



Nacameh

Vocablo náhuatl para “carnes”

Volumen 3, Número 1, Junio 2009

Difusión vía Red de Computo semestral sobre Avances en Ciencia y Tecnología de la Carne

Derechos Reservados[©] MMIX

ISSN: 2007-0373

<http://cbs.izt.uam.mx/nacameh/>



Producción de metabolitos y pruebas de actividad antagónica de bacterias lácticas termotolerantes aisladas de productos cárnicos

Ramírez-Chavarín N.L.¹, Wachter-Rodarte M. C.², Pérez-Chabela, M.L.¹ ✉

¹ *Departamento de Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana. Av. San Rafael Atlixco 186. Col. Vicentina. Deleg. Iztapalapa. 09340.* ² *Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.* ✉ *Autor para correspondencia: lpch@xanum.uam.mx.*

Introducción

Las bacterias lácticas son un grupo fisiológicamente diverso de microorganismos, el cual es descrito como Gram positivo, cocos o bacilos no esporulados, con ácido láctico como principal producto de la fermentación de carbohidratos (Axelsson, 1998). Una característica importante para la clasificación de las bacterias lácticas es su patrón de fermentación, que puede ser homo o heterofermentativo, de acuerdo con la ruta metabólica seguida y los productos formados. Las bacterias lácticas homofermentativas producen ácido láctico a partir de azúcares como principal producto. A diferencia de éstas, las bacterias lácticas heterofermentativas tienen la capacidad de utilizar diferentes rutas metabólicas y producen además de ácido láctico, compuestos como CO₂, ácido acético, acetaldehído, diacetilo y etanol (Sharpe y Pettipher, 1983). La producción de ácido láctico y acético por las bacterias lácticas se excreta al exterior y contribuyen al desarrollo del sabor, aroma y textura de los alimentos, además de proporcionar estabilidad inhibiendo tanto a microorganismos patógenos como a microorganismos causantes del deterioro (Requena y Peláez, 1995). Existen diversos estudios sobre la aplicación de bacterias lácticas como conservadores de alimentos, los cuales están enfocados hacia el aislamiento de bacterias lácticas capaces de producir compuestos antimicrobianos como ácidos orgánicos y bacteriocinas (Hugas y col., 1995).

Se han reportado algunas características que deben reunir las bacterias lácticas para aplicarlas en la conservación de carne. Las mejores candidatas deben provenir de la flora nativa de diversos sustratos alimentarios (Stiles, 1996). Sin embargo, en carnes para evitar cambios negativos en algunas propiedades sensoriales como textura, color, sabor y jugosidad, se recomienda que las bacterias lácticas empleadas tengan un patrón de fermentación homofermentativo para evitar la producción de ácido acético y CO₂ (Huss y col., 1995), esto porque la formación de CO₂ en los embutidos lleva a la formación de agujeros de diferentes tamaños en el producto. Además la producción de ácido acético puede causar un sabor picante en el producto cárnico (Salim y Mayo, 2007).

El efecto inhibitorio de los ácidos orgánicos está relacionado directamente con la estructura no disociada de la molécula, siendo este capaz de difundirse a través de la membrana celular y disociarse en su interior para provocar la muerte de la célula (Brus y Coote, 1999). El objetivo de este trabajo fue conocer la producción de los metabolitos principales (ácido láctico y acético) así como probar la actividad inhibitoria de bacterias lácticas termotolerantes aisladas de productos cárnicos cocidos.

Materiales y Métodos

Se utilizaron 10 cepas de bacterias lácticas termotolerantes aisladas e identificadas previamente, estas fueron: 5 cepas de *Pediococcus pentosaceus*, 2 cepas de *Lactobacillus plantarum*, 1 cepa de *Aerococcus viridans* y 2 de *Enterococcus faecium*. Estas cepas se aislaron de productos cárnicos cocidos que se expenden en supermercados de la Ciudad de México, se identificaron fenotípicamente utilizando pruebas bioquímicas así como se realizó la determinación del perfil de carbohidratos utilizando el sistema API 50 CHL y genotípicamente haciendo un análisis de comparación de secuencias del gen ARNr 16S (datos no publicados). Se determinó la actividad antagónica *in vitro* de las 10 cepas utilizando como cepas sensibles 7 microorganismos deteriorantes y 3 microorganismos patógenos. Como algunas bacterias lácticas pueden ser también deteriorantes se probó la actividad antagónica entre ellas mismas. La producción de ácido láctico se determinó midiendo la acidez total titulable (reportada como el porcentaje de ácido láctico) y se cuantificó la producción de ácido acético mediante cromatografía de gases.

