



Nisina como conservante de alimentos: revisión sistemática de la literatura

Nisin as a food preservative: a systematic literature review

Daniela Cano-Serna*, M. Antonia Gómez-Marín*, Vanessa Oviedo-Gallego*, Leonardo Alberto Ríos-Osorio†‡

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: En el mundo actual de la industria de alimentos una de las obligaciones más importantes es poder garantizar la inocuidad de los productos; por esto, se hace necesario el uso de conservantes. El conservante natural de mayor potencial utilizado en matrices alimentarias es la nisina, siendo un péptido antimicrobiano producido por cepas de *Lactococcus lactis*. La nisina es la única bacteriocina que ha sido aprobada por la OMS para ser utilizada como conservante en la industria alimentaria.

OBJETIVO: Esta revisión bibliográfica tiene como objetivo describir el uso de la nisina como antimicrobiano en diferentes matrices alimentarias.

MÉTODOS: Para la realización del estudio se llevó a cabo una búsqueda sistemática de literatura en tres bases de datos bibliográficas: Science Direct, Scopus y Springer. La ruta de búsqueda se ajustó de acuerdo con el algoritmo de cada base de datos. Tras la comprobación con diversos criterios de inclusión y exclusión, la búsqueda arrojó como resultado un total de 41 artículos publicados en un periodo de tiempo comprendido entre 2007 y 2017.

RESULTADOS Y CONCLUSIÓN: Se evidencia que, en las matrices alimentarias evaluadas como quesos, leche, carne, vinos, entre otras, la nisina en la mayoría de los casos es efectiva para la eliminación de microorganismos patógenos y contribuye a la biopreservación de los alimentos, ya que ayuda a que la vida útil de estos se prolongue sin alterar sus características sensoriales.

PALABRAS CLAVE: antimicrobiano, inhibición, matriz alimentaria, microorganismo, nisina, preservación.

* Microbióloga Industrial y Ambiental, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

† Microbióloga Industrial y Ambiental, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

‡ Contacto: leonardo.rios@udea.edu.co

Recepción: 21-06-2018. Aceptación: 28-11-2018.

Cómo citar este artículo: Cano-Serna D, Gómez-Marín A, Oviedo-Gallego V, Ríos-Osorio LA. Nisina como conservante de alimentos: revisión sistemática de la literatura. Rev Hechos Microbiol. 2015;6(1-2):52-64.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Currently, one of the most important obligations of the food industry is to be able to guarantee product innocuousness, which translates into a need for preservatives. Nisin, an antimicrobial peptide produced by *Lactococcus lactis*, holds the greatest potential as a natural preservative used in food matrices. Nisin is the only bacteriocin that has been approved by the WHO to be used as a preservative in the food industry.

OBJECTIVE: This review aims at describing the use of nisin as an antimicrobial in different dietary matrices.

METHODS: A systematic search of the literature was performed in Science Direct, Scopus and Springer. The search path was adjusted according to the algorithm of each database. After the evaluation of the various inclusion and exclusion criteria, the search resulted in a total of 41 articles published between 2007 and 2017.

RESULTS AND CONCLUSION: In most dietary matrices evaluated - cheeses, milk, meat, and wines, among others - it was possible to prove the effective elimination of pathogenic microorganisms with nisin and its contribution to the biopreservation of foods. Nisin helps extend the useful life of these products without altering its sensory characteristics.

KEYWORDS: antimicrobial, inhibition, food matrix, microorganism, nisin, preservation.

INTRODUCCIÓN

Las industrias alimentarias deben garantizar la permanencia de sus productos en el mercado, dado que frecuentemente surgen nuevos productos y mejores tecnologías para su desarrollo. Así, los entes reguladores de la inocuidad alimentaria establecen una normatividad más exigente para garantizar que estas nuevas alternativas como los antimicrobianos no terminen afectando de manera directa o indirecta la salud humana. Por lo tanto, en el mundo actual de la industria de alimentos uno de los retos más importantes es poder garantizar la inocuidad de los productos asegurando su estabilidad microbiológica, evitando así la

proliferación de microorganismos indeseables en los alimentos antes de su consumo.¹

La industria alimentaria tiene la alternativa de emplear bioconservantes, para satisfacer el interés de los consumidores por obtener alimentos inocuos y naturales, es decir, elaborados con estricto control de calidad sanitaria y sin la adición de aditivos químicos artificiales que garanticen la conservación de los alimentos, para esto se propone el uso de la nisina, el conservante natural de mayor potencial utilizado en las últimas 5 décadas. La nisina es un péptido antimicrobiano producido por cepas de *Lactococcus lactis*;² Este compuesto se puede incorporar directamente en la formulación del producto para inhibir el crecimiento de microorganismos indeseables en los alimentos durante el almacenamiento.³

Desde 1951, la nisina juega un papel importante en la conservación de los alimentos, por esto es la única bacteriocina que ha sido aprobada por la Organización Mundial de la Salud (OMS), para ser utilizada como conservante en la industria alimentaria,¹ y la FDA (Food and Drug Administration: Agencia de Alimentos y Medicamentos) le confirió el estatus de sustancia GRAS (Generally Regarded As Safe) debido a sus propiedades antibacterianas, a su impacto mínimo con relación a los cambios de las propiedades organolépticas de los alimentos y a que desde el punto de vista del consumo humano las enzimas digestivas pueden degradarla.⁴

La nisina está clasificada como uno de los lantibióticos de la clase I, los cuales son péptidos pequeños, policíclicos, estables al calor, activos a nivel de membrana y contienen algunos aminoácidos poco comunes en su composición como lantionina, b-metil-lantionina y dihidroalanina que se forman postraduccionalmente por deshidratación de la serina y treonina.⁵

La nisina es un péptido de 34 aminoácidos con un peso molecular inferior a 5 kDa,¹ es ácida por naturaleza por lo que es estable a pH ácido teniendo su máxima solubilidad y estabilidad a un pH de 2,0 siendo irreversiblemente estable a un pH de 7,0; su solubilidad aumenta al incrementar la temperatura y disminuir el pH. Sus propiedades fisicoquímicas la hacen resistente a los tratamientos térmicos y cambios de pH que sufren los alimentos durante su fabricación como la pasteurización y almacenamiento. Sin embargo, la nisina purificada permanece activa

después de un calentamiento a 100°C por 10 min a pH 2,0 y, además, su tamaño pequeño permite la difusión en sistemas semisólidos, propios de la mayoría de los productos alimentarios.⁵

La nisina exhibe una actividad altamente antibacteriana hacia una amplia gama de bacterias Gram-positivas, incluyendo bacterias formadoras de esporas y otras bacterias patógenas, pero mostrando poca o ninguna actividad contra Gram-negativas.⁶ Presenta efecto antibacteriano contra microorganismos como *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium* spp., *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp. y *Streptococcus* spp.⁷

