papel importante como factor de preservación de los productos fermentados (Ogunbanwo *et al*, 2003), al evidenciar su acción ante bacterias no solo Gram-Positivas comolo indican algunos autores como Bizani et al (2005), sino también bacterias Gram-Negativas

Suplementar el alimento o el medio con nutrientes adicionales como levadura, incrementa en gran proporción la cantidad de bacteriocina producida (Ogunbanwo *et al*, 2003), lo que permite pensar en la posibilidad de extracción de estos productos para la posterior aplicación en la industria alimentaria.

La producción máxima de bacteriocinas puede obtenerse suplementando un medio de cultivo con factores limitantes de crecimiento como azúcares, vitaminas y fuentes de nitrógeno, regulando el pH y eligiendo las mejores condiciones del medio (Ogunbanwo *et al*, 2003) para aumentar la eficiencia del proceso.

Es de acuerdo con el tipo de alimento que se pretende preservar con bacteriocinas, que deberá ser su almacenamiento, para lograr que todos los efectos en conjunto permitan la aplicación efectiva de estos biopreservantes, lo que podría requerir de la combinación con otros métodos de conservación como la refrigeración, un método utilizado para extender la vida útil de alimentos perecederos con lácteos y carnes, siendo la *Listeria monocytogenes* y *Pseudomonas* ejemplos importantes de microorganismos que causan deterioro en refrigeración y que deben controlarse (Rodgers, 2001).

Es de acuerdo con el tipo de alimento que se pretende preservar con bacteriocinas, que deberá ser su almacenamiento, para lograr que todos los efectos en conjunto permitan la aplicación efectiva de estos biopreservantes, lo que podría requerir de la combinación con otros métodos de conservación como la refrigeración, un método utilizado para extender la vida útil de alimentos perecederos con lácteos y carnes, siendo la Listeria monocytogenes y Pseudomonas ejemplos importantes de microorganismos que causan deterioro en refrigeración y que deben controlarse (Rodgers, 2001).

Teniendo claro todos los factores involucrados, la caracterización genética es necesaria previa a la aplicación comercial (Elegado *et al*, 2005) e identificar el gen codificante de la bacteriocina, lo que permite establecer las condiciones necesarias para la aplicación efectiva de estos productos.

Fimland *et al* (1996) muestran en su estudio, la secuencia de aminoácidos para varias bacteriocinas, lo cual permite caracterizar y conocer el porqué del comportamiento diferente entre bacteriocinas o inclusive de una misma bacteriocina a distintos microorganismos.

Modo de acción de las bacteriocinas

Las bacteriocinas son un grupo heterogéneo de péptidos sintetizados en el ribosoma con mas de 60 aminoácidos y pueden ser péptidos de moléculas elongadas o péptidos de moléculas globulares con un amplio rango de peso molecular (Fimland *et al,* 1996).

Estas pueden clasificarse en tres grupos: Clase I: lantibióticas, con poca estabilidad al calor, péptidos poli cíclicos (< 5 KDa) con aminoácidos modificados. Clase II: pequeñas (<10 KDa) no – lantibióticas estables al calor. Clase III: moléculas grandes (>10 KDa) e inestables al calor (Cintas *et al*, 2001). Considerando la diferencia en peso molecular se entiende que cada bacteriocina es diferente y que su uso en la industria alimentaria como preservante, depende del microorganismo de deterioro o patógeno que se desea controlar.

Muchas bacteriocinas actúan en células sensibles, desestabilizan y permeabilizan la membrana citoplasmática por medio de la formación de poros transitorios o canales iónicos que causan la disipación o reducción de la fuerza motriz de la célula debido a la interacción con polímeros aniónicos que constituyen la pared celular (Grande *et al,* 2005).

La composición y distribución de los fosfolípidos de la membrana celular influye en la eficiencia de la asociación de la bacteriocina con el citoplasma, su incersión y la formación del poro, es por este fenómeno que se debe la resistencia de los microorganismos a las bacteriocinas (Cintas *et al*, 2001).

La actividad antibacteriana se pronuncia en la fase logarítmica temprana y la fase estacionaria (Ogunbanwo *et al,* 2003) por lo que a la hora de aplicar las bacteriocinas a un alimento a partir de un cultivo iniciador o para su purificación, es importante considerar que, según Pal *et al* (2005), las etapas de velocidad máxima de producción de la bacteriocina es la fase log, con el fin de aumentar la efectividad del proceso de acción de estos compuestos ante microorganismos de deterioro o patógenos importantes.

