

REVISIÓN



Gac Med Bilbao. 2019;116(3):166-173

Nisina (N 234), aditivo utilizado como conservante en alimentos

Sánchez-Martín María-Almudena, Salgado-Calvo María-Tránsito, San-Miguel-Hernández Ángel^a, Pachón-Julián Jesús, Rodríguez-Barbero Emilio^b, Pastor-Martín María-Rosario, Cabrero-Lobato Patricia

(a) Sanidad de Castilla y León, Hospital Universitario Río Hortega, Servicio de Análisis Clínicos, Valladolid, Castilla y León, España

(b) Universidad Internacional Isabel I de Castilla, Facultad de Ciencias de la Salud, Burgos, Castilla y León, España

Recibido el 25 de abril de 2019; aceptado el 23 de agosto de 2019

PALABRAS CLAVE

Nisina.
Aditivo.
Alimentos.
EFSAB.

Resumen:

La nisina es una sustancia polipeptídica (antibiótico) producida por diferentes cepas de *Lactococcus lactis* y *Streptococcus lactis* a partir de una fermentación en medio lácteo modificado y contiene una treintena de aminoácidos. Es un aditivo utilizado en la industria de alimentos como sustancia conservadora. Entre sus aplicaciones se encuentran, productos lácteos, productos procesados, comidas y platos principales, postres y helados, sopas, salsas y condimentos, jugos de frutas, en panadería, en guarniciones y acompañamientos, etc. Actúa frente a las bacterias grampositivas, como *Clostridium ssp* y es estable en pH ácido y algo termosensible. El organismo la degrada y no produce resistencia cruzada con otros antibióticos, por lo que no es tóxica para las personas.

Se la conoce como E 234 y es empleada en la industria alimentaria, principalmente en la elaboración de quesos, y otros productos alimenticios como conservante en la prevención de las posibles alteraciones y también en la protección de diversas carnes, tanto si son crudas como precocinadas.

La nisina es una sustancia es ácida y es más estable en estas condiciones. Las soluciones de pH 2 son estables durante el almacenamiento prolongado entre 2-7 °C y pueden soportar el calentamiento hasta 121 °C sin pérdida de actividad. En condiciones alcalinas, la actividad se pierde y se destruye en 30 min. a 63 °C y pH 11. Hay una disminución parcial de actividad cuando se utiliza nisina en alimentos procesados debido al calentamiento.

Las concentraciones de nisina empleadas normalmente en la conservación de alimentos son totalmente solubles en agua y en otros líquidos de procesamiento, pero no es soluble en disolventes no polares.

© 2019 Academia de Ciencias Médicas de Bilbao. Todos los derechos reservados.

Nisin (N 234), additive used as a food preservative

Abstract:

Nisin is a polypeptide substance (antibiotic) produced by different strains of *Lactococcus lactis* and *Streptococcus lactis* from a fermentation in modified milk and contains about thirty amino acids. It is an additive used in the food industry as a preservative substance. Among its applications are dairy products, processed products, meals and main dishes, desserts and ice cream, soups, sauces and condiments, fruit juices, bakery, garnishes and accompaniments, etc. Acts against Gram positive bacteria, such as *Clostridium ssp* and stable acid pH and somewhat thermosensitive. The organism degrades it and does not cross-react with other antibiotics, so it is not toxic to people.

It is known as E 234 and is used in the food industry, mainly in the manufacture of cheeses, and other food products as a preservative in the prevention of possible alterations and also in the protection of various meats, whether raw or precooked.

The nisin a substance is acidic and is more stable under these conditions. The pH 2 solutions are stable during prolonged storage between 2-7 °C and can withstand heating up to 121 °C without loss of activity. In alkaline conditions, the activity is lost and destroyed in 30 min. at 63 °C and pH 11. There is a partial decrease in activity when nisin is used in processed foods due to heating.

The nisin concentrations normally used in food preservation are totally soluble in water and other processing liquids. And it is not soluble in non-polar solvents.

© 2019 Academia de Ciencias Médicas de Bilbao. All rights reserved.

KEYWORDS

Nisin.
Preservative.
Foods.
EFSA.

Introducción

Las bacteriocinas son péptidos obtenidos de bacterias acidolácticas con actividad antagónica contra algunas cepas relacionadas con la productora. Las bacteriocinas pueden servir como barreras bactericidas y ayudar a reducir el espectro de microorganismos que pudieran desarrollarse en el alimento¹⁻¹¹. Varias bacteriocinas poseen propiedades muy seguras para utilizarse en la conservación de alimentos, su utilización en la industria alimentaria disminuiría el uso de conservantes químicos y la intensidad de los tratamientos térmicos que permiten mantener los alimentos en buen estado, con ello se logran alimentos cuyas características organolépticas son mejores, así como sus propiedades nutricionales. Ofrecen por lo tanto una alternativa muy satisfactoria a la creciente demanda por parte de los consumidores de obtener alimentos más frescos, seguros y listos para comer con un mínimo procesado¹².