La nisina se utiliza para la conservación de varios productos alimenticios donde su efectividad depende de su difusión en toda la matriz del alimento, si es líquida, sólida, semi-sólida y de parámetros como la composición ya que en estudios como el de Martínez *et. al.*, 2016,⁸ se evidenció que la nisina perdía efectividad, debido a que interactuaba con glóbulos de grasa y proteínas presentes en el alimento, las propiedades físico-químicas como pH y la temperatura de almacenamiento de los alimentos.⁹

La nisina se ha empleado en bebidas como vinos y cervezas, donde el objetivo es inhibir levaduras y el crecimiento de *Lactobacilos* como microorganismos deteriorantes. En el vino, previene el crecimiento de las bacterias ácido lácticas, evitando la disminución del pH del producto que causa mucosidad y exceso de acetato promoviendo un efecto negativo en la calidad del vino.¹⁰ En la cerveza, inhibe el crecimiento de *Lactobacilos* que generan un producto con exceso de acidez y sabores extraños, debido a la producción de diacetilo.¹¹

En los productos enlatados, la nisina se aplica para inhibir el crecimiento de termófilos esporulados como *Clostridium thermosaccharolyticum* y *Bacillus stearothermophilus*. En productos lácteos, la principal aportación de la nisina es la inhibición de *Listeria monocytogenes* por su alta estabilidad térmica,¹² manteniendo un efecto antilisterial por 7 días aplicándola a una concentración de (0,25 mg/L) de forma libre y encapsulada.¹³

Teniendo en cuenta la versatilidad de la aplicación de la nisina a diferentes matrices alimentarias se propone realizar esta revisión bibliográfica, la cual tiene como objetivo describir el uso de la nisina como antimicrobiano en diferentes matrices alimentarias.

MATERIALES Y MÉTODOS

ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA

Se diseñó una investigación teórica bajo la metodología Prisma.¹⁴ Se llevó a cabo una búsqueda sistemática de literatura científica; por sensibilidad se definieron palabras clave y se empleó la base de datos de *Descriptores de Ciencias de la Salud* (DeCS) para su selección; por especificidad se seleccionaron tres bases de datos bibliográficas ScienceDirect, Springer y Scopus y se definió un algoritmo de búsqueda con el uso de operadores booleanos, y por exhaustividad se utilizaron descriptores.

La ruta de búsqueda se ajustó de acuerdo con cada base de datos según los descriptores empleados y teniendo como punto de referencia la nisina como conservante de alimentos. Las rutas de búsqueda definidas para cada base de datos fueron las siguientes: En ScienceDirect: docssubtype(FLA) and pub-date > 2006 and (nisin AND antimicrobial) AND “food matrix” AND LIMIT-TO(contenttype, “JL,BS”;”Journal”). En Scopus: TITLE-ABS-KEY (nisin AND antimicrobial) TITLE-ABS-KEY (“food matrix”), se utilizó el límite de tiempo “2007 to present”. En la base de datos Springer la ruta de búsqueda fue (nisin AND antimicrobial) AND “food matrix”.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y DE EXCLUSIÓN

Se incluyeron únicamente artículos originales escritos en inglés, publicados en los últimos diez años (2007-2017), en los cuales el objetivo principal del estudio fue describir información acerca de la utilización de la nisina como antimicrobiano en diferentes matrices alimentarias.

Se excluyeron aquellos artículos en los que se empleó como agente conservante en matrices alimentarias la nisina junto con otros conservantes en combinación como alcoholes, extractos de plantas, aceites esenciales, sorbato de potasio y dióxido de azufre, entre otros.

Para poder evaluar la elegibilidad de cada publicación, así como realizar un posterior análisis de los datos extraídos de cada una de ellas, se realizó una verificación de la selección usando la herramienta Excel de Microsoft, en la que se anotó información referente al título y resumen de la publicación, país donde se desarrolló el estudio, revista científica donde ha sido

publicado, año de publicación, base de datos, modo de uso, criterios de inclusión y criterios de exclusión.

Con el fin de aumentar la exhaustividad del estudio, se realizó una búsqueda de literatura gris en la base de datos Google Académico, aplicando la ruta general de búsqueda, teniendo en cuenta los criterios de inclusión y exclusión. Por último, se llevó a cabo un análisis de cada una de las publicaciones obtenidas tras el proceso completo de búsqueda.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La búsqueda arrojó como resultado un total de 180 artículos publicados en un periodo de tiempo comprendido entre 2007 y 2017. Luego de la eliminación de artículos duplicados y la aplicación de los criterios de inclusión y exclusión, quedaron un total de 36 pu-

blicaciones, las cuales fueron incluidas en la revisión sistemática. Seguidamente, a estas 36 publicaciones se les sumó por exhaustividad otros 5 artículos originales no indexados en las bases de datos, estas publicaciones procedentes del buscador genérico Google Académico las que finalmente se ajustaban también a los criterios de inclusión y exclusión ya establecidos con anterioridad como se puede ver en la [figura 1](#).

Teniendo en cuenta el número total de artículos encontrados en las bases de datos, se eliminaron 140 artículos, 51 debido a que no se aplicaban en matrices alimentarias, y 89 en los que la nisina no era evaluada de manera independiente como antimicrobiano sino en sinergia con otros compuestos.

Finalmente, en cumplimiento de los criterios de sensibilidad, especificidad y exhaustividad, la revisión sistemática se realizó con 41 artículos de investigación originales.