Las bacterias productoras de bacteriocinas se autoprotegen de la toxicidad de estos

compuestos mediante la expresión de una proteína de inmunidad específica codificada normalmente en el mismo operón de la bacteriocina, todo esto regulado por un sistema de transducción de señal de tres componentes (Cintas *et al*, 2001). Así, la bacteria puede seguir reproduciéndose y liberando más compuestos biopreservantes en el alimento, lo cual da estabilidad al producto y logra periodos de vida útil amplios.

La principal causa del efecto antimicrobianos de las bacterias es debido a la producción de ácidos orgánicos que provocan una reducción del pH y producción de otros compuestos antimicrobianos como las bacteriocinas (Cintas *et al*, 2001),

Además, las bacteriocinas pueden ejercer un efecto sinergético con tratamientos como presiones hidrostáticas (HP), los cuales en combinación son efectivos para el control de bacterias Gram -Negativas y Gram-Positivas, esto debido a causa del daño en la membrana y en la pared celular (Kalchayanand et al, 2003).

Según Cintas *et al, (*2001), *e*l uso de mezclas de bacteriocinas reduce la frecuencia con la que los microorganismos desarrollan resistencia. Esto evidencia la necesidad de realizar investigaciones sobre la acción y la mejor mezcla de bacteriocinas, con el mayor espectro de acción posible tanto a nivel de variedad de microorganismos como a nivel de tipos de productos alimenticios.

Otro aspecto importante en la acción de las bacteriocinas es la presencia de iones como Mg^{+2}, Ca^{+2} y Gd^{+2}, los cuales neutralizan la carga negativa de los fosfolípidos. Esto induce a una condensación fosfolipídica que incrementa la rigidez de la membrana citoplasmática evitando la acción antimicrobiana de la bacteriocina (Rodgers, 2001).

La membrana externa de las bacterias Gram-Negativas, contiene lipolisacáridos y no fosfolípidos, que actúan como una barrera permeable contra macromoléculas y solutos hidrofobitos como las bacteriocinas (Rodgers, 2001), esto las hace más resistentes y tiende a que los investigadores manifiesten que las bacteriocinas ejercen su acción ante bacterias Gram-Positivas. Sin embargo, Elegado *et al* (2004), encuentran en su estudio sobre el espectro de acción de *Lactobacillus plantarum* BS que la bacteriocina de esta bacteria láctica puede actuar ante bacterias Gram-Negativas. Esto permite considerar la acción de las bacteriocinas ante un espectro más grande de microorganismos de deterioro presente en la industria alimentaria. Sumado a lo descrito por Ogunbanwo *et al* (2003) que describen la producción de las bacteriocinas por Gram-Negativas y Gram-Positivas.

La inactivación de bacterias Gram-Negativas puede aumentarse con la adición de quelantes, los cuales hacen permeable la membrana a las bacteriocinas (Rodgers, 2001).

El espectro de acción reducido es cuando su efecto se confina hacia especies relacionadas con el ambiente de la bacteria productora de bacteriocina (Joeger, 2003).

Por otro lado, Bizani *et al* (2005) demuestra en su estudio que el número de células viables decrece conforme aumenta la concentración de bacteriocina, por ello es importante determinar la concentración a la cual la bacteriocina será efectiva ante el control de crecimiento microbiano en la industria alimenticia.

Además, las bacteriocinas pueden ejercer un efecto sinergético con tratamientos como presiones hidrostáticas (HP), los cuales en combinación son efectivos para el control de bacterias Gram-Negativas y Gram-Positivas, esto debido a causa del daño en la membrana y en la pared celular (Kalchayanand *et al*, 2003).

La actividad de las bacteriocinas en alimentos está altamente influenciada por diferentes factores como composición de los alimentos, interacción con los componentes, estabilidad de la bacteriocina, pH, temperatura de almacenamiento (Grande *et al*, 2006), por ello es muy importante identificar la bacteriocina que realmente puede ejercer un efecto preservante en un alimento y las

condiciones bajo las cuales puede tener actividad antimicrobiana.