Estos son compuestos de origen natural, no tóxicos, que se degradan en el intestino por la acción de las proteasas. Inhiben distintos patógenos como *Clostridium*, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*, lo que las hace muy interesantes como conservantes, por su potencial aplicación en la industria de alimentos como agentes naturales de conservación⁹⁻¹⁶.

El efecto de distintos factores físico-químicos sobre la actividad de una bacteriocina no sólo tiene el fin de caracterizarla, sino también sirve para inferir su posible aplicación industrial, ya que las altas temperaturas y las amplias variaciones de pH son, entre otras, algunas de las condiciones que debe resistir una bacteriocina para ser útil como potencial agente inhibidor de microorganismos no deseados en procesos alimenticios como las

fermentaciones de leche, la maduración de los quesos, el curado de encurtidos, etcétera¹⁷⁻²⁸.

La única bacteriocina reconocida por la GRAS (Generally Recognized as Safety) desde 1988 y por la FDA (Food and Drug Administration) para utilizarse como conservante en alimentos es la nisina.

La nisina fue aislada en 1928 y comenzó a utilizarse como antimicrobiano. Presenta una actividad antimicrobiana frente a un rango limitado de bacterias grampositivas, particularmente sobre aquellas formadoras de



Figura 1. E 234, nisina, aditivo alimentario³².

esporas. La molécula es ácida y por tanto exhibe su mayor estabilidad bajo condiciones ácidas. Es también más soluble a pH bajo. Este biocompuesto funciona como antibiótico de reducido espectro ya que tienden a dañar solo a aquellos microorganismos similares a las bacterias que los producen.

La nisina es un antibiótico policíclico y peptídico, que se utiliza habitualmente como bioconservante, y es sintetizada de forma natural por *Lactococcus lactis*. La molécula contiene una treintena de aminoácidos entre los que destacan, la lantionina, el B-metil lantionina, la metilantionina, la dehidroalanina y el ácido dehidroaminobutírico. En la industria alimentaria se la conoce como E 234 y es empleada principalmente en la elaboración de quesos, como conservante en la prevención de las posibles alteraciones (figura 1). La nisina se comercializó por primera vez como conservante de alimentos en el Reino Unido hace aproximadamente 50 años. Su primer uso como conservante fue en productos procesados de queso; desde entonces es utilizado en muchos otros alimentos y bebidas. Actualmente es utilizado como conservante en más de 50 países²⁹. Además, también se emplea en la protección de diversas carnes, tanto si son crudas como precocinadas, mostrando cierta efectividad en la protección frente a cepas de *Listeria monocytogenes*²⁹⁻³¹.

Se ha demostrado eficaz frente a bacterias grampositivas, ya que su efecto sobre ellas es el de bloquear sus membranas. Se emplea igualmente frente a *Clostridium botulinum* y *Bacillus cereus*. Y también es bastante resistente a los tratamientos térmicos, especialmente en aquellos que se realizan en medio ácido, generalmente con pH menores de 3,5⁶.

La nisina es un aditivo alimentario que actualmente está autorizado en la UE para varias categorías de alimentos, bajo el Anexo II del Reglamento (CE) 1333/2008. En el Panel de la EFSA (European Food Safety Authority) de Aditivos, Aromas, Coadyuvantes Tecnológicos y Materiales en Contacto con Alimentos, ya se evaluó su seguridad hace algunos años, con un consumo

diario aceptable de 0,13 mg/kg de peso corporal. La polémica ha surgido debido a que la EFSA ha dado a conocer una serie de estudios científicos que evalúan la seguridad de la nisina y debido a que se han encontrado nuevos datos toxicológicos y ante la posibilidad de su uso a quesos no curados y productos cárnicos con tratamientos térmicos. Pero con estos nuevos datos se ha tenido en cuenta lo hallado en un nuevo estudio de toxicidad subcrónica; y se ha concluido que la extensión de uso, que se ha propuesto además como aditivo para el queso no curado, a un nivel máximo de 12 mg/kg y para productos cárnicos con tratamiento térmico, a un nivel máximo de 25 mg/kg, no supone riesgo^{30, 31, 33-35}.

La nisina, por tanto, es una sustancia polipeptídica producida por algunas cepas de *Lactococcus lactis* a partir de una fermentación en medio lácteo modificado. El suero lácteo es un subproducto de la industria láctea que puede utilizarse para producir la bacteriocina nisina A, usando la cepa nativa *Lactococcus lactis* UQ2. Su uso es específico para lácteos, pero luego se comprobó que también era factible^{6, 8}. La estructura química de la nisina aparece recogida en la figura 2.