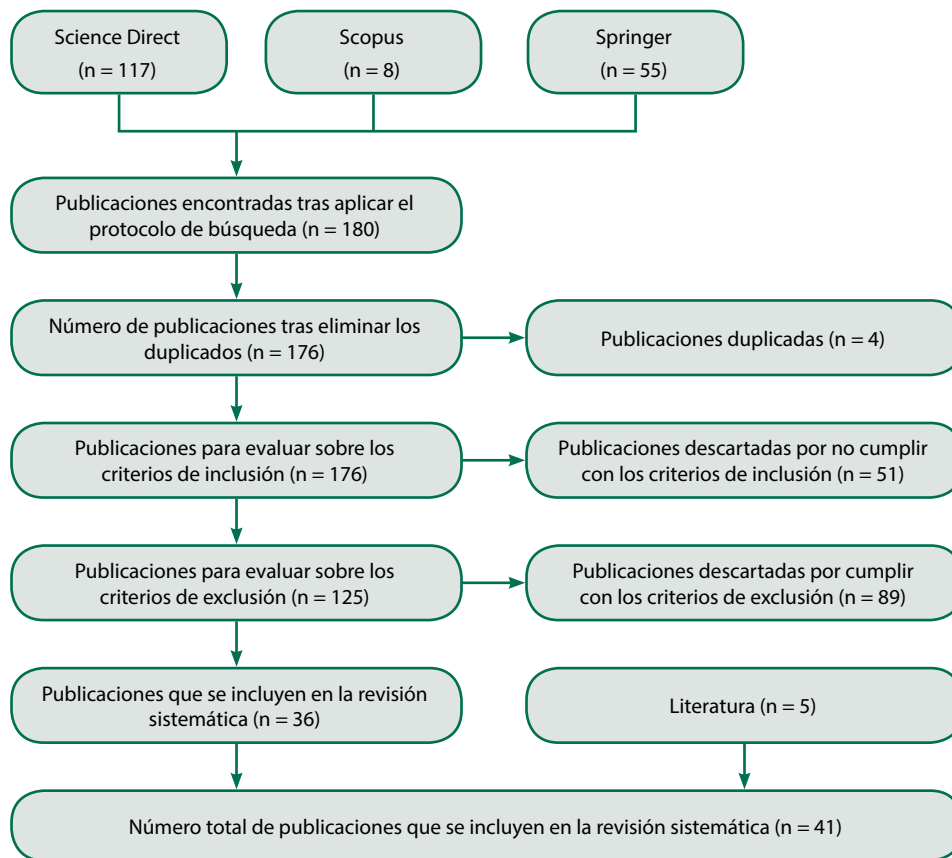


Figura 1. Diagrama del protocolo de búsqueda

En esta búsqueda sistemática se encontraron 41 artículos científicos provenientes de estudios realizados en 17 países diferentes (Fig. 2), aquí se destacan países como Estados Unidos el cual aporta el mayor número de estudios realizados con un 20,5 %, seguido de Brasil y Argentina con un aporte cada uno del 9,1 %.

En orden consecutivo les siguen países como Francia, Grecia, España y China representando cada uno un aporte del 6,8 %, inmediatamente seguidos por los países de Vietnam, Canadá, Corea del sur, Irán e India cada uno con un porcentaje del 4,5 %, y finalmente, los países que menos publicaciones de artículos en revistas tienen son Australia, Japón, Tailandia, Eslovenia y Portugal representando cada uno el 2,3 %.



Figura 2. Países de origen de las publicaciones encontradas en la revisión sistemática

En el análisis de cada uno de los artículos, se observó como la mayoría de los estudios realizados fueron publicados en la revista Food Control (categoría Q1) con 9 publicaciones, International Journal of Food Microbiology (categoría Q2) con 6 publicaciones y en revistas como LWT - Food Science

y Technology y Food Microbiology (categoría Q1) se encontraron 5 publicaciones en cada revista (Fig. 3). Se resalta que la temática general de las revistas de las cuales son originarias las publicaciones pertenece a las áreas agroalimentarias y la microbiología alimentaria.

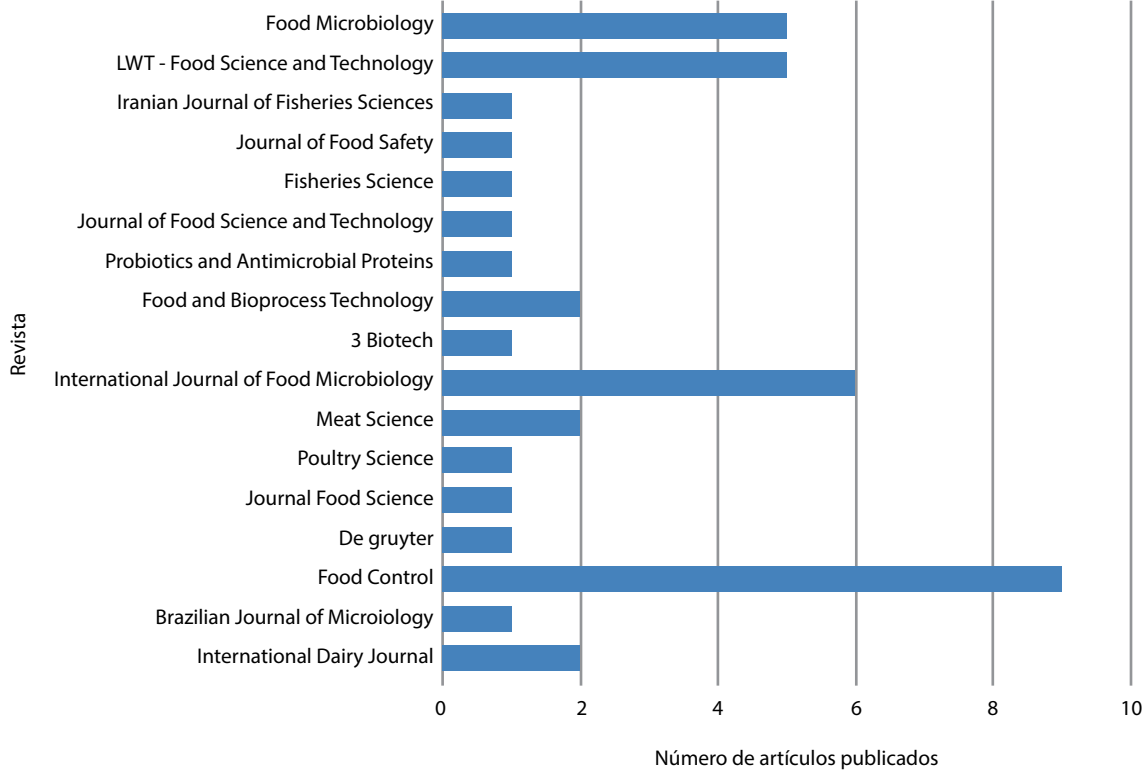


Figura 3. Revistas en las cuales fueron publicados los estudios incluidos en la revisión sistemática.

Los estudios realizados empleando la nisina sobre una matriz alimentaria tiene una mayoría de publicaciones en los años 2008, 2011, 2014 y 2017, represen-

tando el 53,6 % del total de las publicaciones realizadas desde el 2007 (Fig. 4).

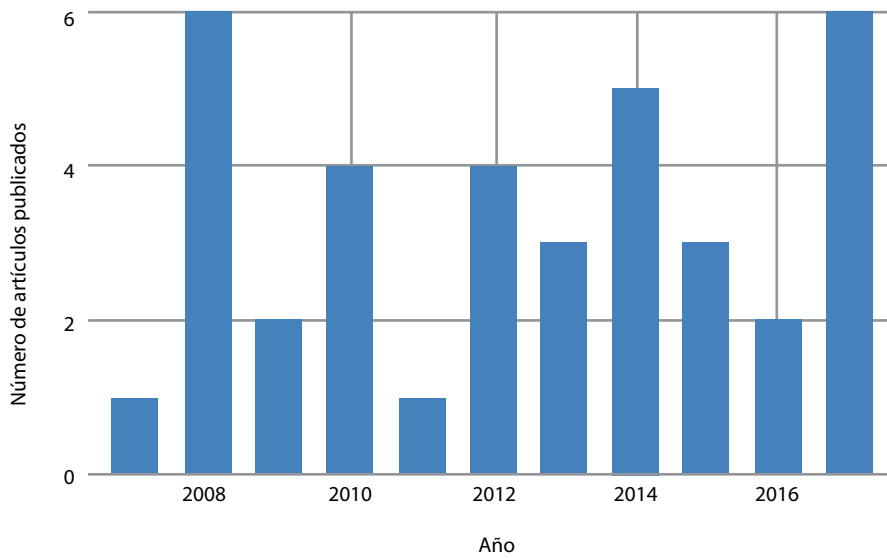


Figura 4. Publicaciones incluidas en la revisión sistemática por año.

