



Utilización de mohos productores de proteínas antifúngicas para la maduración del jamón ibérico

Raquel Acosta, Félix Núñez y Miguel Ángel Asensio

Unidad de Higiene y Seguridad Alimentaria. Facultad de Veterinaria.
Universidad de Extremadura. Cáceres.

Los productos cárnicos madurados como el jamón ibérico se obtienen mediante procesos combinados de salazón, desecación y maduración. Los distintos métodos de elaboración determinan una evolución de las características ecológicas de los mismos que condiciona el desarrollo de diferentes tipos de microorganismos. En productos donde no suelen añadirse azúcares y la adición de sales de curado se realiza de forma superficial, como el jamón ibérico, la evolución de la población microbiana está condicionada por las bajas temperaturas en las primeras fases del procesado, y posteriormente por la reducción gradual de la humedad. Como consecuencia se va seleccionando en la superficie del producto una población microbiana constituida fundamentalmente por mohos y levaduras. Además, las condiciones de la maduración en secadero y bodega favorecen el desarrollo de los mohos (Figura 1), que se convierten en la población dominante aumentando su diversidad a lo largo del procesado (Huerta y col., 1987; Núñez y col., 1996).

Esta población fúngica superficial puede contribuir en gran medida a la formación del sabor, aroma o textura del producto acabado, pero también puede alterarlo e incluso producir metabolitos tóxicos como las micotoxinas. De hecho, más del 75% de los mohos aislados en jamón ibérico muestran toxicidad o mutagenicidad en ensayos biológicos (Núñez y col., 1996). Además, algunas de estas cepas son



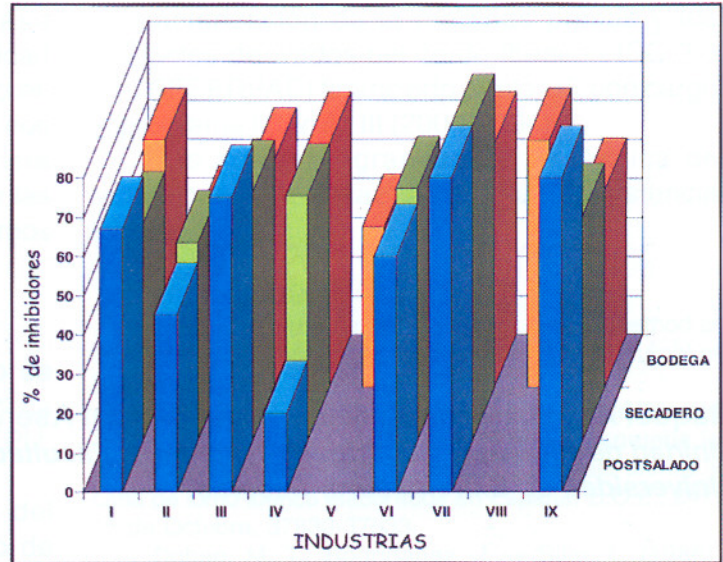
Actividad antifúngica mostrada en los ensayos de inhibición radial en medio sólido por algunos de los mohos aislados de jamón ibérico.

capaces de producir micotoxinas en medios de cultivo constituidos únicamente por extracto de carne y cloruro sódico (Rodríguez de Ledesma y col., 1996; Díaz, 1999; Núñez y col., 2000; Sosa y col., 2002). Aunque no se han descrito intoxicaciones debidas a la presencia de micotoxinas en el jamón, el simple desarrollo de mohos toxigénicos en su superficie puede suponer un serio obstáculo a la comercialización fuera y dentro de España. Como consecuencia, sería deseable controlar a los mohos toxigénicos sin perjudicar a los beneficiosos.

Existen numerosos sistemas tanto físicos como químicos para controlar la población fúngica que se desarrolla en los alimentos (Figura 2). No obstante algunos, como la aplicación de tratamientos físicos o el envasado en atmósferas controladas, no resultan adecuados para el



Población fúngica desarrollada en la superficie de un jamón ibérico en fase de bodega.



Porcentaje de mohos con actividad antigúngica aislados de jamón ibérico en las diferentes industrias y fases del procesado.

permitidos en este tipo de producto. Además, las medidas higiénicas para prevenir la contaminación durante la elaboración se ven desbordadas en los secaderos y bodegas, donde resulta muy difícil eliminar totalmente la contaminación ambiental. Por otra parte, la inespecificidad de estos tratamientos evitaría la posible contribución beneficiosa de los mohos a la maduración del jamón ibérico.