La nisina como conservante alimentario

La nisina se utiliza como conservante en numerosos productos alimentarios. Es un antibiótico originado por cepas de la bacteria que normalmente corta la leche, el *Streptococcus lactis*. Se presenta en la leche ácida y en el queso de granja por lo que es muy posible que desde que se domesticaron las vacas se hayan ingerido pequeñas cantidades de este antibiótico. Muchas veces se añade sola como conservante, en otras ocasiones se añade junto a otros antimicrobianos favoreciendo su acción antimicrobiana, como es el caso de la administración de nisina junto con el d-limoneno. Ya que la naturaleza hidrofóbica y oxidativa del d-limoneno limita su aplicación en los alimentos, cuando se junta con la nisina formando una nanoemulsión, se logra potenciar el efecto antimicrobiano de ambos compuestos³⁶.

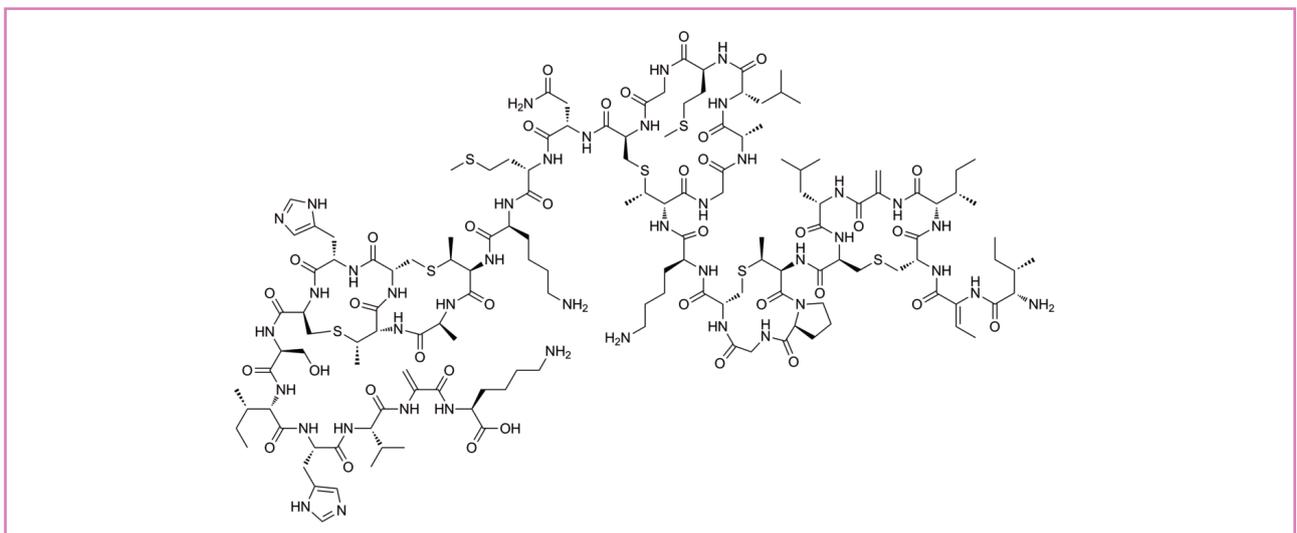


Figura 2. Estructura química de la nisina.

Este producto es empleado principalmente para prevenir la alteración de productos alimenticios procesados térmicamente y empaquetados. La inocuidad de la nisina para organismos vivos y su rápida destrucción por enzimas del tracto gástrico e intestinal, donde las razones que estimularon su amplio uso en muchos países, incluyendo los más estrictos en materia de regulaciones para aditivos alimenticios como los países de la Unión Europea y los EE. UU. El empleo de la nisina como conservador de alimentos debería considerarse aceptable siendo la ingesta media diaria incondicional de 0-33.000 U/kg de peso. La nisina se elabora en algunos países como China, Rusia, Reino Unido, etc., y su empleo está permitido en numerosos países.

La nisina posee una acción inhibitoria en ciertas especies y en general sobre las bacterias grampositivas. No tiene gran influencia sobre las bacterias gramnegativas y no tiene ninguna acción sobre hongos y levaduras.

Las células vegetativas de ciertas bacterias grampositivas tienen una sensibilidad cambiante hacia la nisina, entre los que se encuentran microorganismos como *Bacillus*, *Clostridium*, *Propionibacterium*, *Micrococcus* y *Streptococcus*.

Puesto que las bacterias gramnegativas no son afectadas, el empleo de la nisina como conservador de alimentos no se puede contrarrestar con una mala higiene; ya que su escaso espectro antibacteriano y su estabilidad ácida determinan unas condiciones de aplicación diferentes.

Sólo puede emplearse cuando los microorganismos alterantes nisina-sensibles son prácticamente los únicos que están presentes en el alimento. Algunas especies de bacterias como *Lactobacillus*, *Streptococcus* y *Micrococcus* tienen una sensibilidad a la nisina expresada de manera distinta. La misma sensibilidad la tienen las especies formadoras de esporas *Bacillus* y *Clostridium*, lo cual juega el papel más decisivo para la determinación de la vida útil de productos alimenticios procesados térmicamente.

