

---

# Nisina: una alternativa para la bioconservación del queso costeño del caribe colombiano.

*Daldo Araújo Vidal, Ángel Maestre Peralta, Jorge Mendoza López.*

*Centro Agroempresarial y Acuícola, Servicio Nacional de Aprendizaje SENA, Km 1 vía Fonseca -Barranca, La Guajira, Colombia.*

*Email: daraujov@misena.edu.co, amaestrep@sena.edu.co, jcmendoza50@misena.edu.co*

## Resumen

El queso costeño es de gran consumo en las poblaciones del caribe colombiano, donde gran parte de su producción se realiza con leche cruda y en la mayoría de las veces, los establecimientos de este renglón económico no cumplen con las buenas prácticas de manufactura, convirtiéndolo en un alimento con alto riesgo de contaminación microbiana, por bacterias patógenas como: *Brucella spp.*, *Salmonella spp.*, *E. coli spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytógenas* etc. Éstas usan el producto como vehículo para causar enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs), donde los principales afectados son los niños por su mayor vulnerabilidad inmunológica. La presente investigación en curso, busca evaluar el efecto de la nisina en la bioconservación del queso costeño producido en la región caribe colombiana. Es una investigación aplicada, tipo experimental, bajo un diseño completamente aleatorizado DCA, donde los tratamientos a considerar son el tiempo y la temperatura de almacenamiento del producto, la concentración de nisina a emplear y el tipo de tratamiento térmico empleados en la leche. Los métodos y técnicas empleadas en el presente estudio fueron descritos por la Federación Internacional de Lechería, INVIMA, ICONTEC y la AOAC para la cuantificación de la composición fisicoquímica, microbiológica y sensorial del producto. Se pudo evidenciar que, si se emplea una concentración de 5 mg de nisina / kilogramo producto, en la elaboración del queso costeño; no existirá diferencia significativa entre la preferencia del mismo entre los consumidores. El empleo de esta concentración de nisina se convierte para los productores en una alternativa para obtener productos más saludables, inocuos, sin cambiar sus atributos característicos y posibles aumento de la vida útil.

**Palabras clave:** Nisina, queso costeño, intoxicación alimentaria, bioconservación, bacterias patógenas.

## Abstract

The coastal cheese is widely consumed in populations of the Colombian Caribbean and much of it is produced from raw milk and most of the time without the minimum good manufacturing practices, making it a food with high risk of microbial contamination, pathogenic bacteria such as *Brucella spp.*, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytógenes* etc, use the product as a vehicle to cause food poisoning (ETAs), where the main victims are children because of their immune vulnerability. This ongoing research seeks to evaluate the effect of nisin in the coastal bioconservation cheese produced in the Colombian Caribbean region. It is an applied research, experimental, with completely random design DCA, where treatments to consider are the time and temperature of storage of the product, the concentration of nisin employed, the type of heat treatment used in milk. The International Dairy Federation, INVIMA, ICONTEC and AOAC described the methods and techniques used in this study for the quantification of the physico-chemical, microbiological and sensory composition of the product. It was evident that if a concentration of 5 mg nisin / kg product, is used in the development of coastal cheese; there will be no significant difference between the same preference among consumers. The use of this concentration of nisin for producers becomes an alternative for healthier, safe products without changing their characteristic attributes and possible increase in lifespan.

**Keywords:** Nisin, coastal cheese , food poisoning, bioconservation , pathogenic bacteria.

## 1 Introducción

La región caribe es la vitrina ganadera de Colombia, cuenta con un inventario de 7,3 millones de bovinos hembras, que producen alrededor de 26 millones de litros diarios de leche, de los cuales el 35% se emplean en la producción de queso costeño, mayormente bajo sistemas de producción artesanal (Berrocal & Mejía, 2014). El queso costeño es de alto consumo en las diferentes poblaciones de los departamentos del caribe colombiano y en la mayoría de las veces, se produce con leche cruda, obtenida sin las mínimas condiciones higiénicas, convirtiéndolo en un alimento con alto riesgo de contaminación desde el momento de su fabricación hasta su comercialización, permitiendo la vehiculización de bacterias patógenas productoras de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETAs) como *Leptospira spp.*, *Brucella spp.*, *E. coli spp.*, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytógenes* y *Mycobacterium spp.* (Calderón et al, 2012).

