

Tecnología, calidad, seguridad y funcionalidad de alimentos

JUAN L. ARQUÉS, MARTA ÁVILA, JAVIER CALZADA, JOSÉ A. CURIEL, SONIA GARDE, JOSÉ M^a LANDETE, SUSANA LANGA, PILAR LÓPEZ, JOAQUÍN V. MARTÍNEZ, RAQUEL MONTIEL, SAGRARIO ORTIZ, ANTONIA PICÓN, ÁNGELA PEIROTÉN, DAVID PÉREZ, EVA RODRÍGUEZ, SUSANA RODRÍGUEZ, ANA RUIZ, CARMEN SÁNCHEZ, F. JAVIER TOMILLO

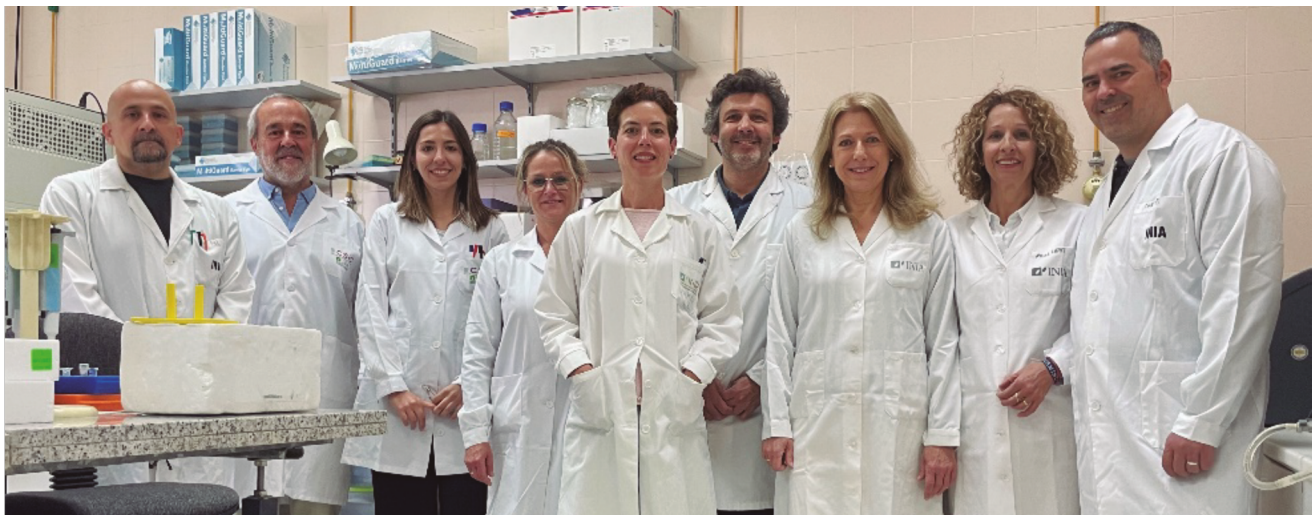
Departamento de Tecnología de Alimentos, Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria INIA-CSIC, Ctra. de La Coruña km 7, 28040 Madrid

✉ arques@inia.csic.es | apicon@inia.csic.es | landete.josem@inia.csic.es

🌐 <https://www.inia.es/unidades/Departamentos/tecnologiaalimentos/Paginas/Home.aspx>



Los grupos de *Seguridad Microbiológica de Alimentos*, *Tecnología y Calidad de Productos Lácteos y Cárnicos* y *Alimentos Funcionales* del Departamento de Tecnología de Alimentos del INIA-CSIC centran su actividad en mejorar la seguridad y calidad microbiológica, sensorial, nutricional y funcional de productos lácteos, cárnicos y vegetales con el fin de desarrollar alimentos sanos, seguros, saludables y de calidad. Contamos con una Planta de Tecnología de Alimentos con el equipamiento necesario para trabajar en seguridad microbiológica y para la elaboración de productos lácteos y cárnicos, así como con un laboratorio de bioseguridad BSL-2. La colección de microorganismos de interés alimentario, compuesta principalmente por cepas de bacterias lácticas y bifidobacterias, es fruto de los trabajos de investigación realizados en el Departamento durante más de 40 años y contiene cepas de origen lácteo y humano seleccionadas por presentar especial interés tecnológico y/o probiótico.