También es termoestable especialmente en condiciones de acidez; de aquí que la nisina se pueda emplear como adyuvante del tratamiento térmico. El calor aplicado puede reducirse a sólo el necesario para destruir *Clostridium botulinum*, ya que es el anaerobio esporulado más nisina-resistente. Este menor tratamiento térmico mejora la calidad del producto y presenta mejores condiciones de almacenamiento, principalmente a altas temperaturas. Cuando la legislación lo permite la nisina no sólo se emplea para prevenir el abombamiento de las latas sino también para conservar el chocolate con leche o el queso procesado, ya que la eficacia de la nisina ya está demostrada en los quesos tipo ricota en los que se determinó la eficacia de la nisina para controlar la invasión del alimento por *Listeria monocytogenes*. En un experimento en el que se prepararon los quesos a partir de leche no pasteurizada, se comprobó que en aquellos en los que se había añadido nisina como conservante el crecimiento de bacterias fue mucho menor que aquellos en los que no se habían añadido nisina³⁷. Además la industria la utiliza para conservar guisantes, alubias en salsa, etc.

Por tanto, la nisina presenta un efecto preservante para muchos productos. La estabilidad de la nisina en medio ácido hace posible realizar procesos térmicos de productos sin pérdidas visibles de la actividad preservadora³⁷.

La aplicación de la nisina se ha demostrado efectiva para la preservación de los siguientes productos³³⁻³⁹:

- Queso y preparaciones de queso procesado.
- Productos como hongos que están enlatados.
- Leche pasteurizada y esterilizada.
- Postres de leche, que incluyan harinas, azúcar, crema o leche.
- Es usada además en sopas en lata, productos de tomate enlatados, pimienta, espárragos, y otros vegetales enlatados.

Como observamos, las propiedades conservantes de la nisina se conocen desde muy antiguo. Es un antibiótico muy efectivo contra las bacterias grampositivas, sobre las que actúa bloqueando sus membranas. También se emplea para combatir bacterias esporuladas como *Clostridium botulinum* o *Bacillus cereus*, así como *Listeria monocytogenes*.

En la industria alimentaria la nisina se usa además en la elaboración de quesos, pero se ha demostrado la eficacia de esta sustancia para el almacenamiento de carne de ternera⁴⁰, en envases activos, ya que el uso de envases impregnados con nisina tiene un efecto antimicrobiano desde el inicio del almacenamiento, lo que unido a una baja temperatura hace que se pueda alargar la vida útil de la carne.

También, los microorganismos son los responsables de las fermentaciones y las transformaciones que convierten el zumo de uva en vino y posteriormente en vinagre. En estas fermentaciones, estos microorganismos producen cambios sustanciales en la composición, en el color y en los caracteres organolépticos que marcarán la calidad. Las bacterias lácticas y las bacterias acéticas son las dos familias bacterianas implicadas en estas transformaciones originadas en los vinos²⁹. Y se ha estudiado el utilizar la nisina para el control microbiológico del vino y como agente contra la formación de películas de biofilms bacterianos no deseados en las bodegas. A partir de un cultivo de una cepa de *Lactococcus lactis* con estatus QPS de la EFSA, se consiguió un extracto en condiciones similares a las enológicas que contenía nisina y era capaz de inhibir el crecimiento del 83,5% de las bacterias y además impedir la formación de biofilms de bacterias que presentaban esa capacidad alterante de los vinos y contaminantes. Por tanto, la nisina puede inhibir bacterias lácticas contaminantes del vino, y en las concentraciones adecuadas puede impedir la formación de biofilms indeseados, constituyendo por tanto una herramienta útil en el control microbiológico de los vinos y que podría ayudar a la disminución de los niveles de sulfitos que actualmente se utilizan en su elaboración.

Además, el uso de antimicrobianos en combinación con agentes quelantes muestra una mayor efectividad contra las bacterias gramnegativas. Las películas de en-

vasado con nisina incorporada en la estructura de la película, se analizaron por separado para la inhibición contra *Lactobacillus plantarum*. La nisina se usó en combinación con el ácido etilendinitrilotetraacético (EDTA)⁴¹ en películas y se evaluó la inhibición frente a *Escherichia coli*.

Se utilizaron dos métodos de formación de película de envasado para incorporar nisina en películas de proteínas biodegradables para determinar si las propiedades antimicrobianas podrían inducirse en la película. Los métodos de prensado en caliente y fundición se usaron para producir películas hechas de proteína de soja y zeína de maíz. Se cortaron muestras circulares de las películas terminadas, que luego se colocaron en un césped bacteriano, se incubaron y se midieron las zonas de inhibición. Tanto las películas colocadas como las prensas térmicas con nisina añadida, formaron películas y presentaron una inhibición del crecimiento bacteriano. La nisina retuvo sus propiedades bactericidas durante los procesos de prensado por calor y de formación de película fundida. Las películas que se colocaron mostraron zonas inhibitorias más grandes, en comparación con las películas termoprensadas, cuando se incorporan los mismos niveles de nisina. *L. plantarum* fue inhibido por películas que contenían nisina, y la adición de EDTA aumentó el efecto inhibitorio de las películas frente a *E. coli*^{6,7}.