USOS DE LA NISINA DE ACUERDO A LA MATRIZ EVALUADA

El departamento nacional de agricultura de los Estados Unidos define como matriz alimentaria a aquellos componentes nutrientes y no nutrientes de los alimentos y sus relaciones moleculares.¹⁵ El uso de la nisina es eficiente cuando se utiliza como antimicrobiano en las matrices de alimentos al evitar que microorganismos patógenos deterioren la calidad de los alimentos. En la **tabla 1** se puede observar como la nisina se usó en diferentes matrices alimentarias por distintos autores.

Tabla 1. Artículos analizados en el estudio según la matriz evaluada

Referencia	Matriz Alimentaria
3, 9, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23	Queso
24, 25, 26, 27, 28, 29	Pescado
30, 31, 32, 33, 34	Embutidos
6, 8, 13, 35, 36, 37, 38	Leche
39, 40, 41, 42, 43, 44	Carne
45	Almidón
10	Vino
2, 46	Frutas y verduras
47	Jugo de caña de azúcar
48	Jugo de tomate
49	Aderezos

En el caso del queso como matriz estudiada fue común observar que la actividad de la nisina perdió potencial, debido a las interacciones de ésta con los componentes de la matriz, y en algunos casos la nisina no migró demasiado dentro del queso, pero su efecto fue suficiente presentando una actividad inhibitoria de 25 µg/ml, valor que ha sido demostrado para inhibir bacterias en quesos contaminados por microorganismos indeseables de manera superficial como *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*;¹⁹ en cuanto a los quesos inoculados con *L. innocua* en profundidad, se encontró que la eficacia antimicrobiana dependía de la distancia desde la superficie de contacto.¹⁹ En el estudio realizado por Lourenço *et al.*, se muestra como una preparación seca comercial de nisina causó una reducción inicial en el recuento de *L. monocytogenes* en las concentraciones ensayadas, y la concentración más alta de nisina (0,5 g/kg) causó inmediatamente una reducción de 3 logaritmos de unidades formadoras de colonia (UFC) por gramo.

Cuando se usó el pescado como matriz los resultados revelaron que la nisina en forma libre y encapsulada era eficaz contra la proliferación de diversas categorías de microorganismos que pueden causar el deterioro de los alimentos; incluyendo poblaciones aeróbicas y psicrotróficas y bacterias ácido lácticas. La vida útil de los productos tratados se prolongó de 7 a 30 días cuando se utilizó la nisina de forma encapsulada respecto a la nisina utilizada de forma libre.²⁴ El uso en forma encapsulada de la nisina disminuyó significativamente las poblaciones iniciales de *L. monocytogenes* y se comprobó que es más eficaz para retrasar el crecimiento de este microorganismo.²⁹

El efecto antimicrobiano de la nisina en los embutidos acompañado de un procesamiento del producto a alta presión, logra evidenciar una reducción de los recuentos de *L. monocytogenes* e incluso inhibieron su crecimiento a lo largo del almacenamiento en refrigeración.³² Este procesamiento mejora la seguridad y prolonga la vida útil de los productos alimenticios listos para el consumo, puesto que permite la inactivación de microorganismos y enzimas endógenas, manteniendo los nutrientes y sabores en los productos. El procesamiento a alta presión provoca lesiones letales o subletales en los microorganismos, facilitando el acceso de la nisina a la membrana del citoplasma como resultado de la permeabilización de la pared celular, inhibiendo así el crecimiento microbiano.³¹ En estas mismas matrices también se confirmó el efecto inhibitorio de la nisina sobre el crecimiento total de las bacterias ácido lácticas.³³

En la leche, la eficacia de la nisina sólo puede mantenerse por corto tiempo dado que presenta una reducción en su eficiencia por la interacción entre la bacteriocina con los glóbulos de grasa y sus proteínas;⁸ pese a esta reducción de la actividad de la nisina en todos los estudios donde la leche fue la matriz estudiada, la nisina tuvo un efecto antilisterial ideal reduciendo la población de *L. monocytogenes* por debajo del límite de detección de 1 log UFC/mL en 4 h y mantuvo este efecto hasta por 7 días a 21°C. También se encontró un efecto antimicrobiano cuando la nisina se aplicó de forma libre y encapsulada (0,25 mg/L –considerando una concentración altamente efectiva–), y a pesar de que una temperatura de 6 ± 1°C, empleada para el almacenamiento de la leche, representó un factor determinante para evitar la

proliferación de microorganismos patógenos; se observó, en las muestras de leche entera y descremada analizadas, una disminución aproximada de 0,6 log UFC/mL de esporas de *Bacillus cereus*.⁸

Matrices alimentarias como la carne pueden ser fácilmente susceptibles a la contaminación por microorganismos; muchas veces estos microorganismos pueden ser patógenos y pueden conllevar a graves enfermedades transmitidas por los alimentos.² Las células bacterianas en la carne resultan lesionadas en sus estructuras debido a procesos de estrés térmico como la congelación, aunque *L. monocytogenes* es generalmente resistente a la inactivación durante la congelación y el almacenamiento por largos periodos de tiempo; el estrés causado por estos tratamientos es capaz de disminuir el potencial de crecimiento de *L. monocytogenes* y se vuelven más sensibles a los antimicrobianos como la nisina.²

La actividad inhibitoria de la nisina contra *L. monocytogenes* en la carne de vacuno depende del nivel de suplementación y la temperatura de almacenamiento. Solomakos *et al.*, encontraron que una concentración de nisina de 150-600 UI/mL tiene poco efecto inhibitorio contra *L. monocytogenes*, el cual puede deberse a la unión de la nisina a proteínas y grasas o a la reacción con proteasas presentes en la carne.⁴⁴

Estudios como los de Govaris *et al.*⁴¹ y Piskernik *et al.*⁴³ los cuales evaluaron *Salmonella enteritidis* y *Campylobacter jejuni*, respectivamente, en carnes, demostraron que la nisina no es capaz de inactivar las bacterias Gram negativas ya que estas están cubiertas por una membrana externa gruesa que las protege.