Este hecho se ve agravado por factores predisponentes que favorecen su contaminación microbiana, como la carencia de buenas prácticas de manufactura en las queseras, sumado a las inadecuadas condiciones de almacenamiento, exposición, y manipulación en comercialización del producto (CORPOICA, 2013; Oliver et al;2010). Por estas razones es necesario buscar alternativas, técnicas y tecnológicas que disminuyan la presencia de microorganismos patógenos causantes de las intoxicaciones por el consumo del producto y la flora responsable del deterioro del queso costeño.

Una de esas alternativas es el uso de las bacteriocinas, entre ellas la nisina, cuyo uso en alimentos es permitido por FDA, por su categoría GRAS (Generally Recognized As Safe) empleada en más de 80 países en el mundo. La nisina son péptidos microbianos de

reducido tamaño, resistentes al calor, que posee una actividad antimicrobiana muy potente frente a bacterias zoonóticas, productoras de toxiinfecciones alimentarias en el hombre y son hidrolizadas por las proteinasas gástricas lo que permite asegurar su inactivación y seguridad en la ingestión, así como su posible utilización como conservadores naturales en los alimentos (Montville & Chen, 2011). El modo de acción de la nisina es complejo. Por lo general, actúa destruyendo la integridad de la membrana citoplasmática a través de la formación de poros, lo que provoca la salida de compuestos pequeños o altera la fuerza motriz de protones, necesaria para la producción de energía y síntesis de proteínas o ácido nucleicos (Cutter et al., 2011). Al parecer, los péptidos se unen a la membrana citoplasmática a través de uniones electrostáticas con los fosfolípidos cargados negativamente, luego se insertan a la membrana con una reorientación que depende del potencial de membrana, el cual está influenciado por el pH y la composición fosfolipídica (Garde et al. 2005). Los monómeros de bacteriocina forman agregados protéicos que resultan en la formación del poro con la consecuente salida de iones (principalmente potasio y magnesio), causando pérdida de la fuerza motriz de protones (FMP), salida de ATP y aminoácidos. La fuerza motriz de protones juega un papel central en la síntesis de ATP, en el transporte activo y el movimiento bacteriano, por lo tanto, se inhibe la síntesis de macromoléculas y la producción de energía dando como resultado la muerte celular (Li & O'Sullivan, 2012).

Aunque es común la formación de poros y la disipación de la fuerza motriz de protones en el modo de acción de las bacteriocinas, existen algunas particularidades en cada clase. De la clase I, la nisina no requiere de un receptor unido a la membrana de la célula blanco ya que reconoce la composición fosfolipídica de la célula (Abee et al., 2005). En general, es probable que las estructuras secundarias de los péptidos activos tengan un papel importante en la actividad biológica ya que las  $\alpha$ -hélices y láminas  $\beta$  plegada son anfífilas, lo que sugiere una oligomerización de los

monómeros en las membranas de acuerdo al mecanismo de formación de poros denominado "barrel-stave" con los lados hidrofóbicos hacia parte lipídica de la membrana y los hidrofílicos formando el poro del canal (Rodríguez, 2006).

En esta primera parte del estudio, se evaluó el efecto de la nisina sobre la preferencia del queso costeño, para determinar si existían diferencias significativas entre los diferentes tratamientos evaluados y poder determinar la concentración máxima no perceptible por los consumidores.

## 2 Metodología

**2.1. Materiales y métodos:** La presente investigación se desarrolló en el taller de Lácteos y en el Laboratorio de Análisis Sensorial del Centro Agroempresarial y Acuícola, Servicio Nacional de Aprendizaje "SENA" Municipio de Fonseca, Departamento de la Guajira, Colombia.