La nisina se puede anclar en las películas de celulosa de los embalajes, injertando los grupos amino de nisina y los grupos de aldehído de películas de celulosa oxidadas, obteniendo así un material seguro y biodegradable para el embalaje de alimento^{12,39}, resultando satisfactorio al formar películas de celulosa ancladas a la membrana; la estructura fue caracterizada por Fourier transformando la espectroscopia infrarroja y explorando la microscopía de electrones, y termogravimetría. Este estudio desarrolló un proceso fácil y natural de anclar nisina en la celulosa oxidada por una reacción de base de Schiff simple para el embalaje a largo plazo antimicrobiano activo de alimentos. Este es el primer informe de tal embalaje que tenemos⁷.

Efectividad y modo de acción de la nisina

El modo de acción de una sustancia inhibitoria frente a una célula sensible puede ser bacteriolítico, bacteriostático o bactericida. El primero implica la muerte celular seguida de una lisis, con la añadida disminución de la densidad óptica (DO). El modo de acción bactericida produce también muerte celular que se manifiesta en la disminución en el conteo de colonias pero sin lisis y por consiguiente la densidad óptica se mantiene constante. El modo de acción bacteriostático no produce muerte celular pero detiene el crecimiento, por lo cual, sin muerte celular, el conteo de colonias y la densidad óptica se mantienen constantes^{6,8}.

En la figura 3 puede observarse el efecto producido por el agregado de nisina. La figura 3a exhibe el modo de acción de la bacteriocina a pH 6.5, donde claramente se visualiza la disminución de la densidad óptica posterior al agregado de la misma. Con la adición de nisina, el número de microorganismos presentes fue menor a 103 UFC/ml. De lo expuesto, se demuestra que el modo de acción de nisina sobre *L. fructivorans* a pH cercano a la neutralidad es bacteriolítico. Mientras que la figura 3b, muestra cómo el agregado de la bacteriocina provoca que las lecturas de DO se mantengan constantes en el tiempo de experimentación. Del recuento en placa se observa que el modo de acción de nisina sobre *L. fructivorans* a pH 3,5 es bactericida ya que el número de microorganismos disminuyó con el transcurso del tiempo.

De los estudios basados en las características catiónicas e hidrofílicas de la nisina, se ha demostrado que son dos los mecanismos que explican el modo de acción de la nisina sobre la permeabilización de la membrana celular: 1) las bacteriocinas actúan como un complejo de "poración" en el cual los monómeros de la misma se unen, insertan y oligomerizan en la membrana citoplasmática para formar un poro y 2) las bacteriocinas desestabilizan la membrana a modo de un detergente.

Los resultados de muchos estudios tienden a apoyar el modelo de la formación de poros sobre el que propone una acción tipo detergente. En la figura 4, se resume el

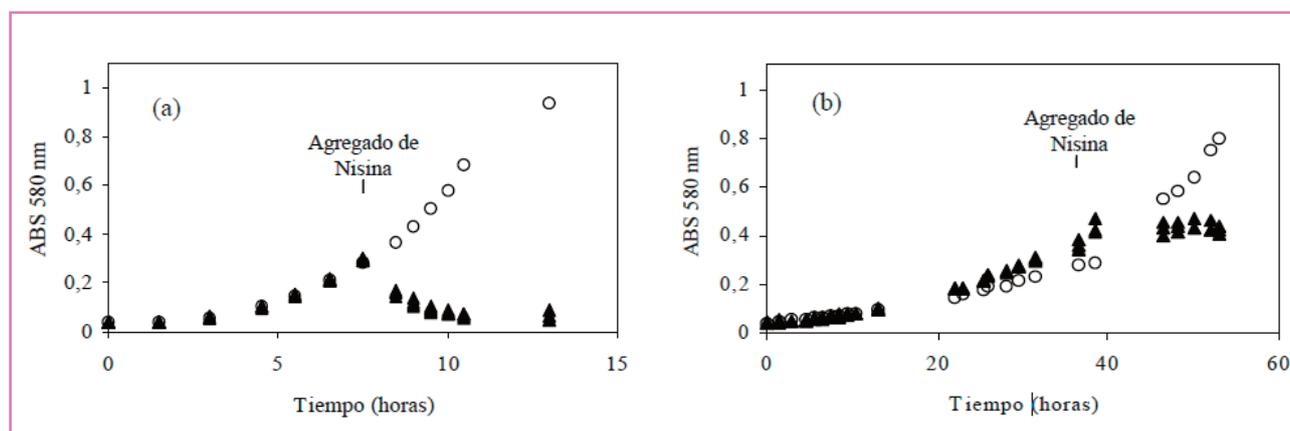


Figura 3. Crecimiento de *Lactobacillus fructivorans* a pH 6,5 (a) y 3,5 (b) sin el biopreservador (o) y en presencia de 2.000 ppm de nisina.