Actividad Antagónica

Preparación de la cepa sensible

Como cepas sensibles se utilizaron siete cepas de microorganismos deteriorantes: *Enterococcus sp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii*, *Brochothrix thermosphacta*, *Alteromonas putrefaciens*, *Pseudomonas fragi* y *Pseudomonas fluorescens* y 3 cepas de microorganismos patógenos: *Listeria innocua*, *Escherichia coli* y *Salmonella sp.* Se inocularon en caldo nutritivo y caldo biotriptasa según la bacteria utilizada, se incubaron sucesivamente por 8, 18 y 24 h a 35 °C +/- 2 °C, transcurrido este tiempo, se tomaron 70 µL de la suspensión de células la cual se inoculó en 10 mL de agar nutritivo blando (0.8 % agar bacteriológico).

Preparación del extracto libre de células (cepa productora)

Se utilizaron las diez bacterias lácticas termotolerantes previamente identificadas: *Enterococcus faecium* (10a), *Pediococcus pentosaceus* (11), *Pediococcus pentosaceus* (12), *Pediococcus pentosaceus* (15L), *Aerococcus viridans* (21), *Pediococcus pentosaceus* (22), *Lactobacillus plantarum* (15c), *Lactobacillus plantarum* (17), *Enterococcus faecium* (18), *Pediococcus pentosaceus* (15a). Se inocularon en caldo MRS (De Man y col., 1960) y se incubaron por 8 y 18 horas a 35 °C +/- 2 °C, transcurrido este tiempo, las células se separaron por centrifugación en una centrífuga Beckman (Palo Alto, California, E.U.) a 12000 g durante 10 min a 4 °C, posteriormente el pH del sobrenadante se ajustó a 5.8-5.9 con NaOH 1.0 N, en un potenciómetro pH ISE Meter 50 Beckman (Palo Alto, California, E.U.). Se esterilizó el sobrenadante por filtración a través de una membrana de tipo GS con un tamaño de poro de 0.22 µm (Millipore, N.º. Cat. GSWP 013 00 Anderson, California, USA).

Actividad antagónica

Para evaluar la actividad antagónica, se empleó el método de difusión en placas de agar descrito por Bhunia y col. (1988). En esta técnica la evaluación de la actividad antimicrobiana se fundamenta en la difusión del metabolito en un medio de cultivo sólido que contiene la cepa sensible (Tramer y Fowler, 1964). La difusión en agar se empleó para evaluar la actividad antagónica con diferentes microorganismos e inclusive entre ellas mismas.

Sobre 10 mL de agar nutritivo, agar biotriptasa o MRS según la cepa utilizada, se colocó una sobrecapa de 10 mL de agar bacteriológico suave (0.8 %) inoculado con la cepa sensible. Después las placas se almacenaron a 4 °C para permitir la solidificación del agar; posteriormente se realizaron los pozos con la parte superior de una pipeta pasteur. Cada pozo se llenó con 30 µL del extracto libre de células (cepa productora). Las placas se colocaron a temperatura ambiente durante 30 min con el fin de permitir la difusión del extracto y después se incubaron a 35 °C +/- 2 °C durante 24 h. Transcurrido este tiempo, la actividad antagónica se determinó observando la aparición del halo de inhibición de crecimiento.

Determinación de Ácidos Orgánicos

Preparación de la muestra

Se inoculó cada una de las 10 cepas de bacterias lácticas termotolerantes en caldo MRS a 35 °C +/- 2 °C durante 24 h hasta alcanzar una densidad óptica ($\lambda=600$ nm) de 1.0 (concentración aproximada de 10^8 ufc / mL). Posteriormente se pesaron 150 g de lomo de cerdo y se inocularon por inmersión en la suspensión de bacterias lácticas (5 % de inóculo) se dejaron reposar durante 20 min a temperatura ambiente. Posteriormente la carne se escurrió y se dividió en porciones de 20 g aproximadamente los cuales se empacaron al vacío en una empacadora VacMaster modelo SVP 15 (México, Distrito Federal) las muestras se almacenaron a 10 +/- 2 °C durante 15 días, la carne sin inocular constituyó el testigo.