**2.1.1. Materia prima:** La leche fresca de vaca que se utilizó en la investigación fue obtenida del programa de bovinos del Centro Agroempresarial y Acuícola, una vez recepcionada la materia prima se sometió a las operaciones de filtración y refrigeración hasta una temperatura de 4°C. Luego se realizaron análisis fisicoquímicos por triplicados utilizando el BIOLAC 60, METODO FIL – IDF 141 B (Federación Internacional de Lechería, 1996). Obteniéndose los porcentajes (p/v) de: materia grasa, densidad, lactosa, sólidos no grasos, proteínas, agua adicionada, temperatura, punto crioscópico y sales.

**2.1.2. Elaboración de los diferentes quesos:** Se elaboraron 4 quesos costeños de 2 kilogramos cada uno, utilizando el procedimiento estandarizado y reportado en el Manual de Productos Lácteos (ICTA, 1994), con una variante en cuanto a la adición de la concentración de nisina correspondiente, como se observa en la tabla 1. Las cuales se mezclaron con la sal antes de la adición.

**Tabla 1.** Tratamientos empleados en la investigación

TRATAMIENTO	CONCENTRACIÓN DE NISINA
T. Control	0 mg/kilo de queso
T.1	5 mg/kilo de queso
T.2	10 mg/kilo de queso
T.3	15 mg/kilo de queso

## 2.2. Análisis sensorial

El método seleccionado y el diseño de la prueba están contemplados, descritos y normalizados por la NTC 3930 de 2009 (Ordenamiento de acuerdo a un criterio específico).

### 2.2.1. Panel sensorial

El panel en la presente evaluación fue de 80 catadores no entrenados, conformados por aprendices, administrativos e instructores del Centro Agroempresarial y Acuícola escogidos aleatoriamente.

### 2.2.2. Prueba de Ordenación - preferencia

La evaluación sensorial fue realizada en el laboratorio de análisis sensorial, en cabinas individuales a una temperatura de 24 °C, en el horario comprendido entre las 9:00 – 10:30 a.m. A los catadores no entrenados se les entregó 4 muestras simultáneamente de 15 gramos de queso costeño aproximadamente, en bandejas codificadas con tres dígitos, juntamente con un vaso de agua. El orden de preferencia se midió a través de un cuestionario (Imagen 1). Donde uno es la calificación para la muestra más preferida y cuatro para la menos preferida.

**EVALUACION SENSORIAL DE QUESOS COSTEÑOS**

Sexo M---- F----                      Edad-----

Al frente de usted encontrara 4 muestras de queso costeño, pruebe de izquierda a derecha cada una de ellas, ordenando según su preferencia, colocando el número, 1 a la más preferida, 2 a la segunda preferida, 3 a la tercera preferida y 4 a la menos preferida. Escriba el código de la muestra y al frente el número correspondiente al orden de preferencia. Enjuague la boca después de la degustación entre muestra y muestra; y espere 30 segundo entre cada una de ella.

CODIGO	ORDEN DE PREFERENCIA

**MUCHAS GRACIAS!!!**

**Imagen 1.** Cuestionario evaluación de ordenación preferencia

### 2.2.3. Análisis estadístico

Los datos obtenidos en el análisis sensorial de los cuatro quesos fueron analizados mediante la prueba de Friedman al 5 %, para determinar si existieron diferencias significativas entre la preferencia de los diferentes tratamientos. Teniendo en cuenta que cada queso correspondió a un tratamiento y cada catador a una repetición.

## 3 Resultados y discusión

### 3.1. Análisis fisicoquímicos de la leche

En la tabla 2 se observa la composición promedio para las propiedades fisicoquímicas de la leche cruda utilizada en la realización de los diferentes quesos.

**Tabla 2.** Propiedades fisicoquímicas de la leche analizada

Propiedad analizada	Valor encontrado	Decreto 616 del 2006
Proteínas % (m/m)	3.34 %	Min. 2.9 %
Materia grasa % (m/m)	3.52 %	Min. 3.0 %
Densidad a 15°C (g/mL)	1.03225	1.030 – 1.033 (g/mL)
Sólidos totales% (m/m)	12.11%	Min. 11.3%
Sólidos no grasos % (m/m)	8.59 %	Min. 8.3 %
Crioscopia (T°C)	-0.544 °C	-0.530 a – 0.550 °C
Agua adicionada (%)	0 %	0 %
Sales % (m/m)	0.71 %	