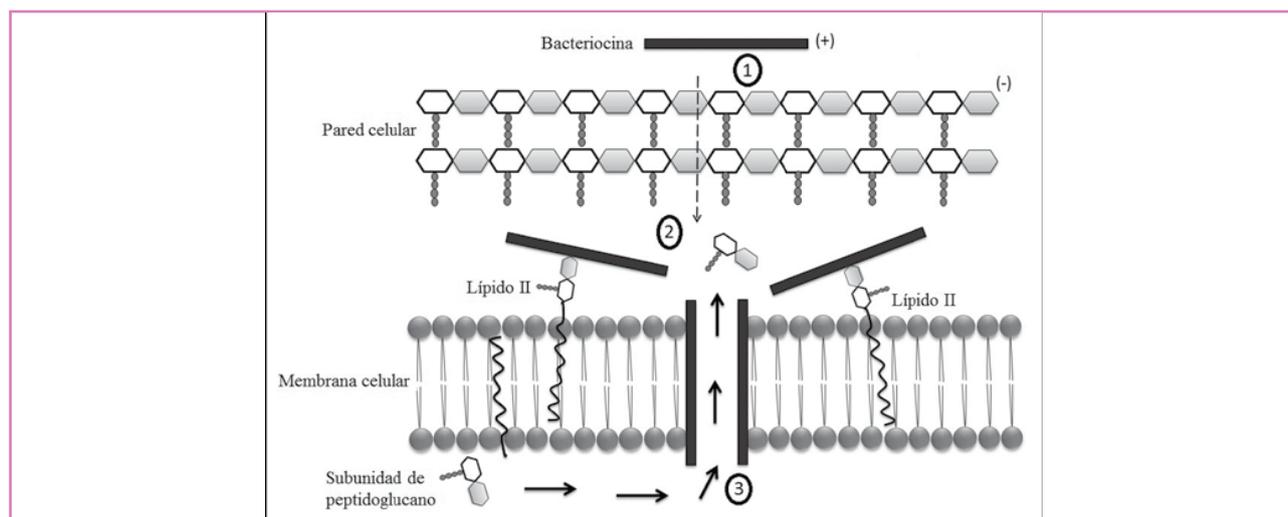


Figura 4. Estudio del modelo que muestra el mecanismo dual de actuación de la nisina de *Lactococcus lactis*⁴².

modelo que muestra el mecanismo de acción dual de la nisina de *Lactococcus lactis*⁴². En el paso 1, la nisina posee una carga positiva que incrementa su interacción con las cargas negativas de los componentes de la pared celular. En el paso 2, la nisina se une al lípido II, principal transportador de las subunidades de peptidoglucano del citoplasma a la pared celular interfiriendo con su síntesis, lo que lleva a la bacteria a muerte celular. En el paso 3, varias moléculas de nisina utilizan al lípido II para fijarse e insertarse en la membrana celular y empezar la formación de poros, con lo cual se produce en la muerte celular de la bacteria.

Conclusiones

La nisina es un aditivo utilizado en la industria de alimentos como sustancia conservadora. Entre sus aplicaciones se encuentran productos lácteos, productos procesados, comidas y platos principales, postres y helados, sopas, salsas y condimentos, jugos de frutas, en panadería, en guarniciones y acompañamientos, etc. Actúa frente a las bacterias grampositivas, como *Clostridium ssp.* y es estable en pH ácido y algo termosensible. El organismo la degrada y no produce resistencia cruzada con otros antibióticos, por lo que no es tóxica para las personas.

El estudio de las propiedades físicas y químicas, modos de acción y relaciones entre estructura y función de las bacteriocinas es necesario a fin de evaluar sus potenciales aplicaciones en alimentos.

Los resultados de los diferentes estudios demuestran que 2.000 ppm de nisina comercial tienen efecto bacteriolítico sobre *L. fructivorans* a pH 6,5, mientras que a pH 3,5 presenta un modo de acción bactericida. Los estudios realizados sobre la efectividad del biopreservador se complementarán con ensayos a distintos valores de pH y concentración de nisina a fin de proponer un modelo integral sobre sus mecanismos de acción.

El estudio del Panel de la EFSA de Aditivos, Aromas, Coadyuvantes Tecnológicos y Materiales en Contacto con Alimentos, ha concluido que la extensión de uso propuesta para la nisina como aditivo para el queso no cu-

rado, a un nivel máximo de 12 mg/kg y para productos cárnicos con tratamiento térmico a un nivel máximo de 25 mg/kg no supone ningún riesgo para la seguridad alimentaria.