Grupo Seguridad Microbiológica de Alimentos INIA-CSIC

Grupo Seguridad Microbiológica de Alimentos

Los objetivos del grupo *Seguridad Microbiológica de Alimentos* son: 1) Evaluar la efi-

cacia de estrategias de higienización (altas presiones hidrostáticas y bioconservantes) en la eliminación de patógenos en productos lácteos y cárnicos, analizando en estos últimos el efecto de la reducción de las sales de curado. 2) Evaluar el efecto de las estrategias de higienización en la expre-

sión de genes de virulencia y resistencia a antimicrobianos. 3) Caracterización genética de *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus* enterotoxigénicos persistentes en industrias productoras de derivados cárnicos curado-madurados. 4) Estudiar la trazabilidad molecular de *L. monocytoge-*

nes, *Salmonella enterica*, *Campylobacter jejuni* y *Cronobacter sakazakii* en el ambiente de la producción de alimentos empleando la secuenciación completa del genoma. 5) Estudiar el efecto de desinfectantes usados en la industria alimentaria sobre células planctónicas y biofilms de patógenos alimentarios, evaluando el efecto de diferentes concentraciones de desinfectantes tanto en la formación de biofilms como en la virulencia de los aislados. 6) Evaluar la actividad antibiofilm de nuevos materiales con recubrimientos bactericidas y nuevos compuestos biocidas naturales de origen microbiano, con un enfoque dirigido específicamente a combatir la resistencia cruzada a antibióticos y desinfectantes en los principales patógenos alimentarios. Además de investigar biopelículas de una sola especie, se investiga el efecto de las biopelículas mixtas (p. ej. *L. monocytogenes* – bacterias lácticas) en la actividad anti-*Listeria* de los desinfectantes. 7) Seleccionar y evaluar cepas de bacterias lácticas y bifidobacterias con características tecnológicas y/o probióticas orientadas al desarrollo de cultivos bioprotectores o con efecto protector frente a infecciones. La aplicación de cultivos bioprotectores productores de compuestos antimicrobianos, fundamentalmente para productos lácteos y embutidos ibéricos, puede proporcionar un parámetro adicional de procesado que mejore la seguridad y aumente la calidad de los alimentos, mejorando o manteniendo sus características sensoriales. En esta misma línea, determinados probióticos pueden combatir la infección por patógenos en el hospedador mediante la secreción de sustancias antimicrobianas, la exclusión competitiva y/o la estimulación de la respuesta inmunitaria.

Centramos nuestras investigaciones en los productos listos para el consumo (RTE), de mayor riesgo al no recibir ningún tratamiento previo a su ingestión, y cuyo consumo ha incrementado considerablemente en los últimos años. En muchos casos, colaboramos con empresas del sector con el fin de transferir resultados y conocimiento.



Grupo Tecnología y Calidad de Productos Lácteos y Cárnicos INIA-CSIC

Grupo Tecnología y Calidad de Productos Lácteos y Cárnicos

Los objetivos del grupo *Tecnología y Calidad de Productos Lácteos y Cárnicos* se centran en: 1) mejorar la calidad sensorial, nutricional y funcional de los productos lácteos, 2) desarrollar nuevos procesos y productos para la industria alimentaria y para el consumidor, y 3) prevenir la aparición de alteraciones de origen microbiológico en productos lácteos. Para ello, caracterizamos bacterias lácticas para su aplicación en la industria láctea, utilizamos microorganismos seleccionados por producir compuestos bioactivos o por sus actividades enzimáticas, incorporamos nuevos ingredientes, usamos antimicrobianos naturales y/o empleamos nuevas tecnologías.

Disponemos de una colección de bacterias lácticas aisladas de leche de cabra de razas autóctonas de Andalucía. Hemos evaluado las propiedades tecnológicas, características sensoriales y el perfil de compuestos volátiles en cuajadas elaboradas con estas cepas, lo que permitiría desarrollar fermentos específicos para quesos de cabra.

La suplementación de productos lácteos con ingredientes no lácteos para aumentar

la concentración de determinados nutrientes es una práctica habitual. Hemos estudiado la suplementación de yogur, queso quark y queso Ibérico semicurado con algas comestibles, ya que son muy ricas en ácidos grasos poliinsaturados, fibra, vitaminas, aminoácidos y minerales. Además, conseguimos mejorar la supervivencia de cepas probióticas al añadir extractos de algas a la leche.