Elementos de efectividad

El cultivo de estas bacterias denominado "cultivo protector" debe sobrevivir en productos en refrigeración y capaz de crecer y ejercer un efecto antagónico a las temperaturas deseadas, si el producto se va a someter a cocción, se debe considerar la resistencia al calor del "cultivo protector" (Rodgers, 2001). La producción de bacteriocinas y su actividad depende de la temperatura de incubación, considerando, además, la sensibilidad al calor de los microorganismos de deterioro o patógenos que se desea controlar.

La composición y estructura del alimento tiene un significativo efecto dinámico y factores de interacción importantes, los ingredientes presentes puede favorecer o inhibir la acción de la bacteriocina como la glucosa o ácidos. Un pH bajo puede favorecer la producción de bacteriocinas e incrementar su actividad (Elegado et al, 2005).

Otro elemento importante en la efectividad del efecto antimicrobiano de la bacteriocina, es el tamaño de inoculación que impacta no solo la velocidad de desarrollo de los factores preservantes, sino la calidad sensorial del producto y el costo–efectividad del método. Este tamaño depende a la vez del medio en el cual se inocula, la etapa del microorganismo de deterioro y patógenos y la identidad del cultivo protector.

La composición y estructura del alimento tiene un significativo efecto dinámico y factores de interacción importantes, los ingredientes presentes puede favorecer o inhibir la acción de la bacteriocina como la glucosa o ácidos. Un pH bajo puede favorecer la producción de bacteriocinas e incrementar su actividad (Elegado *et al,* 2005).

La estructura del alimento ejerce un efecto dinámico en el crecimiento de las bacterias y la difusión de las sustancias inhibitorias. Las bacteriocinas no son específicas, pueden actuar sobre varias especies (Bizani *et al*, 2005). Se ha visto para algunas bacteriocinas (Delves-Broughton, 2006) que los componentes de los alimentos protegen la bacteriocina durante procesos de calor. Esto permite controlar una amplia flora de deterioro y no necesitar de una bacteriocina por microorganismo.

Importante es la optimización de la concentración de bacteriocina para el control efectivo de bacterias patógenas durante la preservación de los alimentos (Elegado *et al*, 2005) una concentración muy baja puede tener efecto antimicrobiano al inicio de la inoculación, pero que decaería rápidamente, lo cual impide tener periodos de vida útil importantes.

La diferencia en el modo de acción de una bacteriocina y su efectividad depende de la presencia de 2 cisternas en la sección N- Terminal de la cadena de aminoácidos (Fimland, 2005).

Las bacteriocinas ejercen su poder antimicrobiano ante microorganismos relacionados o presentes en su ambiente (Grande *et al,* 2006), esto hace que los microorganismos de deterioro o patógenos puedan presentar distintos comportamientos ante la presencia de la bacteriocina.

Algunos microorganismos pueden ser sensibles; mientras que, otros, son resistentes a la acción de las bacteriocinas, inclusive una cepa que parece ser sensible puede tener células que presenten resistencia a la acción de la bacteriocina, De estos mismos microorganismos algunos pueden ser sensible a una bacteriocina y resistentes a otra, las mismas bacterias productoras de bacteriocinas pueden ser sensibles a la acción de otra bacteriocina y por último, células de esporas que presentan resistencia a la bacteriocina, pueden volverse sensibles después de la esporulación (Cintas *et al*, 2001).

El campo de acción de las bacteriocinas se relaciona con el contenido de cistina y, de acuerdo con ello, se establecen tres grupos: (i) bacteriocinas con un estrecho rango de acción, restringido a microorganismos de la misma especie; (ii) bacteriocinas con un rango intermedio que inhibe bacterias lácticas y algunas bacterias

Gram-Positivas; y (iii) bacteriocinas con amplio rango de acción, las cuales inhiben una amplia variedad de Gram-Positivas (Cintas *et al*, 2001).

Métodos de purificación

Las bacteriocinas pueden ser utilizadas como preservante de manera purificada o semipurificada

El primer paso que se requiere para la purificación de las bacteriocinas se refiere a la concentración del supernadante, asumiendo un proceso de producción de bacteriocinas optimizado (Svetoslav *et al,* 2004). Algunas de ellas se encuentran en agregados moleculares, induciendo a errores en la determinación del peso molecular de la bacteriocina. Estas macromoléculas se disgregan usando agentes que disocian las macromeéculas, ultra filtración o eliminando material lipídico por la extracción con metanol – cloroformo o etanol – dietil eter.

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 (Cintas et al, 2001).

