



Nacameh

Vocablo náhuatl para “carnes”

Volumen 1, Número 1, Junio 2007

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

Derechos Reservados[©] MMVII

ISSN: 2007-0373

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



http://www.geocities.com/nacameh_carnes/index.html

ISSN DIFUSIÓN PERIODICA VIA RED DE CÓMPUTO: 2007-0373

NACAMEH, Vol. 1, No. 1, pp. 26-40, 2007

Microbiología de carnes envasadas al vacío y la biopreservación como medio para prolongar la vida de anaquel

Marcelo Signorini

*Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Litoral. Kreder 2805
(3080) Esperanza, Santa Fe, Argentina.*

Microbiología de la carne

Desde los tiempos más remotos, los seres humanos han deseado satisfacer el hambre con alimentos de origen animal. La importancia de la carne radica no sólo en su atractivo sensorial sino también en su elevado valor nutritivo. La importancia nutritiva del músculo no deriva solo de su contenido proteico elevado sino también por la calidad de dicha proteína, ya que contiene todos los aminoácidos en proporciones muy similares a las requeridas para el mantenimiento y desarrollo de los tejidos humanos (Hultin, 1993).

Los tejidos profundos de los animales faenados en condiciones de buenas prácticas de manufactura son estériles desde el punto de vista práctico (Guerrero y Taylor, 1994; Rodríguez, 1996). Por ello, el perfil microbiológico de la carne fresca presentado a los consumidores es la suma de las aportaciones durante las operaciones de faena, condiciones de almacenamiento, transporte y distribución. El estado sanitario de los animales, su piel, vísceras, materia fecal, microflora de la cavidad oral y las operaciones de faena, son las potenciales fuentes de contaminación cruzada de la carne. Para el caso de los bovinos, la fuente inicial de contaminación la constituye la piel del animal, por su exposición previa al agua, tierra, materia fecal, etcétera. Las operaciones de desollado y eviscerado son etapas críticas donde se requiere de operarios entrenados y buenas prácticas de manufactura para evitar que los microorganismos alterantes y patógenos de la piel y contenido gastrointestinal lleguen hasta la superficie de la canal (Marshall y Bal'a, 2001).

El crecimiento microbiano se produce en la fase acuosa que rodea el producto, por lo que las capas profundas se consideran estériles. Esto es debido a que aún microorganismos altamente proteolíticos no son capaces de afectar la capa de tejido conjuntivo que rodea las fibras musculares o endomisio (Gill y Penney, 1982). Las concentraciones de carbohidratos, especialmente glucosa y glucógeno, en la carne post-rigor son bajas en comparación con las proteínas, disponibles en cantidades suficientes para soportar el crecimiento de un gran número de microorganismos (Tabla 1) (Nychas y col., 1988). Luego que la glucosa ha sido consumida, la microflora comienza a utilizar aminoácidos como fuente de energía con la consiguiente producción de compuestos volátiles responsables de los cambios en el olor de la carne (Gill, 1976; Gill y Newton, 1980; Nychas y col., 1988).

Tabla 1. Principales componentes de bajo peso molecular en carne bovina pre y postrigor (Adaptada de Nychas y col., 1988).

Componente	Concentración prerigor (mg/g)	Concentración postrigor (mg/g)
Creatin fosfato	3.0	-
Creatinina	4.5	6.5
Adenosin trifosfato	3.0	-
Inosina monofosfato	0.2	3.0
Glucogeno	10.0	1.0
Glucosa	0.5	0.1
Glucosa-6-fosfato	1.0	0.2
Ácido láctico	1.0	9.0
pH	7.2	5.5
Aminoácidos	2.0	3.5
Carnosina, Anserina	3.0	3.0

Algunas bacterias, incluidas las del género *Pseudomona*, producen amoníaco como producto del metabolismo de aminoácidos, lo que ocasiona la elevación del pH durante la alteración cárnica (Marshall y Bal'a, 2001). Los microorganismos Gram negativos que predominan durante la contaminación aerobia de la carne, son responsables generalmente por la producción de olores pútridos y sulfurosos (Nychas y col., 1988). Son numerosos los factores que influyen sobre el tipo y tasa de crecimiento microbiano en los

productos cárnicos, pudiéndolos dividir en intrínsecos (contenido de nutrientes, pH, actividad de agua, potencial redox) y extrínsecos (temperatura, humedad y tensión de oxígeno) (Greer, 1988).