Acidez Total Titulable (ATT)

Esta determinación se realizó por el método descrito por Guerrero y Arteaga (1990). Los análisis se realizaron a los días 1, 3, 6, 8, 10, 13 y 15 de almacenamiento.

Se homogeneizaron 20 g de cada muestra de lomo de cerdo con 200 mL de agua destilada durante 1 min en una licuadora convencional, la mezcla obtenida se filtró a través de una manta de cielo. El filtrado se aforó a 250 mL con agua destilada. A 25 mL de esta solución se le adicionaron 75 mL de agua destilada y se realizó una titulación con NaOH al 0.1N, usando fenolftaleína como indicador. Esta determinación se realizó por triplicado. Finalmente, la ATT se reportó como % de ácido láctico.

Cuantificación de ácido acético

Las muestras de lomo de cerdo fermentado se analizaron por duplicado a los días 1 y 8 de almacenamiento. Para la extracción, se pesaron 5 g de muestra y se homogeneizaron durante 1 min con 20 mL de agua destilada en una licuadora convencional. Posteriormente, las muestras se centrifugaron a 8000 g por 10 min a 4 °C. El sobrenadante se filtró utilizando una membrana de teflón con un tamaño de poro de 0.45 µm (Schleicher y Schuell No. Cat. LLFZ495 Dassel, Germany) y se aforó a 25 mL. Se ocuparon volúmenes de 0.5 µL para inyectar al cromatógrafo de gases para realizar la cuantificación de ácido acético.

Condiciones de cromatografía

La cuantificación de ácido acético se realizó en un sistema de cromatografía de gases Hewlett Packard Modelo 5890 (Palo alto, C. A. USA), equipado con un detector de ionización de flama y una columna AT-1000. Para determinar la concentración de ácido acético presente en las muestras, se elaboró una curva patrón a partir de ácido acético 0-80 ul/mL.

Resultados y Discusión

Actividad Antagónica

Las bacterias lácticas aisladas de carne y de productos cárnicos son probablemente los mejores candidatos para mejorar la calidad microbiológica de estos alimentos, debido a que estos microorganismos se han adaptado a las condiciones en este ambiente y deberían ser más competitivas que las bacterias lácticas de otras fuentes.

En la Tabla 1 se muestran los resultados de la actividad antagónica de las 10 cepas de bacterias lácticas termotolerantes contra microorganismos deteriorantes; los resultados muestran que todas las bacterias lácticas utilizadas producen actividad antagónica contra *Pseudomonas fragi* y *Pseudomonas fluorescens*, pero no la presentan con las cepas restantes: *Enterococcus* sp., *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii*, *Brochothrix thermosphacta* y *Alteromonas putrefaciens*, esto bajo las condiciones de este estudio. Esto es importante ya que aunque la microflora inicial de la carne es muy variada, la mayoría de los microorganismos que alteran la carne fresca refrigerada son bacterias de los géneros *Pseudomonas* y *Moraxella* (Buchanan y Palumbo, 1985).

Tabla 1 Actividad antagónica de bacterias lácticas aisladas de productos cárnicos cocidos sobre microorganismos deteriorantes.

Cepa Sensible	Cepa Productora									
	11	12	15L	21	22	10a	15 ^a	15c	17	18
<i>Enterococcus sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Morganella morganii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Brochothrix thermosphacta</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Alteromonas putrefaciens</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas fragi</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ Actividad antagónica, - No actividad antagónica

En la Tabla 2 se muestra la actividad antagónica de las 10 cepas de bacterias lácticas termotolerantes contra ellas mismas; solo dos cepas mostraron actividad antagónica *Pediococcus pentosaceus* (11) y *Lactobacillus plantarum* (15c).