Al comparar las concentraciones de los principales componente de la leche estudiada (Tabla 2) con los parámetros establecidos por el Decreto 616 /2006 emitido por el Ministerio de Protección Social de Colombia, se observa, que los valores promedios encontrados están por encima de los valores mínimos de referencia. Esto se debe a que en el programa de bovinos del Centro Agroempresarial y Acuícola y en la región Caribe Colombiana se está implementando sistemas de producción más efectivos, fundamentado: en control de mastitis, mejoramiento de pastos, mayor absorción de los componentes presentes en la dieta de los poligástricos, cruces genéticos, el manejo y la sanidad de los animales; lo que ha llevado a obtener una mayor concentración de sólidos en la leche de la región y mayor rendimiento en la industria quesera (Anaya & Jiménez, 2005; Calderón et al, 2012; Ganacor, 2011; Vega & Martínez, 2012).

### 3.2. El análisis sensorial

Se realizó con 80 consumidores del producto, con edades entre los 17 a 41 años, donde el 41.25% eran del sexo masculino. En la tabla 3 se muestra la sumatoria de las repuestas del total de los catadores y por sexo para cada una de las cuatro muestras de quesos evaluada, al igual que los resultados del test de Friedman al 5% de significancia. Para evidenciar la existencia de diferencias significativas entre los quesos, se determinó el valor crítico en la tabla de Newel y Macfarlane.

Tabla 3. Resultados test de Friedman

CATADORES	NÚMERO	TRATAMIENTOS				V. CRÍTICO
		CONTROL	T.1	T.2	T.3	
TOTAL	80	184 b	179 b	233 a	208 ab	42
MASCULINO	33	82 a	81 a	95 a	74 a	27
FENENINO	47	102 bc	98 c	138 a	134 ab	33

Letras diferentes en la misma fila, indican diferencia estadística significativa (Valor  $p \leq 0,05$ ).

El test de Friedman mostró que para el total de los catadores no existen diferencias significativas con relación a la preferencia entre la muestra control y la

muestra que tenía concentración de nisina de 5 mg/kg de queso, correspondiendo al tratamiento 1. Lo que indica que si se emplea esta concentración de nisina en su elaboración, no tendrán incidencia en la preferencia de este producto lácteo, al no modificar las características sensoriales del queso costeño. Resultados similares a los encontrados por Sangroni en el 2007 en la evaluación del efecto de la nisina en los parámetros físicos, químicos y sensoriales del queso telita y con los hallados por Capellas et al; en el 2010, ensayos con la adición de nisina en el queso de cabra.

Para los hombres que participaron en este estudio no detectaron diferencia entre las muestras en comparación con el control, lo que evidencio que para este género todas las muestras presentaron la misma preferencia, no siendo influenciado por las diferentes concentraciones de nisina empleadas. Contrastando con los resultados obtenidos por el género femenino, para las cuales si existió diferencia entre los cuatro quesos, prefiriendo al tratamiento 1. Que contenía 5 mg de nisina, el cual obtuvo calificación promedio muy cercana al tratamiento control. A nivel microbiológico otros estudios como los realizados por Cava en el 2006, evidencia que concentraciones de nisina alrededor 10,7 mg/kg de queso, tienen un efecto bacteriostático sobre *S. aureus* reflejando en su investigación una pérdida de la viabilidad del 90% y 99% de este microorganismo causante de múltiples intoxicaciones por consumo de queso.

### 4 Conclusiones y recomendaciones

En la presente investigación se puede concluir que adicionando concentraciones menores o igual a 5 mg de nisina por kilogramo de queso costeño en el proceso de producción; no existirán diferencia significativas entre la preferencia del mismo. Lo que asegura a los productores, que adicionando dichas cantidades del bioconservante, los consumidores no detectaran ningún cambio en el sabor, olor, apariencia y color del producto lácteo.

Este estudio se convierte en punto de partida para evaluar el efecto de la concentración de nisina determinada, en la inhibición o eliminación de los principales microorganismos patógenos causantes de intoxicaciones alimentarias por el consumo de queso costeño en el caribe Colombiano.