Una vez que las bacteriocinas del supernadante, pueden ser concentradas de acuerdo con su tamaño: (i) filtración; (ii) precipitación con sales de sulfito de amonio; y (iii) extracción con solventes orgánicos como butanol y etanol (Svetoslav *et al*, 2004).

La concertación permite reducir el volumen y recobrar las bacteriocinas del líquidos supernadante aunque no es muy selectivo, para obtener una alta pureza es necesario realizar su separación de otro compuestos proteínicos con técnicas basadas en sus características fisicoquímicas (Casaus, 1998).

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 (Cintas *et al*, 2001).

Se han desarrollado otros métodos con separaciones por cromatografía y de acuerdo al pH del medio donde logran una total liberación o absorción de la bacteriocinas dentro de la célula. El método más común utilizado es la precipitación con sulfato de amonio seguido de una cromatografía HPLC (Svetoslav *et al,* 2004).

Importancia de las bacteriocinas en la industria alimentaria

La nueva generación de productos mínimamente procesados al vacío y empacados en atmósferas modificadas MAP (Modified Atmosphere Packed) están ganando popularidad, siendo un sector del mercado muy dinámico.

Estos productos pueden ser reformulados o se puede rediseñar el proceso para asegurar el crecimiento de las especies productoras de bacteriocinas (Fimland, 1996).

Las bacteriocinas sintéticas son más estables e inclusive, de 10 a 1000 veces más potente, debido a la ausencia de contaminantes como las proteasas; sin embargo, algunas pierden actividad después de meses de almacenamiento (Fimland, 1996).

Pueden ser sintetizadas a partir del reconocimiento de su secuencia de aminoácidos y, así, determinar la actividad especifica de la bacteriocina o sabiendo su comercialización.

Su purificación es relativamente fácil, y resulta en algunas bacteriocinas con más de 90% de pureza (Fimland, 2005). Esta es una alternativa ante la purificación de la bacteriocina producida por la bacteria, lo cual requiere de mucho tiempo debido a la baja cantidad producida por el microorganismo.

La bacteriocina más conocida del grupo I es la nisina, producida por especies de *Lactococcus lactis lactis*, la cual tiene un amplio espectro de actividad antimicrobiana hacia las bacterias Gram-

Positivas, incluyendo *Staphilococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*. Esta bacteriocina previene la esporulación y células vegetativas de *Bacillus spp* y *Clostridium spp*. Su aplicación ha sido muy estudiada y ya ha sido aceptada como preservante ante FDA – Codex Alimentarius.

Algunos productos en los cuales se ha implementado el uso de bacteriocinas, específicamente la nisina, son especialmente productos lácteos como el queso Gouda y queso Emmenthal donde la nisina inhibe el crecimiento de Cl. Butyricum y Cl. Tyrobutyricum. En el yogurt se da una inhibición del cultivo iniciador *Lactobacillus delbrueckii, bulgaricus y Strptococcus thermophilus* por la nisina (Delves-Broughton, 2006) por lo que se comprueba que no cualquier bacteriocina puede ser aplicada como preservante en alimentos.

En productos marítimos, retoma importancia debido a que, tanto en empaque al vacío como en atmósfera modificada tienen un alto riesgo de botulinum, el uso de bacteriocinas ha demostrado ser efectivo en productos como langosta en el control de Listeria monocytogenes (Delves-Broughton, 2006).

Otra aplicación de bacteriocinas es en alimentos enlatados como hongos, maíz, zanahoria, para el control de termófilos esporulados, por ser productos de baja acidez que reciben un tratamiento térmico mínimo (Delves-Broughton, 2006).

Para alimentos cárnicos, las bacteriocinas pueden llegar a sustituir el uso de nitritos, sin embargo es necesario determinar la bacteriocina adecuada que no requiera de una elevada concentración de aplicación.

En productos marítimos, retoma importancia debido a que, tanto en empaque al vacío como en atmósfera modificada tienen un alto riesgo de botulinum, el uso de bacteriocinas ha demostrado ser efectivo en productos como langosta en el control de *Listeria monocytogenes* (Delves-Broughton, 2006).