Ante esta situación se planteó la posibilidad de controlar la población fúngica que se desarrolla en la superficie de este producto utilizando cultivos protectores con mohos capaces de inhibir a las cepas fúngicas no deseables por ejemplo mediante la producción de antibióticos. Lógicamente, esta opción debe descartarse por posibles reacciones alérgicas en el consumidor o la inducción de resistencia en otros microorganismos como consecuencia de su empleo continuado. Sin embargo, la utilización de mohos productores de proteínas naturales con efecto antifúngico permitiría reducir e incluso eliminar la incidencia de los mohos toxigénicos, sin afectar a los que contribuyan a la maduración del jamón ibérico de manera deseable.

El objetivo fundamental de este trabajo ha sido seleccionar cepas de mohos productores de proteínas antifúngicas capaces de inhibir a los mohos no deseables en productos cárnicos madurados. Para llevar a cabo este estudio se han aislado 281 mohos de la superficie de

MÉTODOS PARA EL CONTROL DE MOHOS EN ALIMENTOS

★ FÍSICOS

CONDICIONES AMBIENTALES
TRATAMIENTOS TÉRMICOS
RADIACIONES
ALTAS PRESIONES
PULSOS ELÉCTRICOS
CAMPOS MAGNÉTICOS

★ QUÍMICOS

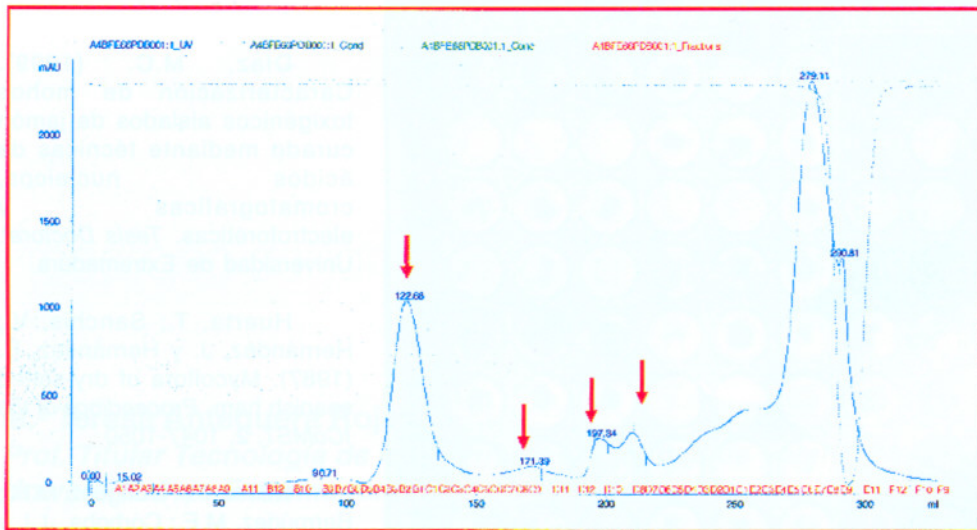
ATMÓSFERAS MODIFICADAS
FUNGICIDAS
ÁCIDOS ORGÁNICOS
ACEITES ESENCIALES
PERÓXIDO HIDRÓGENO
POLIFENOLES

★ BIOLÓGICOS

CULTIVOS PROTECTORES

Principales métodos utilizados para controlar la población fúngica que se desarrolla en determinados alimentos.

jamón ibérico. En el caso de la utilización de productos químicos como aceites esenciales o fungicidas, o no resultan efectivos o no están



Separación de proteínas con actividad antifúngica mediante cromatografía de filtración en gel.

jamones ibéricos elaborados en nueve industrias situadas en diferentes puntos de Badajoz, Cáceres, Huelva y Salamanca.

Los mohos se seleccionaron en ensayos de inhibición radial en medio sólido (Figura 3). El 59% de los mohos aislados mostraban actividad antifúngica frente a mohos toxigénicos de jamón ibérico, independientemente de la industria y fase del procesado en la que se obtuvieron (Figura 4). Entre ellos se encuentran cepas de diferentes especies como *Penicillium solitum*, *P. viridicatum*,

clorofórmico de los cultivos de mohos en placas multipocillo (Figura 5). Estos ensayos permitieron relacionar la actividad antifúngica con diversos compuestos de diferente solubilidad en agua o solventes orgánicos y con distinta sensibilidad al tratamiento con cloroformo, lo que se traduce en una actividad heterogénea incluso entre individuos de una misma especie.