La finalidad de este estudio fue conocer el efecto inhibitorio entre las mismas bacterias lácticas, ya que algunas de ellas pueden ser deteriorantes. Las bacterias lácticas pueden producir metabolitos secundarios que pueden inhibir cepas de algunas especies cercanamente relacionadas a la cepa productora. Schillinger y Lücke (1989) encontraron que *L. sake* produce una bacteriocina que ellos denominaron sakacina A, la cual solo inhibía otras bacterias lácticas. Se ha reportado que *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus* y *Lactobacillus plantarum* producen también bacteriocinas inhibidoras solo de otras bacterias lácticas (Daeschel y col., 1983, citado por Schillinger y Lücke, 1989). En estudios similares, Todorov y col. (1999) reportaron que *Lactobacillus plantarum* ST31 produce una sustancia antimicrobiana (plantaricina) que inhibe a cepas de los géneros *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus* y algunos microorganismos tóxico-patógenos que incluyen *Staphylococcus aureus*.

Tabla 2 Actividad antagónica de bacterias lácticas aisladas de productos cárnicos cocidos sobre ellas mismas.

Cepa Sensible	Cepa Productora									
	11	12	15L	21	22	10a	15a	15c	17	18
<i>P. pentosaceus</i> (11)	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>P. pentosaceus</i> (12)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. pentosaceus</i> (15 _L)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. viridans</i> (21)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. pentosaceus</i> (22)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. faecium</i> (10a)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. pentosaceus</i> (15a)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. plantarum</i> (15c)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. plantarum</i> (17)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. faecium</i> (18)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+ Actividad antagónica, - No actividad antagónica

Las 10 cepas de bacterias lácticas termotolerantes no mostraron actividad antagónica con los tres microorganismos patógenos utilizados en este estudio (*E. coli*, *Salmonella* sp. y *Listeria innocua*). Existen varios factores que influyen en la actividad antagónica de las bacterias tales como el pH, tipo de cepa, composición del medio, tiempo de incubación y temperatura óptima (Yang y Ray, 1994).

Lemus y col. (1991) estudiaron 10 cepas de Lactobacilos aislados de cortes de carne y que eran productores de bacteriocinas, ellos probaron su actividad inhibitoria contra 4 cepas de *L. monocytogenes*, 2 cepas de *Aeromonas hydrophila* y 2 cepas de *S. aureus*. Sus resultados mostraron que 8 cepas de Lactobacilos tuvieron actividad inhibitoria contra todas las cepas utilizadas como cepas indicadoras y por lo tanto, concluyeron que el uso de Lactobacilos productores de bacteriocinas puede constituir un medio natural de conservación.

Helander y col. (1997) reportaron inhibición de microorganismos gram negativos por medio de bacterias lácticas, sin embargo, ellos atribuyeron

esta inhibición a la producción de ácidos orgánicos y no a la producción de bacteriocinas.

Ferreira y col. (2003) aislaron 484 bacterias lácticas de salami italiano (dentro de las cuales se encontraron especies de *Leuconostoc mesenteroides*, subsp. *cremoris*, *Lactobacillus bifementans* y *Lactobacillus alimentarius*), y determinaron la actividad antagónica contra *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis* y *Escherichia coli* ATCC25922; los resultados que obtuvieron mostraron que 115 cepas de BAL aisladas de salami italiano inhibieron al menos dos de los microorganismos patógenos ya mencionados, teniendo mayor inhibición contra *Listeria monocytogenes*. Ellos concluyeron que el uso de estos microorganismos como cultivos iniciadores en la elaboración de embutidos fermentados puede incrementar la seguridad para el consumo de estos productos.

Determinación de Ácidos Orgánicos (láctico y acético)

La fermentación láctica genera sabores y olores característicos, algunos debido a la presencia de ácidos orgánicos de cadena corta como ácido láctico, acético, propiónico, etc. (Lücke, 2000), los cuales en muchas ocasiones son muy apreciados en la elaboración de productos cárnicos. Sin embargo, la producción de tales compuestos podría tener algún impacto sobre el sabor y el olor de la carne y de productos cárnicos y por lo tanto, afectaría la aceptación por parte del consumidor.

Producción de ácido láctico

Los principales mecanismos por los cuales las bacterias lácticas reprimen a sus competidores son por la formación de ácido láctico, ácido acético y bacteriocinas (Helander y col., 1997).

Muchos ácidos orgánicos y sus sales tienen la capacidad de inhibir la proliferación de microorganismos deteriorantes y patógenos en los alimentos. Las sales de los ácidos orgánicos de cadena corta han sido clasificadas en la lista de GRAS para usos como emulsificante, potenciador de sabor y agente de control de pH en algunos alimentos (De Koos, 1992).