En alimentos producidos a base de arroz es importante controlar la presencia de *Bacillus cereus*, bacteria capaz de producir dos tipos de desórdenes gastrointestinales: uno de vómito causado por la ingestión de una toxina preformada en el alimento, y el síndrome diarréico causado por una toxina diferente que puede ser producida en el alimento o en el intestino delgado (Grande et al, 2006). También pueden verse implicados con esta bacteria productos de carne, leche, salsas y postres. En este tipo de productos, la enterocina resulta ser una bacteriocina apropiada para el control de *B. cereus*, ya que en estudios realizados por Grande et al (2006), se demuestra su estabilidad y efectividad a distintas temperaturas de almacenamiento, iniciando con un 90% de actividad y luego de 14 días presenta una actividad de 71% en muestras almacenadas a 6 ˚C. Al inocular estas muestras con *B. cereus*, se refleja una rápida reducción del recuento de bacterias en tan solo 8 horas.

Otro alimento en el que se ha evidenciado el efecto de una bacteriocina como enterocin, es el descrito por Grande *et al* (2005), donde evidencia el control de *Alicyclobacillus acidoterrestris* en jugo de frutas como manzana, pera, naranja y uvas obtenido una estabilidad hasta de 14 días a temperatura de 37 ˚C (Grande *et al*, 2005).

Conclusiones

A pesar de que todos los esfuerzos han sido hacia un grupo reducido de bacterias productoras de bacteriocinas, específicamente LAB, se pueden reforzar investigaciones para demostrar que la producción de bacteriocinas es una cualidad no solo de bacterias lácticas y que con estudio se puede determinar los factores importantes en el producto alimenticio y en la bacteriocina para lograr la aplicación de estas de manera exitosa y ser el sustituto de preservantes químicos a un futuro cercano.

Bibliografía

Bizani, D., Motta, A., Morrissy, Terra, R., Souto, A & Brandelli, A. 2005. Antibacterial activity of cerein 8A, a bacteriocin-like peptide produced by *Bacillus cereus*. International

Microbiology. 8:125-131.

Cintas, L..M., Casaus, M.P., Herranz, C., Nes, I.F. & Hernández, P.E. 2001.REVIEW: Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria. Food Science Technology International. 7(4): 281-305.

Delves-Broughton, J. 1991. Nisin and its use as a food preservative. Food Technlogy. 44: 110-117.

Elegado, F., Guerra, M., Macayam, R., Mendoza, H & Lirazan, M. Spectrum of bacteriocina activity of *Lactobacillus plantarum* BS and fingerprinting by RAPD-PCR. International Journal of Food Microbiology. 95: 11-18.

Fimland, G., Blingsmo, O., Sletten, K., Jung, G., Nes, I & Nisen-Meyer, J. 1996. New Bilogically Active Bacteriocins Constructed by Combinig Regions from Various Pediocin-Like Bacteriocins: the C-Terminal Region in Important for Determining Specificity. Applied and Environmental Microbiology. 62(9): 3313-3318

Grande, M.J., Lucas, R., Abriouel, H., Valdivia, E., Omar, N. Ben., Maqueda, M., Martinez-Bueno, M. & Martinez-Cañamero, A. 2006. Inhibition of toxicogenic *Bacillus cereus* in rice-based foods by enterocin AS-48. International Journal of Food Microbiology. 106: 185-194.

Grande, M., Lucas, R., Abriouel, H., Ben-Omar, N., Maqueda, M., Martinez-Bueno, M., Martínez-Cañamero, M., Valdivia, E & Galvez, 2005. Control of ***Alicyclobacillus acidoterrestris*** in fruit juices by enterocin AS-48. International Journal of Foof Microbiology. 104: 289-297.

Joerger, R. 2002. Alternatives to Antibiotics: Bacteriocins, Antimicrobial Peptides and Bacteriophages. Poultry Science. 82: 640-647.

Kalchayanand, N., Dunne, P., Sikes, A & Ray, B. 2004. Viability loss and morphology change of foodborne pathogens following exposure to hydrostatic pressures in the presence and absece of bacteriocins. International Journal Food Microbiology. 91: 91-98.

Ogunbanwo, S., Sanni, A & Onilude, A. 2003. Influence of cultural conditions on the production of bacteriocina by *Lactobaciluus brevis* OG1. African Journal of Biotechnology. 2(7): 179-184.

Ogunbanwo, S., Sanni, A & Onilude, A. 2003. Characterization of bacteriocina produced by *Lactobacillus plantarum* F1 and *Lactobacillus brevis* OG1. African Journal of Biotechnology. 2(8): 219-227.

Pal, V., Jamuna, M & Jeevaratnam, K. 2005. Isolation and characterization of bacteriocin producing lactic acid bacteria from a south inidian special dosa (appam) batter. Journal