En el estudio realizado por Flores *et al.*, donde se estudió la eficacia de la nisina sobre el almidón, se encontró que la nisina fue efectiva contra *L. innocua* y *Zygosaccharomyces bailii*, proporcionando un espectro inhibitorio. Los agentes antimicrobianos modificaron las propiedades físicas de las películas, produciendo una menor tensión y elasticidad, y una mayor tensión a la ruptura, solubilidad y proporcionando películas más oscuras, manteniendo un comportamiento adecuado como material de envasado.⁴⁵

Cuando se evaluó el efecto de la nisina sobre el vino, se observó que con valores de concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de 0,024 µg/mL para *Oenococcus oeni* y 12,5 µg/mL para otras especies de bacterias ácido lácticas fueron suficientes para generar

un efecto antimicrobiano eficaz. El efecto inhibitorio de la nisina aumentó ligeramente en presencia de bajas concentraciones de etanol (6 %) disminuyendo así, los valores de las CMI en un orden de dilución para *O. oeni*.¹⁰

Por otro lado, el efecto inhibitorio de la nisina en frutas y verduras no presentó alta sensibilidad, pues el objetivo de este estudio fue investigar la eficacia de las sustancias antimicrobianas naturales para inhibir las bacterias del deterioro vegetal, utilizando la difusión con disco en agar y los métodos de dilución en caldo; estos resultados podrían ser utilizados para el desarrollo de nuevos métodos de saneamiento o preservación para mejorar la frescura y extender la vida útil de los productos frescos.²

La dosis de nisina requerida para la inhibición completa de bacterias en el jugo de caña de azúcar fue directamente proporcional al número de éstas células; además, inhibe las bacterias a 30 °C más eficientemente que a 4 °C. La nisina se puede utilizar como conservante de alimentos con la consideración de su dependencia de las especies de bacterias, el número de células bacterianas contaminantes y la temperatura. En esta matriz (jugo de caña de azúcar), la nisina se usó contra *Shigella* spp., y se observó que el número de bacterias disminuyó a medida que se aumentaba la concentración de nisina.⁴⁷ Cabe resaltar que la dosis permitida de nisina varía según la normatividad de cada país.

La actividad de la nisina se potencia cuando se aplica en medios líquidos o alimentos en lugar de productos sólidos o heterogéneos, ya que se distribuye más homogéneamente; es así como en uno de los estudios, en el que utilizaron matrices poliméricas como quitosán, alginato de sodio y Pluronic F68 para encapsular 0,5, 1, 1,5 mg/mL de nisina, se logró evidenciar *in vitro* la liberación controlada y sostenida de nisina; adicionalmente, el polímero y la nisina lograron establecer una relación sinérgica en la cual la actividad antimicrobiana de este antimicrobiano se mantuvo por varios días. La nisina libre aplicada en el jugo de tomate mostró actividad antimicrobiana contra *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica* y *Eenterobacter aerogenes* hasta el día seis. En contraste, el efecto inhibitorio de la nisina encapsulada en las nanopartículas contra *M. luteus*, *P. aeruginosa*, *S. enterica* y *E. aerogenes* se prolongó durante al menos 20 días.⁴⁸

La eficacia antimicrobiana de los conservantes en aderezos para ensaladas podría verse afectada por la presencia de otros conservantes, el contenido de aceite y la adición de tensioactivos, no sólo debido a sus interacciones químicas con el resto de los componentes de los alimentos sino también por la estructura que dan a la matriz alimentaria que condicionaría el crecimiento microbiano. La adición de 0,5 g/kg de nisina a emulsiones que imitan los aderezos para ensaladas inhibe el crecimiento de *Lactobacillus fructivorans*, microorganismo responsable del deterioro de las frutas enlatadas durante el almacenamiento de cuatro días a 30°C, demostrando tener una acción bactericida contra este microorganismo.⁴⁹

INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO DE MICROORGANISMOS PRESENTES EN MATRICES ALIMENTARIAS

La inhibición del crecimiento de los microorganismos es el efecto más comúnmente observado por la nisina, el cual es mediado por un mecanismo de acción que desestabiliza las funciones de la membrana citoplasmática debido a la formación de poros. La nisina ha demostrado un modo de acción dual, ésta se une a la pared celular mediante interacciones electrostáticas gracias a la carga positiva de este antimicrobiano; y posteriormente se une al transportador principal de las subunidades de peptidoglicano desde el citoplasma hasta la pared celular, interfiriendo así con la síntesis correcta de la pared celular, lo que a su vez induce la formación de un poro transmembranal que permite la salida de aminoácidos, sales y ATP, un proceso que conduce a la muerte celular.¹²

Tabla 2. Efecto de la nisina sobre el crecimiento microbiano

Microorganismos evaluados	Referencia	Resultado o actividad
<i>Listeria monocytogenes</i>	8, 13, 16, 18, 20, 21, 23, 25, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 34, 35, 36, 39, 42, 50	Inhibición
<i>Listeria innocua</i> <i>Listeria innocua</i> NCTC 11288	3, 17, 22, 38, 45	Inhibición
<i>Escherichia coli</i> O157	16, 40	No inhibición
<i>Salmonella enteritidis</i>	41	No inhibición
<i>Salmonella typhimurium</i>	46	Inhibición
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	45	Inhibición
<i>Oenococcus oeni</i> , <i>Leuconostoc</i> sp., <i>Pediococcus</i> spp.	10	Inhibición
<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus cereus</i>	6, 8, 22, 23, 37	Inhibición
<i>Micrococcus luteus</i>	19, 24, 36, 48	Inhibición
<i>Shigella</i> spp.	47	Inhibición
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> MTCC 424, <i>Salmonella enterica</i> MTCC 1253, <i>Enterobacter aerogenes</i> MTCC 2823	48	Inhibición parcial
<i>Lactobacillus sakei</i> <i>Lactobacillus fructivorans</i> <i>Lactobacillus</i> spp.	10, 33, 49	Inhibición
<i>Chryseobacterium balustinum</i> , <i>Enterobacter</i> sp., <i>Pantoea agglomerans</i> , <i>Bacillus pumilus</i> , <i>C. michiganensis</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> , <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	Inhibición de <i>B. pumilus</i> , <i>C. michiganensis</i> y <i>A. calcoaceticus</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	43	No inhibición
<i>E. coli</i> NCTC 9001, <i>Salmonella</i> spp. ATCC 3076, <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Yarrowia lipolytica</i>	22	No inhibición

Se resalta que el microorganismo más estudiado es *L. monocytogenes* (Tabla 2), esto se debe a que es una bacteria gram positiva resistente a los métodos tradicionales utilizados para la inhibición de su crecimiento; además es causante de listeriosis una enfermedad poco usual pero severa y que hoy en día es una de las enfermedades de transmisión alimentaria (ETAs) más letales que se conoce, lo que causa interés a productores de alimentos, consumidores y autoridades.⁵¹

En los casos donde no se presentó inhibición puede deberse a que el efecto de la nisina sobre la matriz depende de su concentración como lo reportado por Govaris *et al.* en estudios con *Salmonella enteritidis*, quienes demostraron que el tratamiento fue insuficiente con la concentración suministrada de nisina (500 o 1000 UI/g). En el caso de *Escherichia coli* O157, esta disminución en la inhibición puede ser debida a la incapacidad de la nisina para actuar sobre algunas de las bacterias Gram-negativas debido al papel protector de la estructura externa, que protege la membrana citoplasmática y la capa de peptidoglicano de este grupo de bacterias.