Bibliografía

- 1 Cintas LM, Casaus MP, Herranz C, Nes IF, Hernández PE. Review: bacteriocins of lactic acid bacteria. Food Science Technology International. 2001; 7(4):281-305.
- 2 Beshkova D., Frengova G. Bacteriocins from lactic acid bacteria: microorganisms of potential biotechnological importance for the dairy industry. Engineering in Life Sciences. 2012; 12(4):1-14.
- 3 Abriouel H, Franz CMAP, Omar, N.B, Gálvez, A. Diversity and applications of *Bacillus bacteriocins*. FEMS Microbiology Reviews. 2011; 35(1):201-232.
- 4 Duffes F. Improving the control of *Listeria monocytogenes* in cold smoked salmon. Trends in Food Science & Technology 1999; 10(6-7): 211-216
- 5 Aymerich T, Garriga M, Ylla J, Vallier J, Monfort JM, Hugas, M. Application of enterocins as biopreservatives against *Listeria innocua* in meat products. Journal of Food Protection . 2000; 63:721-726.
- 6 Beristain-Bauza SC, Palou E, López-Malo A. Bacteriocinas: antimicrobianos naturales y su aplicación en los alimentos. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos 2012; 6(2): 64-78.
- 7 Wu H, Teng C, Liu B, Tian H, Wang J. Characterization and long term antimicrobial activity of the nisin anchored cellulose films. Int J Biol Macromol. 2018; 113: 487-493.
- 8 Núñez Griselda A, Cayré María E, Castro Marcela P, Garro Óscar A. Efectividad y modo de acción de nisina sobre *Lactobacillus fructivorans* [Internet]. Consultado 30 marzo 2018. Disponible en: <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt/2002/08-Exactas/E-004.pdf>.
- 9 Bazin, M. J., Wood, A. P., Paget-Brown, D. Analysis of microbial growth data. En: Rhodes, P. M., Stanbury, P. F. (Eds.). 1997. Applied Microbial Physiology. A