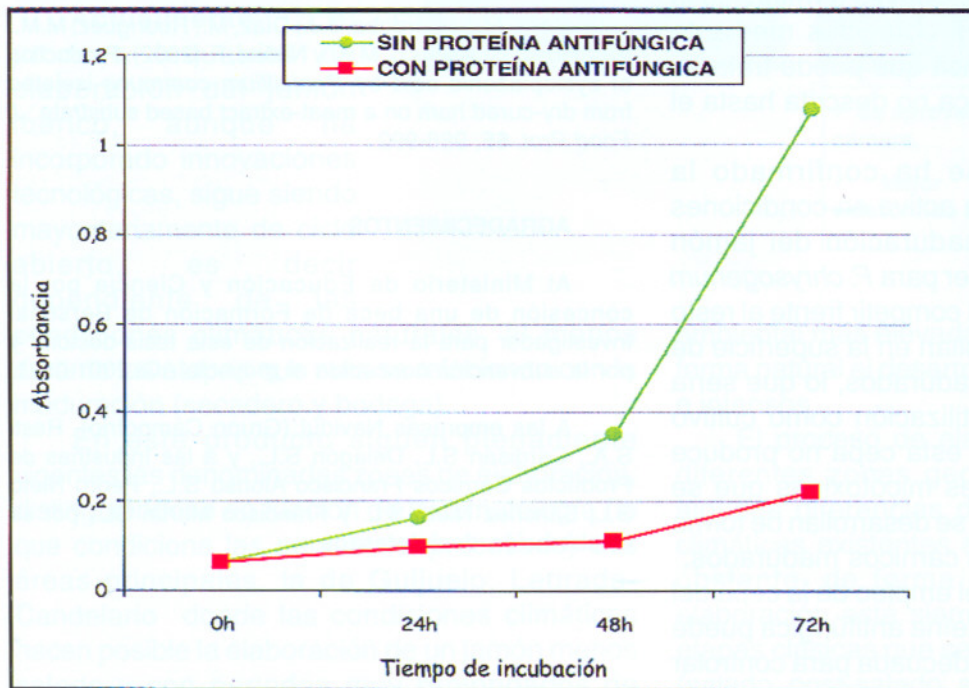
Tras descartar los mohos que no producían proteínas antifúngicas de interés, se separaron los distintos compuestos activos mediante

P. griseofulvum, *P. aurantiogriseum*, *P. commune* o *P. chrysogenum*, que se desarrollan habitualmente en los productos cárnicos madurados.

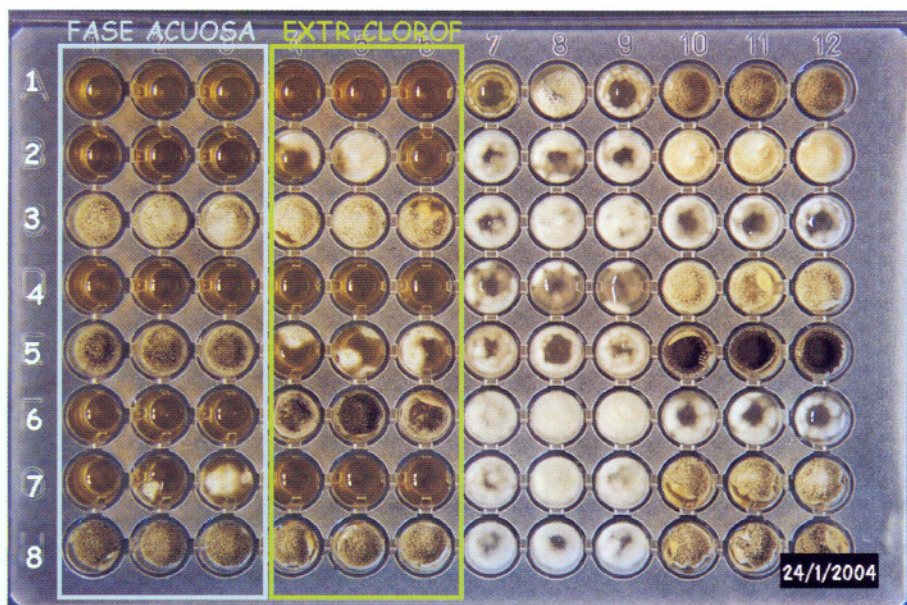
Para descartar los mohos cuya inhibición se debiera a la producción de antibióticos o micotoxinas, se estudió la actividad de la fase acuosa y el extracto

cromatografía de intercambio catiónico. Posteriormente, se obtuvieron por cromatografía de filtración en gel diferentes proteínas que inhiben el desarrollo de mohos indeseables (Figura 6), de las que se ha seleccionado una producida por un *Penicillium chrysogenum* aislado de jamón ibérico.