En la Figura 1 se muestran los resultados de la producción de ácido láctico de las 10 cepas utilizadas: *Pediococcus pentosaceus* (11), *Pediococcus pentosaceus* (12), *Pediococcus pentosaceus* (15L), *Aerococcus viridans* (21), *Pediococcus pentosaceus* (22), *Enterococcus faecium* (10a),

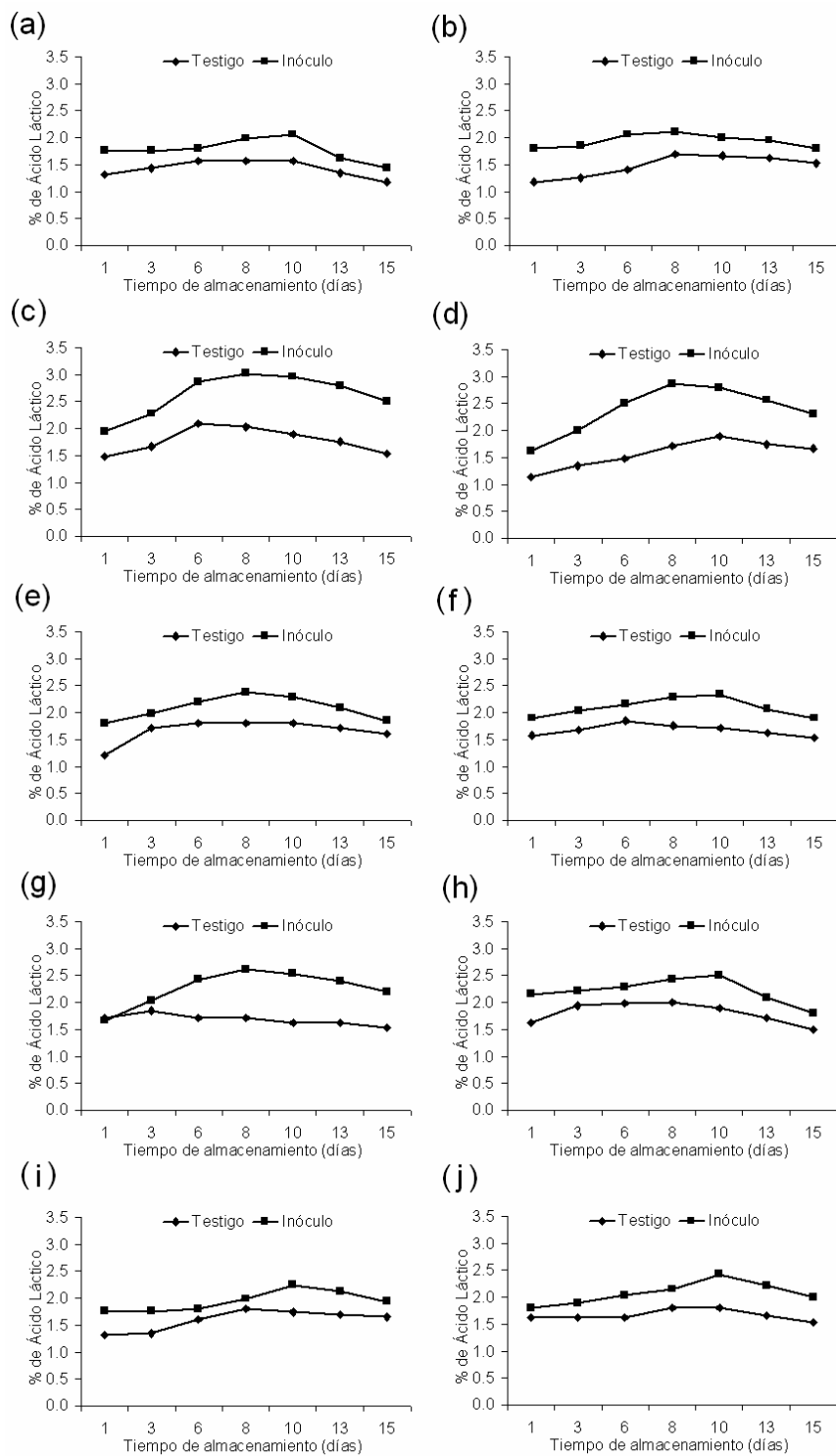


Fig. 1. Variación de la acidez total titulable en carne de cerdo inoculado con bacterias lácticas termotolerantes: a) *Pediococcus pentosaceus* (cepa 11), b) *Pediococcus pentosaceus* (cepa 12), c) *Pediococcus pentosaceus* (cepa 15L), d) *Aerococcus viridans* (21), e) *Pediococcus pentosaceus* (cepa 22), f) *Enterococcus faecium* (10a), g) *Pediococcus pentosaceus* (15a), h) *Lactobacillus plantarum* (15c), i) *Lactobacillus plantarum* (17), j) *Enterococcus faecium* (18).

Pediococcus pentosaceus (15a), *Lactobacillus plantarum* (15c), *Lactobacillus plantarum* (17) y *Enterococcus faecium* (18); todas las cepas produjeron niveles de ácido láctico mayor que el testigo (muestra de carne sin inóculo sometida a las mismas condiciones que todas las muestras) durante los 15 días de almacenamiento, produciendo la concentración más alta entre los días 8 y 10 en todas las cepas de BAL-T. Esto se debe a su carácter homofermentativo; las cuales tienen como principal producto de la fermentación, ácido láctico (González y col., 2000).

Por otra parte, la concentración de ácido láctico producida en el testigo, se pudo deber a la flora nativa de BAL de la carne, en las que se incluyen especies como: *Carnobacterium piscicola*, *Carnobacterium divergens*, *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc gelidum* y *Leuconostoc carnosum* (Hugas, 1998).