La concentración de nisina determinada se convierte para los productores en una alternativa para obtener productos más saludables, inocuos, sin cambiar sus atributos característicos del producto y posibles aumento de la vida útil.

## Referencias

Abee T, Klaenhammer, T & Letellier, L. 2005. Kinetic studies of Lactacin F, a bacteriocin produced by *Lactobacillus johnsonii* that form poration complex in the cytoplasmic membrane. *Appl. Env. Microbiol.* 60 (3): 1006-1013.

Anaya, G.; Jiménez, N. 2005. Evaluación fisicoquímica e higiénica y adulterante de la leche cruda expendida en Montería. Tesis maestría. Universidad de Córdoba. Colombia

Berrocal, A., & Mejía, E. 2014. Evaluación higiénica sanitaria del proceso de elaboración del queso fresco en Montería, Trabajo de grado Médico Veterinario, Universidad de Córdoba: Montería, Colombia.

Calderón, A. García, F & Martínez, G. 2012. Indicadores de calidad de leches crudas en diferentes regiones de Colombia. *Rev. MVZ Córdoba* 11(1):725-737.

Capellas, M. Mor-mur, M. Gervilla, R. Yuste, J & Guamis, B. 2010. Effect of high pressure combined with mildheat or nisin on inoculated bacteria and mesophiles of goat's milk fresh cheese. *Food Microbiol*; 17: 633-641.

Cava, R. 2006. Efecto de la adición de nisina en queso fresco "telita" sobre la supervivencia de *Staphylococcus*

*aureus* Revista Anales Venezolanos de Nutrición v.19 n.2

CORPOICA. 2013. Evaluación de factores asociados con la calidad microbiológica y composicional de la leche en los sistemas de producción bovina del trópico.

Cutter, C.; Willett, J y Siragusa, G. 2011. Improved antimicrobial activity of nisin- incorporated polymer films by formulation change and addition of food grade chelator *Lett Appl Microbiol* 33:325-328.

Decreto 616. 2006. Reglamento Técnico de la leche. MINISTERIO DE PROTECCIÓN SOCIAL. P-13  
Federación Internacional de Lechería – IDF. 1996.

Whole milk: determination of milk fat, protein and lactose content- guide for the operation mid- infra- red instrumentats. IDF Standard 141 B. International Dairy Federation, Brussels, Belgium.

Ganaderos de córdoba. 2011. Revista Ganacor N 10. Octubre – diciembre.

Garde S, Avila M, Medina M, Nuñez M. 2005. Influence of a bacteriocin producing lactic cultura on the volatile compounds, odour and aroma of hispanic cheese. *Intern Dairy J.* 1024-1043

ICTA. 1994. PADT- RURAL, Inventario y desarrollo de la tecnología de productos lácteos campesinos de Colombia. Manual de elaboración de queso campesino y prensado. Bogotá p. 10.

Li, H & O'Sullivan, D. 2012 Heterologous expression of the *Lactococcus lactis* Bacteriocin, Nisin, in a dairy *Enterococcus* strain. *Appl. Environ. Microbiol* 68: 3392-3400.

Montville, T & Chen, Y. 2011. Mechanistic action of Pediocin and Nisin: recent progress and unresolved questions *Appl Microbiol Biotechnol*; 50: 511-519.

---

Oliver, S.; Jayarao, B.; Almeida, R. 2010. Foodborn pathogens in milk and the dairy farm environment: Food safety and public health implications. *Foodborn Path Dis* 2(2): 115-129.

Rodríguez. J. 2006. Espectro antimicrobiano, estructura, propiedades y modo de acción de la nisina, una bacteriocina producida por *Lactococcus lactis*. *Food Sci Technol Int.* 2: 61- 68

Sangroni, E. 2007. Efecto de la adición de nisina en los parámetros físicos, químicos y sensoriales del queso "telita. *Revista Anales Venezolanos de Nutrición* v.20 n.1.

Vega. A. & Martinez, L. 2012. Acuerdo regional de competitividad de la cadena productiva lactea en el Departamento de Córdoba y en la zona del bajo Cauca Antioqueño. Centro de Investigación Turipana Corpoica regional 2 Cereté .