Sin embargo, se presentaron algunos casos donde la nisina fue capaz de inhibir parcialmente el crecimiento de bacterias Gram negativas como lo reportado por Bernela *et al.* quienes evaluaron la actividad de la nisina de manera libre y encapsulada contra *P. aeruginosa*, *S. enterica* y *E. aerogenes*. En el caso de la nisina libre, el efecto duró 3 días y posteriormente comenzó el crecimiento bacteriano, lo que indica que no se prolongó la actividad antibacteriana por más tiempo. Por el contrario, el efecto inhibitorio de la nisina encapsulada contra estas bacterias se prolongó durante los 20 días de observación, lo que indica que la nisina encapsulada se liberó lentamente y, por lo tanto, exhibió un efecto antimicrobiano más duradero; esto da cuenta que el modo de empleo de la nisina puede ser un factor importante a la hora de inhibir bacterias Gram negativas en los alimentos.

Para el caso presentado por los estudios con *Lactobacillus sakei*, el alto efecto inhibitorio de la nisina fue mucho mayor que el efecto de otras variables estudiadas sobre la inhibición del crecimiento. Un aumento en la concentración de la nisina retardó el crecimiento de *L. sakei*.³³

MODOS DE EMPLEO DE LA NISINA EN LAS MATRICES ALIMENTARIAS

En los artículos analizados durante la revisión bibliográfica, se observa que predomina el uso de la nisina en forma libre con un 66,3 % (Figura 5); especialmente en las matrices líquidas como los jugos dado que la actividad de este antimicrobiano se potencia cuando se aplica en medios líquidos o alimentos en lugar de productos sólidos o heterogéneos, pues la nisina se distribuye más homogéneamente en dichas matrices;⁵² sin embargo, la aplicación directa de conservantes a las matrices, a menudo, no es eficaz, ya que puede unirse a la matriz de alimentos e interactuar con componentes de estas, dando como resultado una pérdida en la actividad; de acuerdo con esto, en el 22,1 % de los artículos analizados se plantea la inmovilización de nisina, ya que en su forma encapsulada se libera de manera lenta, y por lo tanto, muestra un efecto antimicrobiano más duradero. Algunos de los agentes portadores para la nisina encapsulada fueron: goma arábica,⁸ cápsulas de zeína,^{24,36} alginato o quitosano,^{26,48,52} liposomas^{16,35,21} y polietileno;¹⁸ cabe resaltar que las propiedades sensoriales de los alimentos no se alteraron. En un 11,6 % de los artículos revisados se describió otra modalidad, en este caso las películas activas; se demostró que la liberación gradual de la nisina desde una película a la superficie de la matriz puede ser más ventajosa que incorporarla a los alimentos,³⁴ por lo tanto, es un método prometedor para superar problemas asociados a la seguridad microbiana en alimentos y la contaminación posterior al proceso de envasado; y aunque hay pocos estudios sobre este método, sería interesante analizar éstas películas con una mayor concentración de nisina, así como periodos de almacenamiento más largos y analizar su acción contra otros microorganismos indeseables como lo son los mohos y las levaduras.³ Entre los materiales utilizados para fabricar estas películas se describen los siguientes: pectina,⁴⁴ caseinato,³ hidroxipropilmetilcelulosa⁴⁵ y quitosano.³⁴

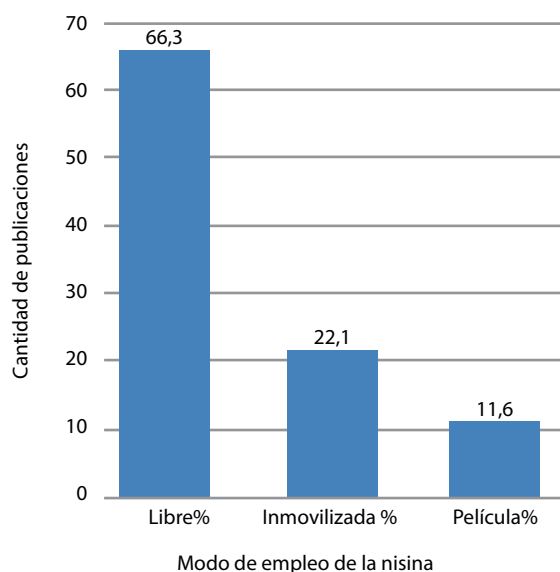


Figura 5. Principales modos de empleo de la nisina sobre las matrices alimentarias

CONCLUSIONES

En todos los estudios se evidenció la enorme preocupación por mantener la inocuidad en sus productos, dando paso a diferentes aportes por parte de las investigaciones acerca del uso de la nisina en diferentes matrices alimentarias, dando lugar a nuevos interrogantes en cuanto a estrategias de cómo debe ser suministrada la nisina, uso de otras concentraciones y análisis de otros microorganismos no deseados que alteran la inocuidad de los alimentos.

De acuerdo a las matrices alimentarias estudiadas en esta revisión, los alimentos que presentaron más estudios en cuanto a la incorporación de nisina, fueron la leche y sus derivados; en este caso, la nisina ejerció un efecto antimicrobiano y redujo la población de bacterias Gram positivas como *L. monocytogenes*, *B. cereus* y *S. aureus*.

De igual forma, se destaca el uso de la nisina en su forma libre, inmovilizada y en película, mostrando un efecto – en todos los casos - contra microorganismos presentes en los alimentos.

En el análisis de los artículos, se pudo comprobar el efecto antimicrobiano de la nisina en las matrices alimentarias contra microorganismos Gram positivos,

como lo es el caso de *L. monocytogenes*, principal contaminante de alimentos entre los cuales se destacan los lácteos, embutidos y almidón, y causante de enfermedades transmitidas por el consumo de estos. En todos los casos, la adición de nisina inhibió su crecimiento, permitiendo obtener alimentos inocuos para el consumo humano sin la necesidad de adicionar otras sustancias. Además, se constató la efectividad de la nisina contra algunas bacterias Gram negativas de acuerdo al modo de su uso en la matriz; por lo tanto, es de gran importancia realizar investigaciones futuras para determinar el efecto de la nisina contra bacterias Gram negativas en la industria de los alimentos, dado que se conoce muy poco el efecto de este antimicrobiano contra este tipo de microorganismos.

Finalmente, se describe que cuando se utiliza la nisina como agente antimicrobiano, independiente del tipo de matriz alimentaria en el que es aplicada, la mayoría de las veces los resultados coinciden en lograr alargar la vida útil de los productos sin necesidad de que resulten afectadas las propiedades organolépticas y fisicoquímicas de las mismas.