Esta proteína ha mostrado actividad frente a distintos mohos toxigénicos, si bien *Penicillium commune*, *P.*



Efecto típico de la proteína seleccionada en el desarrollo de mohos toxigénicos aislados de jamón ibérico



Placa multipocillo donde se muestra la actividad antifúngica de la fase acuosa y el extracto clorofórmico obtenidos a partir de ocho de los mohos activos aislados de jamón ibérico.

polonicum y *P. aurantiogriseum* son más resistentes mientras que otros, como *Aspergillus flavus*, *A. niger* y otra cepa de *P. chrysogenum*, mostraron una gran sensibilidad (Figura 7).

El análisis de la secuencia de aminoácidos de los extremos amino y carboxilo terminal de la proteína y de fragmentos obtenidos mediante digestión con tripsina indica que puede tratarse de una proteína antifúngica no descrita hasta el momento.

Adicionalmente, se ha confirmado la producción de la proteína activa en condiciones similares a las de la maduración del jamón ibérico. Esto podría suponer para *P. chrysogenum* una ventaja adicional para competir frente al resto de mohos que se desarrollan en la superficie de los productos cárnicos madurados, lo que sería de gran valor para su utilización como cultivo protector. Por otra parte, esta cepa no produce ninguna de las principales micotoxinas que se atribuyen a los mohos que se desarrollan de forma habitual en los productos cárnicos madurados.

Por todo lo anterior, el empleo de la cepa del moho productor de la proteína antifúngica puede constituir una estrategia adecuada para controlar los mohos indeseables que se desarrollan en la superficie del jamón ibérico.

BIBLIOGRAFÍA.

Díaz, M.C. (1999). Caracterización de mohos toxigénicos aislados de jamón curado mediante técnicas de ácidos nucleicos, cromatográficas y electroforéticas. *Tesis Doctoral*. Universidad de Extremadura.

Huerta, T.; Sanchis, V.; Hernández, J. y Hernández, E. (1987). Mycoflora of dry-salted spanish ham. *Proceedings of the ICoMST*. 2, 1047-1050.

Núñez, F.; Rodríguez, M.M.; Bermúdez, M.E.; Córbova, J.J. y Asensio, M.A. (1996). Composition and toxigenic potential of the mould population on dry-cured ham. *Int. J. Food Microbiol.* 32, 185-197.

Núñez, F.; Díaz, M.C.; Rodríguez, M.M.; Aranda, E.; Martín, A. y Asensio, M.A. (2000). Effects of substrate, water activity, and temperature on grown and verrucosidin production by *Penicillium polonicum* isolated from dry-cured ham. *J. Food Prot.* 63, 231-236.

Rodríguez de Ledesma, A.; Núñez, F.; Bermúdez, E. y Asensio, M.A. (1996). Verrucosidin production by *Penicillium aurantiogriseum* on different cultural conditions. *Food Micro '96*. Budapest.

Sosa, M.J.; Córdoba, J.J.; Díaz, M.; Rodríguez, M.M.; Bermúdez, E.; Asensio, M.A. y Núñez, F. (2002). Production of cyclopiazonic acid by *Penicillium commune* isolated from dry-cured ham on a meat-extract based substrate. *J. Food Prot.* 65, 988-992.

AGRADECIMIENTOS.

Al Ministerio de Educación y Ciencia por la concesión de una beca de Formación de Personal Investigador para la realización de esta tesis doctoral y por la subvención concedida al proyecto AGL2001-0521.

A las empresas Navidul (Grupo Campofrío), Resti S.A., Cardisán S.L., Delagón S.L., y a las Industrias de Productos Cárnicos Francisco Alonso S.L., Pedro Nieto S.L., Sánchez Nieto S.L. y Francisco Martín S.L., por su colaboración desinteresada.