Borch y Agerhem (1992) obtuvieron un aumento en la producción de ácido láctico aproximadamente entre 80 y 150 mg /100 g de carne durante el almacenamiento, usando como inóculo *Lactobacillus sp.* 93 SMRICC. Este comportamiento se debió a que el empleo de vacío, favoreció las condiciones anaerobias ideales para el desarrollo de cultivos bioprotectores, así como la producción de sus metabolitos, entre ellos el ácido láctico.

Minor y col. (2002) evaluaron la inoculación de *S. carnosus* y *L. alimentarius* para la conservación de carne fresca de cerdo. La carne se almacenó a 4 °C durante 96 h, se determinó la cantidad de ácido láctico por cromatografía de gases, sus resultados mostraron que la producción de ácido láctico se incrementa constantemente hasta las 48 h de almacenamiento, con un valor de 4.25 y 4.11 mg / mL respectivamente, para posteriormente reducirse a valores de 2.88 y 2.78 mg / mL, ellos concluyen que estas cepas pueden ser empleadas en la elaboración de embutidos para mejorar la calidad microbiológica de la carne de cerdo.

Cuantificación de ácido acético por cromatografía de gases

En el primer día de almacenamiento, el control (carne de cerdo sin inocular) presentó una concentración de ácido acético de 2.15 µg/mL, siendo éste el valor mínimo (Tabla 3). En el resto de las muestras las concentraciones se multiplicaron desde cerca de 5 hasta más de 15 veces el valor del control.

Tabla 3 Producción de ácido acético por bacterias lácticas termotolerantes en carne de cerdo almacenado 1 y 8 días a 4 °C.

Muestra	Concentración de ácido acético (µg/mL)	
	Día 1	Día 8
Control	2.15	1.43
<i>Pediococcus pentosaceus</i> (11)	38.32	25.04
<i>Pediococcus pentosaceus</i> (12)	12.63	24.50
<i>Pediococcus pentosaceus</i> (15L)	20.99	16.54
<i>Aerococcus viridans</i> (21)	20.62	15.69
<i>Pediococcus pentosaceus</i> (22)	14.04	16.54
<i>Enterococcus faecium</i> (10a)	17.97	30.87
<i>Pediococcus pentosaceus</i> (15 ^a)	27.82	17.12
<i>Lactobacillus plantarum</i> (15c)	10.26	29.12
<i>Lactobacillus plantarum</i> (17)	13.38	17.12
<i>Enterococcus faecium</i> (18)	27.09	28.72