También hemos desarrollado quesos funcionales suplementados con extractos vegetales ricos en polifenoles y bifidobacterias, que aumentan la biodisponibilidad de éstos. Los quesos experimentales presentaron diferencias de color, y mayores niveles de proteólisis, y de polifenoles totales que los quesos control, y un incremento notable de la actividad antioxidante.

Por otra parte, las alteraciones microbiológicas son una de las causas más frecuentes del deterioro de productos lácteos. Para prevenirlas, investigamos nuevas estrategias de biocontrol, frente a bacterias formadoras de esporas (*Clostridium* spp., responsables de hinchazón tardía) y bacterias psicrótrofas (*Pseudomonas* spp., productoras de enzimas termoestables) que persisten en la cadena láctea. Conseguimos retrasar o evitar la hinchazón tardía en queso empleando bacterias lácticas productoras de antimicrobianos (bacteriocinas o reuterina), manteniendo su calidad.



Grupo Alimentos Funcionales INIA-CSIC

También aislamos y caracterizamos nuevos fagos líticos de *Clostridium tyrobutyricum*, y evaluamos su actividad antimicrobiana en queso. Con investigadores del Quadram Institute of Bioscience modificamos *Lactococcus* para producir la endolisina fágica CTP1L, activa frente a *C. tyrobutyricum*, en queso, y logramos visualizar células de *Clostridium* utilizando el dominio de unión de CTP1L marcado con GFP. Recientemente, en colaboración con la UCLM, evaluamos la actividad inhibitoria de extractos de plantas aromáticas frente a *Clostridium* alterantes autóctonos. Actualmente estamos aislando y caracterizando *Pseudomonas* alterantes de productos lácteos, y pretendemos desarrollar nuevos conservantes naturales para estos productos.

Asimismo, tenemos experiencia en la aplicación de altas presiones para mejorar la calidad microbiológica de alimentos. Hemos patentado un método para prevenir la hinchazón tardía aplicando un ciclo corto en queso. Además, hemos estudiado el efecto de las altas presiones sobre la microbiota de jamones Serrano e Ibérico con diferente composición química. También mediante altas presiones, hemos prolongado la vida útil de algas comestibles refrigeradas.

Grupo Alimentos Funcionales

El grupo *Alimentos Funcionales* trabaja en el desarrollo de productos de origen vegetal enriquecidos en compuestos bioactivos, más biodisponibles y con mayor actividad antioxidante y/o estrogénica, y su poten-

cial utilidad en procesos relacionados con el envejecimiento.

➤ Las líneas de investigación del grupo son:

- Identificación de bacterias lácticas y bifidobacterias productoras de fitoestrógenos y otros compuestos bioactivos: esta línea de trabajo, iniciada en 2013, busca caracterizar la habilidad de las cepas de la colección del Departamento para metabolizar diversos precursores presentes en alimentos vegetales y su transformación en fitoestrógenos bioactivos y otros compuestos de interés. Además de contar con cepas productoras de genisteína y daidzeína, hemos identificado las primeras bacterias lácticas y bifidobacterias productoras de *O*-desmetilangolesina, tetrahidrodaidzeína, enterolignan y urolitinas. Actualmente, estamos caracterizando cepas productoras de flavonoides (quercetina y herbacetina), ácidos grasos de cadena corta, riboflavina, ácido fólico, cobalamina y ácido γ -aminobutírico (GABA).

- Desarrollo de bebidas vegetales funcionales y su aplicación en patologías relacionadas con el envejecimiento: una vez identificadas las cepas productoras de compuestos de interés, algunas de las cuales tienen además potencial probiótico, las hemos utilizado para la fermentación de bebidas vegetales, principalmente de soja, analizando su enriquecimiento en compuestos bioactivos (fitoestrógenos y flavonoides). Las bebidas enriquecidas seleccionadas han sido administradas a modelos murinos de obesidad, fertilidad y menopausia. Los siguientes pasos

incluirán su aplicación en otros modelos relacionados con el envejecimiento como enfermedad cardiovascular, cáncer de mama y síndrome metabólico.