REFERENCIAS

1. Sierra L, Montoya O, Ciro HJ. Evaluación de la nisina como sustancia inactivadora de *Bacillus licheniformis* en el extracto líquido de café. *Revista MVZ*. 2013;18.
2. Zheng L, Bae YM, Jung KS, Heu S, Lee SY. Antimicrobial activity of natural antimicrobial substances against spoilage bacteria isolated from fresh produce. *Food Control*. 2013;32(2):665-672.
3. Cao-Hoang L, Grégoire L, Chaine A, Waché Y. Importance and efficiency of in-depth antimicrobial activity for the control of listeria development with nisin-incorporated sodium caseinate films. *Food Control*. 2010;21(9):1227-1233.
4. Gómez Cárdenas L, Ponce-Alquicira E, Ernlund Freitas Macedo R, Rubio Lozano MS. Efecto de antimicrobianos naturales sobre la estabilidad físico-química, microbiológica y sensorial de hamburguesas de res mantenidas en refrigeración. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. 2013;4(3):255-270.
5. Agudelo N. Estado del arte de la obtención de bacteriocinas a partir de bacterias ácido lácticas y su aplicación en la industria de alimentos. Medellín: Universidad Pontificia Bolivariana, Escuela de Ingenierías; 2013.
6. Shi C, Zhao X, Meng R, Liu Z, Zhang G, Guo N. Synergistic antimicrobial effects of nisin and p-Anisaldehyde on *Staphylococcus aureus* in pasteurized milk. *LWT-Food Science and Technology*. 2017;84:220-230.

7. **Kruger MF, de Souza Barbosa M, Miranda A, Landgraf M, Destro MT, Todorov SD, et al.** Isolation of bacteriocinogenic strain of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* from Rocket salad (*Eruca sativa* Mill.) and evidences of production of a variant of nisin with modification in the leader-peptide. *Food Control*. 2013;33(2):467-476.
8. **Martínez RCR, Alvarenga VO, Thomazini M, Fávoro-Trindade CS, de Souza Sant'Ana A.** Assessment of the inhibitory effect of free and encapsulated commercial nisin (Nisaplin®), tested alone and in combination, on *Listeria monocytogenes* and *Bacillus cereus* in refrigerated milk. *LWT-Food Science and Technology*. 2016;68:67-75.
9. **Cao-Hoang L, Chaine A, Grégoire L, Waché Y.** Potential of nisin-incorporated sodium caseinate films to control *Listeria* in artificially contaminated cheese. *Food Microbiology*. 2010;27(7):940-944.
10. **Sáenz Y, Rojo-Bezares B, Zarazaga M, Torres C, Ruiz-Larrea F.** Antimicrobial activity of nisin against *Oenococcus oeni* and other wine bacteria. *International Journal of Food Microbiology*. 2007;116(1):32-36.
11. **Galvagno MA, Gil GR, Iannone LJ, Cerrutti P.** Exploring the use of natural antimicrobial agents and pulsed electric fields to control spoilage bacteria during a beer production process. *Revista Argentina de Microbiología*. 2007;39(3):170-176.
12. **Beristain SC, Palou E, López A.** Bacteriocinas: antimicrobianos naturales y su aplicación en los alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos* 2012;6(2):64-78.
13. **Chen H, Zhong Q.** Lactobionic acid enhances the synergistic effect of nisin and thymol against *Listeria monocytogenes* Scott A in tryptic soy broth and milk. *International Journal of Food Microbiology*. 2017;260:36-41.
14. **Urrútia G, Bonfill X.** Prisma declaration: a proposal to improve the publication of systematic reviews and meta-analyses. *Med Clin*. 2010;135(11):507-511.
15. **USDA.** Matriz alimentaria, definición [Internet]. [Consultado en 2017]. Disponible en: <https://agclass.nal.usda.gov/mtwdk.exe?k=2007es&l=115&w=17240&n=1&s=5&t=2>
16. **Taylor T, Bruce BD, Weiss J, Davidson PM.** *Listeria Monocytogenes* and *Escherichia coli* O157: H7 Inhibition In Vitro by liposome-encapsulated nisin and ethylene diaminetetraacetic acid. *Journal of Food Safety*. 2008;28(2):183-197.
17. **Fernández MV, Jagus RJ, Mugliaroli, SL.** Effect of Combined Natural Antimicrobials on Spoilage Microorganisms and *Listeria innocua* in a Whey Cheese "Ricotta". *Food and Bioprocess Technology*. 2014;7(9):2528-2537.
18. **Haiying Cu, Wu J, Li C, Lin L.** Improving anti-listeria activity of cheese packaging via nanofiber containing nisin-loaded nanoparticles. *LWT-Food Science and Technology*. 2017;81:233-242.
19. **Chollet E, Sebti I, Martial-Gros A, Degraeve P.** Nisin preliminary study as a potential preservative for sliced ripened cheese: NaCl, fat and enzymes influence on nisin concentration and its antimicrobial activity. *Food Control*. 2008;19(10):982-989.
20. **Lourenço A, Kamnetz MB, Gadotti C, Diez-Gonzalez F.** Antimicrobial treatments to control *Listeria monocytogenes* in queso fresco. *Food microbiology*. 2017;64:47-55.
21. **P da Silva Malheiros P, Sant'Anna V, de Souza Barbosa M, Brandelli A, de Melo Franco, BDG.** Effect of liposome-encapsulated nisin and bacteriocin-like substance P34 on *Listeria monocytogenes* growth in Minas frescal cheese. *International Journal of Food Microbiology*. 2012;156(3):272-277.
22. **Ramos ÓL, Santos AC, Leão MV, Pereira JO, Silva SI, Fernandes JC, Malcata FX.** Antimicrobial activity of edible coatings prepared from whey protein isolate and formulated with various antimicrobial agents. *International Dairy Journal*. 2012;25(2):132-141.
23. **Sharma C, Singh BP, Thakur N, Gulati S, Gupta S, Mishr, SK, Panwar H.** Antibacterial effects of *Lactobacillus* isolates of curd and human milk origin against food-borne and human pathogens. *3 Biotech*. 2017;7(1):31.
24. **Shamloofar M, Hoseini E, Kamali A, Motalebi Moghanjoghi AA, Poorgholm R.** Antibacterial activities of nisin encapsulated in zein and modified atmosphere packaging on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet during chilled storage 4 C. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 2015;14(2):369-381.
25. **Bagenda DK, Yamazaki K, Kobayashi T, Kawai Y.** Assessing and enhancing the antimicrobial effect of nisin in soy-seasoned salmon *Oncorhynchus keta* roe using a *Pediococcus pentosaceus* fermentate and pectin. *Fisheries Science*. 2010;76(2):395-401.
26. **Tiantian Wu, Chunhua Wu, Zhongxiang Fang, Xiaobin Ma, Shiguo Chen, Yaqin Hu.** Effect of chitosan microcapsules loaded with nisin on the preservation of small yellow croaker. *Food Control*. 2017;79:317-324.
27. **Abdollahzadeh E, Rezaei M, Hosseini H.** Antibacterial activity of plant essential oils and extracts: The role of thyme essential oil, nisin, and their combination to control *Listeria monocytogenes* inoculated in minced fish meat. *Food Control*. 2014;35(1):177-183.
28. **Tang S, Stasiewicz MJ, Wiedmann M, Boor KJ, Bergholz TM.** Efficacy of different antimicrobials on inhibition of *Listeria monocytogenes* growth in laboratory medium and on cold-smoked salmon. *International Journal of Food Microbiology*. 2013;165(3):265-275.
29. **Kang J, Stasiewicz MJ, Murray D, Boor KJ, Wiedmann M, Bergholz TM.** Optimization of combinations of bactericidal and bacteriostatic treatments to control *Listeria monocytogenes* on cold-smoked salmon. *International Journal of Food Microbiology*. 2014;179:1-9.