En el octavo día de almacenamiento, el comportamiento de 4 de las cepas (*Pediococcus pentosaceus* (11), *Pediococcus pentosaceus* (15L), *Aerococcus viridans* (21) y *Pediococcus pentosaceus* (15a)), fue similar al del control con una disminución de la concentración de ácido acético, mientras que las otras seis cepas (*Pediococcus pentosaceus* (12), *Pediococcus pentosaceus* (22), *Enterococcus faecium* (10a), *Lactobacillus plantarum* (15c), *Lactobacillus plantarum* (17) y *Enterococcus faecium* (18)) incrementaron la concentración del mismo. Aun cuando la caracterización bioquímica identificó a las cepas como homofermentativas (Ramírez-Chavarín, 2005), en este trabajo se ve que estas cepas se encuentran produciendo ácido acético, pero las cantidades son mínimas. Una explicación, es que cuando se lleva a cabo la fermentación homoláctica se puede producir una mezcla de ácidos orgánicos, debido a una concentración de glucosa limitante, a un incremento de pH y temperatura, o la fermentación de azúcares diferentes a la glucosa. En estos casos, la diferencia radica en el metabolismo del piruvato, el cual además de producir ácido láctico produce otros ácidos orgánicos como acético (Hofvendahl y

Hahn-Hägerdal, 2000). Generalmente las bacterias lácticas que producen más ácido acético (aproximadamente entre 1-2 %) son las heterofermentativas (Larpent, 1995).

Quintero (2001) determinó la cantidad de ácido acético utilizando cromatografía líquida de alta presión en carne de pollo inoculada con *L. lactis* subs. *lactis* ATCC 11454 y *S. carnosus* MC-1-0204 almacenada durante 8 días. Se observó que la concentración de ácido acético se incrementa durante el tiempo de almacenamiento independientemente del inóculo empleado. En nuestro caso la producción de ácido acético fue mínima comparada con los valores que obtuvo Quintero (2001).

Conclusiones

Las bacterias lácticas termotolerantes solo produjeron actividad antagónica en contra del género *Pseudomonas*, bajo las condiciones utilizadas en este estudio. Sin embargo, una de las bacterias lácticas produjo actividad antagónica contra otra bacteria láctica. Todas ellas tuvieron una buena producción de ácido láctico debido a su carácter homofermentativo. Estos resultados indican que estas bacterias podrían ser aplicadas en productos cárnicos, debido a que tienen efecto positivo de inhibición sobre el género *Pseudomonas* que es predominante en la carne y productos cárnicos en refrigeración, ocasionando deterioro de la misma.

BIBLIOGRAFIA

- AXELSSON, L. (1998). Lactic acid bacteria: classification and physiology. In: *Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects*. eds. Salminen, S. and von Wright, A. , 2nd edition, Marcel Dekker, Inc., New York. pp. 1-72.
- BHUNIA, A. K., JOHNSON, M.C. Y RAY, B. (1988). Purification characterization and antimicrobial spectrum of bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici*. *Journal Applied Bacteriology*. 65:261-268.
- BORCH, E. Y AGERHEM, H. (1992). Chemical, microbial and sensory changes during the anaerobic cold storage of beef inoculated with a homofermentative *Lactobacillus sp.* or a *Leuconostoc sp.* *International Journal of Food Microbiology* .15:99-108.