- Estrategias alternativas para la producción de compuestos bioactivos: Inmovilización de enzimas y expresión heteróloga: la producción de compuestos de interés por parte de bacterias lácticas y bifidobacterias presenta ciertas limitaciones en cuanto a concentraciones obtenidas y compuestos no encontrados, tales como el equol. Planteamos dos alternativas para conseguir producir esos compuestos bioactivos en alimentos o como compuestos puros.

Mediante la producción recombinante e inmovilización en soportes de grado alimentario de enzimas de interés, procedentes de las cepas seleccionadas, buscamos la producción entre otros de fitoestrógenos bioactivos, vitaminas y nuevos oligosacáridos prebióticos de interés para la industria alimentaria. La expresión heteróloga de genes de *Slackia isoflavoniconvertentes* en bacterias lácticas, nos ha permitido producir equol y 5-hidroxi-equol en bebidas de soja fermentadas. Ahora mismo estamos trabajando en la producción de riboflavina con alta eficiencia mediante la expresión heteróloga de los genes de *Lactococcus lactis* en otras bacterias lácticas de interés. En una siguiente etapa, aplicaremos la misma estrategia para producir enterolignan, GABA y otros compuestos bioactivos.

- Relación fitoestrógenos-microbiota: paralelamente a la búsqueda de bacterias lácticas y bifidobacterias con capacidad para metabolizar los fitoestrógenos, desde

hace años hemos estudiado el metabolismo de fitoestrógenos por la microbiota intestinal. Ahora pretendemos comprobar como la dieta, probióticos y prebióticos afectan a la producción de fitoestrógenos por parte de la microbiota intestinal, así como la influencia de los fitoestrógenos en la misma. Planificamos realizar ensayos en un medio colónico desarrollado en nuestro departamento, que serán complementados con ensayos en SHIME.

