



Universidad de Concepción
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas



Determinación de la presencia y dinámica de bacterias ácido lácticas en cerveza comercial y su capacidad para producir aminas biógenas.



Seminario de Título presentado a la
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas

Para optar al título de Biólogo

Gisela Verónica Lagos Luengo

Concepción, Marzo 2016

Resumen

La cerveza es un bebestible ampliamente consumido por la población mundial, por lo tanto la inocuidad de ésta representa un factor importante ya que afecta directamente a la salud de los consumidores. Las cervezas son producidas principalmente por cebada, agua, lúpulo y levaduras. Entre las etapas de elaboración de las cervezas más comúnmente conocidas, se encuentran el malteo, la molienda, el macerado, la cocción, el enfriamiento, la maduración. Son en estas materias primas y etapas de elaboración donde es posible encontrar bacterias ácido lácticas (BAL) productoras de aminas biógenas en cerveza, que debido a su alto consumo se han relacionado con varios efectos nocivos para la salud, además de provocar pérdidas económicas a la industria cervecera ya que la contaminación por BAL puede producir turbidez, acidez y sabores desagradables. Las aminas biógenas (AB), son compuestos nitrogenados presentes en casi todos los alimentos pero en mayores concentraciones en alimentos fermentados como quesos, pescados, huevos, vegetales, vino y cervezas. Las AB putrescina, espermidina y espermina son consideradas componentes naturales de la cerveza, ya que provienen de la materia prima mientras que histamina y tiramina se relacionan a contaminación bacteriana. Estas aminas biógenas al ser producidas por la descarboxilación microbiana de aminoácidos codifica genes de enzimas descarboxilasas Histidina (HDC) y Tirosina (TDC). Dentro de los microorganismos identificados con estas enzimas se encuentran las bacterias ácido láctico (BAL).

Ya que en el Chile se tiene escasa información acerca de la presencia microbiana en cerveza su contenido de AB y la relación con la presencia de genes de enzimas descarboxilasas. El objetivo de este estudio es conocer la presencia y dinámica de BAL en cerveza comercial producidas en Chile y en especial su rol en la producción de aminas biógenas.

Para esto se analizaron muestras de una cervecería del país, desde la materia prima hasta las etapas de elaboración de la cerveza, macerado, cocción, fermentación, maduración y producto final.

Se realizó mediante recuento por diseminación por superficie en medio MRS modificado y se utilizó PCR (Polymerase Chain Reaction) con partidores específicos para determinar si los aislados encontrados pertenecen al grupo de BAL. Se analizó por DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) la diversidad y dinámica bacteriana dentro de los procesos de producción y el contenido de aminas biógenas en las muestras de materias primas hasta proceso de producción de cerveza y cepas aisladas se cuantificó mediante HPLC (High Performance Liquid Chromatography). Además se investigó la presencia del gen *tdc* que codifica para la enzima tirosina descarboxilasa TDC, realizando la

extracción directa del ADN bacteriano presente en las cepas aisladas, mediante PCR, siendo esta un método molecular rápido y sensible para detectarlos.

Mediante cultivo, se analizaron las materias primas y las muestras de proceso de producción, se observó la presencia de BAL principalmente en las materias primas (levadura y cebadas), excepto en el lúpulo y la cocción, fue solo en la etapa de producción maduración se obtuvo recuento con un total de 20 ufc/ml. Las bacterias presentes en la materia prima son eliminadas durante las etapas de macerado, cocción, fermentación y cerveza final pero la cerveza se contamina en la etapa de maduración. Al usar partidores específicos para BAL, mediante PCR se pudo rectificar estos resultados ya que al aislar cepas solo las provenientes de las materias primas correspondían a BAL, se presume que la aparición de BAL en la maduración pudo deberse a otras bacterias implicadas en la contaminación.

No se logró determinar la dinámica y la diversidad de BAL en alguna etapa del proceso de producción de la cerveza.

La cuantificación de AB a lo largo del proceso de producción indicó que no se encontraron niveles dañinos de AB HIS y TYR producidas por BAL. Por lo tanto estos niveles no constituyen un riesgo para el consumidor.

La cuantificación de AB en medio sintético realizada a las cepas aisladas desde las materias primas indicó altos niveles de la amina biógena tiramina. Esta contaminación origina un nivel riesgoso de aminas biógenas, y puede disminuir la vida útil del producto dando lugar a pérdidas económicas para la industria. Además los niveles de esta AB se correlacionan con la detección de la enzima TDC mediante PCR, en las cepas aisladas desde la materia prima levadura.