- BRUS, S. Y COOTE, P. (1999). Preservative agents in foods: mode of action and microbial resistance mechanisms. *International Journal of Food Microbiology*. 50: 1-17.
- BUCHANAN, R.L., PALUMBO, S.A. (1985). *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas sobria* as potential food poisoning species: a review. *Journal of Food Safety*. 17:15-29.
- DE KOOS, J. T. (1992). Lactic acid and Lactate. *International Food Marketing and Technology*. 3: 5-6.
- DE MAN, J. C., ROGOSA, M. Y SHARPE, M. E. (1960). A medium for the cultivation of *Lactobacillus*. *Journal of Applied Bacteriology*. 23(1): 130-135.
- FERREIRA, M.J., ALENCAR, T.M., ALENCAR, M.C. Y MIRANDA, G.L.A. (2003). Antibacterial activity of lactic culture isolated of Italian salami. *Brazilian Journal of Microbiology*. 34(suppl. 1): 121-122.
- GONZÁLEZ, V.A., VACCARI, G., DOSI, E. TRILLI, A., ROSSI, M. Y MATTEUZZI, D. (2000). Enhanced production of L (+) – lactic acid in chemostat by *Lactobacillus casei* DSM 20011 using ion – exchange resins and cross – flow filtration in a fully automated pilot plant controlled via. *Biotechnology and Bioengineering*. 67(2): 147-156.
- GUERRERO, L.I. Y ARTEAGA, M.R. (1990). Tecnología de Carnes. Elaboración y Preservación de Productos Cárnicos. Editorial Limusa, México, D.F.
- HELANDER, Y., VON WRIGHT, A. Y MATTILA, T. (1997) Potential of lactic acid bacteria and novel antimicrobials against Gram-negative bacteria. *Trends in Food Science and Technology*. 8: 146-150.
- HOFVENDAHL, K. Y HAHN-HÄGERDAL, B. (2000). Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources. *Enzyme and Microbial Technology*. 26: 87-107.
- HUGAS, M. (1998). Bacteriocinogenic lactic acid bacteria for the biopreservation of meat and meat products. *Journal Meat Science*. 49: S139-S149.
- HUGAS, M., GARRIGA, M., AYMERICH, M.T. Y MONFORT, J.M. (1995). Inhibition of *Listeria monocytogenes* in dry fermented sausage by the

- bacteriocinogenic *Lactobacillus sake* CTC494. *Journal of Applied Bacteriology*. 79: 322-330.
- HUSS, H.H, JEPPESEN, V.F., JOHANSEN, C. Y GRAM, L. (1995). Biosorbation of fish products. *Journal of Aquatic Food Product Tecnology*. 4(2): 5-24.
- LARPENT, J.P. (1995). Las bacterias lácticas En ICMSF: Microbiología Alimentaria. Vol. 2., Las fermentaciones alimentarias. Larpent, J.P. (Ed.). Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España. pp. 3-17.
- LEMUS, C.B., KAISER, A. Y MONTVILLE, T.J. (1991). Inhibition of food borne bacterial pathogens by bacteriocins from lactic acid bacteria isolated from meat. *Applied and Enviromental Microbiology*. 57(6):1683-1688.
- LÜCKE, F.K. (2000). Utilization of microbes to process and preserve meat. *Meat Science*. 56:105-115.
- MINOR, P.H., PONCE, A.E., MACÍAS, B.S. Y GUERRERO, L.I. (2002). Conservación de la carne fresca de cerdo por fermentación láctica. Efecto sobre el color, la textura y la formación de los ácido grasos libres. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 1(1-2):73-80.
- QUINTERO SALAZAR, B. (2001). Empleo de cultivos bioprotectores y nisina sobre la calidad microbiológica y fisicoquímica de carne de pollo almacenada en condiciones de abuso de temperatura. Tesis de Maestría en Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. México, D.F.
- RAMÍREZ CHAVARÍN, N.L. (2005). Utilización de bacterias lácticas termorresistentes para prolongar la vida útil de batidos cárnicos. Tesis de Maestría en Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. México, D.F.
- REQUENA, T. Y PELÁEZ, C. (1995). Revisión: Actividad antimicrobiana de bacterias lácticas. Producción de bacteriocinas. *Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 35 (1):19-44.
- SALIM, G.A. Y MAYO, B. (2007). Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update. *Meat Science*. 76:138-146.

- SCHILLINGER, U. Y LÜCKE, F. K. (1989). Antimicrobial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. *Applied and Environmental Microbiology*. 55:1901-1906.
- SHARPE, M.E. Y PETTIPHER, G. L. (1983). Food spoilage by lactic acid bacteria. *Economic Microbiology*. 8: 199-223.
- STILES, M.E. (1996). Biopreservation by lactic acid bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 70:235-249.
- TODOROV, S., ONNO, B., SOROKINE, O., CHOBERT, J.M., IVANOVA, I. Y DOUSSET X. (1999). Detection and characterization of a novel antibacterial substance produced by *Lactobacillus plantarum* ST 31 isolated from sourdough. *International Journal of Food Microbiology*. 48: 167-177.
- TRAMER, J. Y FOWLER, G.G. (1964). Estimation of nisin in foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 5:522-528.
- YANG, R. Y RAY, B. (1994). Factors influencing production of bacteriocins by lactic acid bacteria. *Food Microbiology*. 11(4):281-291.