Publicaciones seleccionadas de los últimos años

- Ávila M, Calzada J, Muñoz-Tébar N, Sánchez C, Ortiz de Elguea-Culebras G, Carmona M, Molina A, Berruga MI y Garde S.** (2023). Inhibitory activity of aromatic plant extracts against dairy-related *Clostridium* species and their use to prevent the late blowing defect of cheese. *Food Microbiol* 110: 104185.
- Ávila M, Sánchez C, Calzada J, Mayer MJ, Berruga MI, López-Díaz TM, Narbad A y Garde S.** (2023). Isolation and characterization of new bacteriophages active against *Clostridium tyrobutyricum* and their role in preventing the late blowing defect of cheese. *Food Res Int* 163: 112222.
- Bonneville L, Maia V, Barroso I, Martínez-Suárez JV y Brito L.** (2021). *Lactobacillus plantarum* in dual-species biofilms with *Listeria monocytogenes* enhanced the anti-*Listeria* activity of a commercial disinfectant based on hydrogen peroxide and peracetic acid. *Front Microbiol* 12: 631627.
- Curiel JA, Peirotén A, Langa S, de Vega E, Blasco I y Landete JM.** (2022). Characterization and stabilization of the α -L-fucosidase set from *Lactocaseibacillus rhamnosus* INIA P603. *Appl Microbiol Biotechnol* 106: 8067-77.
- Diez-Echave P, Martín-Cabrejas I, Garrido-Mesa J, Langa S, Vezza T, Landete JM, Hidalgo-García L, Algieri F, Mayer MJ, Narbad A, García-Lafuente A, Medina M, Rodríguez-Nogales A, Rodríguez-Cabezas ME, Gálvez J y Arqués JL.** (2021). Probiotic and Functional Properties of *Limosilactobacillus reuteri* INIA P572. *Nutrients* 13:1860.
- Garde S, Calzada J, Sánchez C, Gaya P, Narbad A, Meijers R, Mayer MJ y Ávila M.** (2020). Effect of *Lactococcus lactis* expressing phage endolysin on the late blowing defect of cheese caused by *Clostridium tyrobutyricum*. *Int J Food Microbiol* 329: 108686.
- Langa S, Peirotén A, Gaya P, Garde S, Arques JL, Nuñez M, Medina M y Rodríguez-Minguez E.** (2020). Human *Bifidobacterium* strains as adjunct cultures in Spanish sheep milk cheese. *J Dairy Sci* 103: 7695-706.
- Langa S, Peirotén A, Gaya P, Escudero C, Rodríguez-Minguez E, Landete JM y Arqués JL.** (2021). Development of multi-strain probiotic cheese: nisin production in food and gut. *LWT* 148: 111706.
- Langa S, Peirotén A, Curiel JA, Arques JL y Landete JM.** (2022). Promoters for the expression of food-grade selectable markers in lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Appl Microbiol Biotechnol* 106: 7845-56.
- Langa S, Ruiz de la Bastida A, Peirotén A, Curiel JA y Landete JM.** (2022). Development of the first fermented soy beverages enriched in equol and 5-hydroxy-equol. *LWT* 168:113899.
- López-Alonso V, Ortiz S, Corujo A y Martínez-Suárez JV.** (2020). Analysis of benzalkonium chloride resistance and potential virulence of *Listeria monocytogenes* isolates obtained from different stages of a poultry production chain in Spain. *J Food Prot* 83: 443-451.
- Martinez-Onandi N, Sanchez C, Nuñez M y Picon A.** (2019). Microbiota of Iberian dry-cured ham as influenced by chemical composition, high-pressure processing and prolonged refrigerated storage. *Food Microbiol* 80: 62-9.
- Pérez-Baltar A, Pérez-Boto D, Medina M y Montiel R.** (2021). Genomic diversity and characterization of *Listeria monocytogenes* from dry-cured ham processing plants. *Food Microbiol* 99: 103779.
- Pérez-Baltar A, Serrano A, Medina M y Montiel R.** (2021). Effect of high pressure on the inactivation and the relative gene transcription patterns of *Listeria monocytogenes* in dry-cured ham. *LWT* 139: 11055.
- Picon A, del Olmo A y Nuñez M.** (2021). Bacterial diversity in six species of fresh edible seaweeds submitted to high pressure processing and long-term refrigerated storage. *Food Microbiol* 94: 103646.
- Picon A, Lopez-Perez O, Torres E, Garde S y Nuñez M.** (2019). Contribution of autochthonous lactic acid bacteria to the typical flavour of raw goat milk cheeses. *Int J Food Microbiol* 299: 8-22.
- Rodrigo-Torres L, Landete JM, Huedo P, Peirotén A, Langa S, Rodríguez-Minguez E, Medina M, Arahál DR, Aznar R y Arqués JL.** (2022). Complete Genome Sequences of *Lactocaseibacillus paracasei* INIA P272 (CECT 8315) and *Lactocaseibacillus rhamnosus* INIA P344 (CECT 8316) isolated from breast-fed infants reveal probiotic determinants. *Gene* 840: 146743.
- Ruiz de la Bastida A, Peirotén A, Langa S, Curiel JA, Arqués JL y Landete JM.** (2022). Effect of storage and heat treatment on the levels of bioactive flavonoids produced in fermented soy beverages. *LWT* 154: 112872.
- Ruiz de la Bastida A, Peirotén A, Langa S, Rodríguez-Minguez E, Curiel JA, Arqués JL y Landete JM.** (2023). Fermented soy beverages as vehicle of probiotic lactobacilli strains and source of bioactive isoflavones: A potential double functional effect. *Heliyon* 9: e14991.
- Ruiz de la Bastida A, Langa S, Peirotén A, Fernández-González R, Sánchez-Jiménez A, Maroto Oltra M, Curiel JA, Guíllamón E, Arqués JL, Gutierrez-Adan A y Landete JM.** (2023). Effect of fermented soy beverage in aged female mice model. *Food Res Int* (aceptado).
- Varsaki A, Ortiz S, Santorum P, López P, López-Alonso V, Hernández M, Abad D, Rodríguez-Grande J, Ocampo-Sosa AA y Martínez-Suárez JV.** (2022). Prevalence and population diversity of *Listeria monocytogenes* isolated from dairy cattle farms in the Cantabria region of Spain. *Animals* 12: 2477.
- Varsaki A, Ortiz S, Santorum P, López P, López-Alonso V y Martínez-Suárez, J.V.** (2022). Genetic diversity, antimicrobial resistance and survival upon manure storage of *Campylobacter jejuni* isolated from dairy cattle farms in the Cantabric coast of Spain. *Zoonotic Dis* 2: 82-94.