- practical Approach. IRL Press. Oxford, 1997: 193-211.
- 10 Chung HJ, Yousef AE. *Lactobacillus curvatus* produces a bacteriocin-like agent active against gram-negative pathogenic bacteria. *Food Science and Technology*. 2005; 25(614): 59-79.
 - 11 Ekbal, M., Ibrahim, A. y Elbarbary, H.A. Effect of bacteriocin extracted from *Lactobacillus acidophilus* on the shelf-life of pasteurized milk. *Journal of American Science*. 2012; 8(2): 620-626.
 - 12 Gálvez A, Abriouel H, López RL, Ben Omar N. Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *Int J Food Microbiol*. 2007;120(1-2):51-70.
 - 13 Cheigh, C-I. y Pyun, Y-R. Nisin biosynthesis and its properties. *Biomedical and Life Sciences*. 2005; 27(21):1641-1648.
 - 14 Du L, Somkuti J, Renye J, Huo, G.. Properties of durancin GI, a new antilisterial bacteriocin produced by *Enterococcus durans* 41D. *Journal of Food Safety*. 2011; 32: 74-83.
 - 15 Franchi M, Tribst A, Cristianini M. The effect of antimicrobials and bacteriocins on beer spoilage microorganisms. *International Food Research Journal*. 2012; 19(2):783-786.
 - 16 Grande, M., Lucas, R., Abriouel, H., Valdivia, E., Nabil, B., Maqueda, M., Martínez-Grande M, Abriouel H, López R, Valdivia E, Nabil B, Martínez-Cañamero MY, Gálvez, A. Efficacy of enterocin AS-48 against Bacilli in ready-to-eat vegetable soups and purees. *Journal of Food Protection*. 2007; 70:2339-2345.
 - 17 Gautam, N. y Sharma, N. Bacteriocin: safest approach to preserve food products. *Indian Journal Microbiology*. 2009; 49(3):204-211.
 - 18 Hassan, M., Kjos, M., Diep, D.B. y Lotfipour, F. Natural antimicrobial peptides from bacteria: characteristics and potential applications to fight against antibiotic resistance. *Journal of Applied Microbiology*. 2012; 1: 1-14.
 - 19 Jin, T. Inactivation of *Listeria monocytogenes* in skim milk and egg white by antimicrobial bottle coating with polylactic acid and nisin. *Journal of Food Science*. 2010; 75(2): M83-M88.
 - 20 Liang, Z., Mittal, G.S. y Griffiths, M.W. Inactivation of *Salmonella typhimurium* in orange juice containing antimicrobial agents by pulsed electric field. *Journal of Food Protection* 2002; 65(7):1081-1087.
 - 21 Montalbán-López, M., Sánchez-Hidalgo, M., Valdivia, E., Martínez-Bueno, M. y Maqueda, M. Are bacteriocins underexploited? Novel applications for old antimicrobials. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 2011; 12(8):1205-1220.
 - 22 Pilet, M-F. y Leroi, F. Applications of protective cultures, bacteriocins and bacteriophages in fresh seafood and seafood products. In *Protective Cultures, Antimicrobial Metabolites and Bacteriophages for Food and Beverage Biopreservation*. 2011; 1: 1-21.
 - 23 Nieto-Lozano, J., Reguera-Useros, J., Peláez-Martínez, M., Sacristán-Pérez-Minayo, G., Gutierrez-Fernández, A. y Hardisson de la Torre, A. The effect of the pediocin PA-1 produced by *Pediococcus acidilactici* against *Listeria monocytogenes* and *Clostridium perfringens* in Spanish dry-fermented sausages and frankfurters. *Food Control* 2010; 21(5):679-685.
 - 24 Riley M.A, Wertz J.E. Bacteriocins: evolution, ecology and application. *Annual Review of Microbiology*. 2002; 56:117-137.
 - 25 Zouhir A, Hammami R, Fliss I, Hamida, JB. A new structure-based classification of gram-positive bacteriocins. *Protein Journal*. 2010; 29(6):432-439
 - 26 Saldaña G, Minor-Pérez H, Raso, J, Álvarez I. Combined effect of temperature, pH, and presence of nisin on inactivation of *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* by pulsed electric fields. *Foodborne Pathogens and Disease*. 2011; 8(7):797-802.
 - 27 Šušković J, Kos B, Beganović J, Leboš A, Habjanič K, Matošić S. Antimicrobial activity - the most important property of probiotic and starter lactic acid bacteria. *Food Technology and Biotechnology*. 2010; 48(3):296-307.
 - 28 Settanni, L. y Corsetti, A. Application of bacteriocins in vegetable food biopreservation. *International Journal of Food Microbiology*. 2008; 121: 123-138.
 - 29 Delves-Broughton J, Blackburn P, Evans RJ, Hugenholtz J. Applications of the bacteriocin, nisin. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 1996;69(2):193-202.
 - 30 Mondragón Preciado G, Escalante Minakata P, Osuna Castro JA, Ibarra Junquera V, Morlett Chávez JA, et al. Bacteriocinas: características y aplicación en alimentos. *Investigación y Ciencia*, 2013; 21(59): 64-70.
 - 31 Leidy Sierra L, Olga Montoya C, Héctor J. Ciro-V. Evaluación de la nisina como sustancia inactivadora de *Bacillus licheniformis* en el extracto líquido de café. *Rev.MVZ Córdoba* 2013; 18(Supl): 3715-21.
 - 32 E234 Nisina. Aditivos Alimentarios. (Internet). Consultado el 23 de abril de 2018]. Disponible en: <http://www.aditivos-alimentarios.com>.
 - 33 Piña Suárez MA, Uribe Díaz C, Regalado González C, Amaya Llano SL, Castaño Tostado E, García Almenázar BE. Producción de nisina por *Lactococcus lactis* uq2 usando suero lácteo suplementado y evaluación de su actividad después del secado por aspersión. *Ciencia@UAQ*. 2011; 4(2): 47-55.
 - 34 Romero-Machado E; Héctor-Ardiansa E. Efecto de la nisina sobre la conservación del helado tipo italiano. *Revista Ciencia UNEMI* 2016; 9(20): 93 -99.
 - 35 Araújo Vidal D, Maestre Peralta A, Mendoza López J. Nisina: una alternativa para la bioconservación del queso costeño del caribe colombiano. *Ciencia Tecnología e Innovación en Salud*. 2016; 1: 42-48.
 - 36 Zhang Z, Vriesekoop F, Yuan Q, Liang H. Effects of nisin on the antimicrobial activity of d-limonene and its nanoemulsion. *Food Chem*. 2014; 150: 307-12.
 - 37 Davies EA, Bevis HE, Delves-Broughton J. The use of the bacteriocin, nisin, as a preservative in ricotta-type cheeses to control the food-borne pathogen *Listeria monocytogenes*. *Lett Appl Microbiol*. 1997;24(5):3 43-6.
 - 38 Aasen IM, Markussen S, Moretro T, Katla T, Axelsson L, Naterstad K. Interactions of the bacteriocins sa-

- kacin P and nisin with food constituents. *Int J Food Microbiol.* 2003; 87(1-2): 35-43
- 39 Bari ML, Ukuku DO, Kawasaki T, Inatsu Y, Isshiki K, Kawamoto S. Combined efficacy of nisin and pediocin with sodium lactate, citric acid, phytic acid, and potassium sorbate and EDTA in reducing the *Listeria monocytogenes* population of inoculated fresh-cut produce. *J Food Prot.* 2005; 68(7): 1381-7.
- 40 Gharsallaoui A, Oulahal N, Joly C, Degraeve P. Nisin as a Food Preservative: Part 1: Physicochemical Properties, Antimicrobial Activity, and Main Uses. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2016;56(8):1262-74
- 41 Gharsallaoui A, Joly C, Oulahal N, Degraeve P. Nisin as a Food Preservative: Part 2: Antimicrobial Polymer Materials Containing Nisin. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2016;56(8):1275-89.
- 42 Olguín Ceron JB, Sotomayor Castellanos JR. Plástico higrotérmico de madera de *Quercus scytophylla*. *Investigación y Ciencia* 2013; 59: 25-33.