30. **Ghabraie M, Vu KD, Huq T, Khan A, Lacroix M.** Antilisterial effects of antibacterial formulations containing essential oils, nisin, nitrite and organic acid salts in a sausage model. *Journal of food science and technology*. 2016;53(6): 2625-2633.
31. **Marcos B, Aymerich T, Garriga M, Arnau J.** Active packaging containing nisin and high pressure processing as post-processing listericidal treatments for convenience fermented sausages. *Food Control*. 2013;30(1):325-330.
32. **Figueiredo ACL, Almeida RC.** Antibacterial efficacy of nisin, bacteriophage P100 and sodium lactate against *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat sliced pork ham. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2017;
33. **Kalschne DL, Geitenes S, Veit MR, Sarmiento CM, Colla E.** Growth inhibition of lactic acid bacteria in ham by nisin: a model approach. *Meat Science*. 2014; 98(4):744-752.
34. **Ye M, Neetoo H, Chen H.** Control of *Listeria monocytogenes* on ham steaks by antimicrobials incorporated into chitosan-coated plastic films. *Food Microbiology*. 2008;25(2):260-268.
35. **Schmidt SE, Holub G, Sturino JM, Taylor TM.** Suppression of *Listeria monocytogenes* Scott A in fluid milk by free and liposome-entrapped nisin. *Probiotics and antimicrobial proteins*. 2009;1(2):152-158.
36. **Xiao D, Davidson PM, Zhong Q.** Release and antilisterial properties of nisin from zein capsules spray-dried at different temperatures. *LWT-Food Science and Technology*. 2001;44(10):1977-1985.
37. **Pulido RP, del Árbol JT, Burgos MJG, Gálvez A.** Bactericidal effects of high hydrostatic pressure treatment singly or in combination with natural antimicrobials on *Staphylococcus aureus* in rice pudding. *Food Control*. 2012;28(1):19-24.
38. **Von Staszewski M, Jagus RJ.** Natural antimicrobials: effect of Microgard™ and nisin against *Listeria innocua* in liquid cheese whey. *International Dairy Journal*. 2008;18(3):255-259.
39. **Solomakos N, Govaris A, Koidis P, Botsoglou N.** The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin, and their combination against *Listeria monocytogenes* in minced beef during refrigerated storage. *Food microbiology*. 2008;25(1):120-127.
40. **Solomakos N, Govaris A, Koidis P, Botsoglou N.** The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin and their combination against *Escherichia coli* O157: H7 in minced beef during refrigerated storage. *Meat Science*. 2008;80(2):159-166.
41. **Govaris A, Solomakos N, Pexara A, Chatzopoulou PS.** The antimicrobial effect of oregano essential oil, nisin and their combination against *Salmonella Enteritidis* in minced sheep meat during refrigerated storage. *International Journal of Food Microbiology*. 2010;137(2):175-180.
42. **Moon SH, Paik HD, White S, Daraba A, Mendonca AF, Ahn DU.** Influence of nisin and selected meat additives on the antimicrobial effect of ovotransferrin against *Listeria monocytogenes*. *Poultry Science*. 2011;90(11):2584-2591.
43. **Piskernik S, Klančnik A, Riedel CT, Brøndsted L, Možina SS.** Reduction of *Campylobacter jejuni* by natural antimicrobials in chicken meat-related conditions. *Food Control*. 2011;22(5):718-724.
44. **Zheng H, Zhang D, Guo K, Dong K, Xu D, Wu Z.** Online recovery of nisin during fermentation coupling with foam fractionation. *Journal of Food Engineering*. 2015;162:25-30.
45. **Flores SK, Basch CY, Jagus RJ.** Physical and antimicrobial properties of tapioca starch-HPMC edible films incorporated with nisin and/or potassium sorbate. *Food and Bioprocess Technology*. 2012;6(9):2419-2428.
46. **Doucet N, Ndoti-Nembe A, Vu KD, Han J, Lacroix M.** Antimicrobial Effects of Nisin, Essential Oil, and γ -Irradiation Treatments against High Load of *Salmonella typhimurium* on Mini-carrots. *Journal of Food Science*. 2015;80(7).
47. **Punyaappa-Path S, Phumkhachorn P, Rattana-chaikunsopon P.** Factors influencing synergistic antimicrobial activity of thymol and nisin against *Shigella* spp. in sugarcane juice. *Biologia*. 2015;70(8):1003-1010.
48. **Bernela M, Kaur P, Chopra M, Thakur R.** Synthesis, characterization of nisin loaded alginate-chitosan-pluronic composite nanoparticles and evaluation against microbes. *LWT-Food Science and Technology*. 2014;59(2):1093-1099.
49. **Castro MP, Rojas AM, Campos CA, Gerschenson LN.** Effect of preservatives, tween 20, oil content and emulsion structure on the survival of *Lactobacillus fructivorans* in model salad dressings. *LWT-Food Science and Technology*. 2009;42(8):1428-1434.
50. **Jiang Z, Neetoo H, Chen H.** Efficacy of freezing, frozen storage and edible antimicrobial coatings used in combination for control of *Listeria monocytogenes* on roasted turkey stored at chiller temperatures. *Food microbiology*. 2011;28(7):1394-1401.
51. **Mc Lachlan CAS.** Antagonismo en contra de *Listeria monocytogenes* de Nisina y de una Cepa Láctica, Encapsuladas en Alginato. [Tesis para optar al título de Ingeniería de Alimentos]. Chile: Universidad Austral de Chile; 2007.
52. **Chopra M, Kaur P, Bernela M, Thakur R.** Surfactant assisted nisin loaded chitosan-carageenan nanocapsule synthesis for controlling food pathogens. *Food Control*. 2014;37:158-164.
53. **Valencia-García FE, Motato-Rocha KE, Vera-Peña MY, Sepúlveda-Lindarte, ML.** Kinetic parameters of lactic acid bacterial isolated from fermented milk "Sue-ro Costeño". *DYNA*. 2018;85(206):155-161.