El músculo post-mortem ofrece un ambiente altamente nutritivo a la microflora contaminante, pudiendo satisfacer sus necesidades básicas para el crecimiento. No obstante, a pesar de su abundancia en proteínas y lípidos, no representa una fuente fácilmente explotable de nutrientes (Greer, 1988). Los sustratos de crecimiento bacteriano más importantes en el músculo incluyen glucosa, glucosa-6-fosfato, ácido láctico y aminoácidos. En la carne fresca, estos componentes constituyen menos del 2 % de la composición química total (Lawrie, 1977). Todas las bacterias de mayor relevancia como deteriorantes de la carne muestran una preferencia inicial por la glucosa (Tabla 2). Un indicio de ello es que la síntesis de enzimas bacterianas proteolíticas permanece reprimida hasta que son agotados los componentes solubles de menor peso molecular y más rápidamente asimilables dentro del músculo (Greer, 1988). Por lo expuesto, la desnaturalización de las proteínas musculares se produce luego de un prolongado almacenamiento, en el momento en que la densidad bacteriana excede los 7 logUFC/gramo de músculo (Greer, 1988; Prandl y col., 1994).

Tabla 2. Utilización bacteriana de los compuestos de bajo peso molecular en carne almacenada en aerobiosis (adaptada de Nychas y col., 1988).

Sustrato	<i>Pseudomonas</i> <i>no</i> <i>fluorescentes</i>	<i>Pseudomonas</i> <i>fluorescentes</i>	<i>Enterobacter</i> <i>sp.</i>	<i>Acinetobacter</i> <i>sp.</i>	<i>Brochothrix</i> <i>thermosphacta</i>
Glucógeno	- ^a	-	-	-	-
Glucosa fosfato	-	-	#(2)	-	-
Glucosa	#(2) ^b	#(1)	#(1)	-	#
Gluconato	#(2)	#(2)	-	-	-
Aminoácidos	#(3)	#(3)	#(3)	#(1)	+
Ácido láctico	#(4)	#(4)	#(4)	#(2)	-

^a Crecimiento: bueno (#), débil (+), ausente (-).

^b Orden de utilización.

La durabilidad de las carnes tiene directa relación con el valor de pH que presente la misma. En la carne post-mortem, éste parámetro está en función de la cantidad de ácido láctico producido a partir del glucógeno durante la

glucólisis anaerobia. El pH de la carne proveniente de un animal descansado es de aproximadamente 5.6-5.7 (Hultin, 1993). Cuando el nivel de glucógeno inmediatamente ante-mortem es bajo, producto de situaciones estresantes o animales agotados, el nivel de ácido láctico producido es inferior a lo normal y el pH final de la carne se sitúa en valores que oscilan entre 6-6.5. Si se considera que el pH óptimo para el crecimiento bacteriano se encuentra próximo a la neutralidad, es fácil deducir que este tipo de carnes estará más predispuesto al ataque bacteriano.

La actividad de agua en los alimentos es otro factor importante que condiciona el crecimiento microbiano. En la carne fresca es aproximadamente de 0.99 y por lo tanto, susceptible a la alteración por parte de las principales especies microbianas (Prandl y col., 1994). La humedad relativa es otro factor extrínseco que influye sobre el desarrollo bacteriano de descomposición en la carne. El crecimiento de los microorganismos en la superficie cárnica es diez veces mayor cuando la carne está húmeda que sobre la superficie seca almacenadas a una temperatura de 2-3 °C (Lawrie, 1977; Prandl y col., 1994).

El potencial redox (capacidad oxidante o reductora de un sistema) limita el crecimiento microbiano produciendo un aumento de la fase de latencia. En la carne, los microorganismos aerobios se ven favorecidos en su crecimiento por un potencial redox alto, mientras que un potencial redox bajo favorece el desarrollo de microorganismos anaerobios (Lawrie, 1977; Prandl y col., 1994).

La temperatura es probablemente el principal factor ambiental individual que influye en el crecimiento de bacterias sobre la carne. Son las especies psicrótrofas (especialmente *Pseudomonas* spp. y enterobacterias) las que prevalecen en la carne envasada sometidas a refrigeración (0-4 °C). Bajo estas condiciones se produce un aumento en la fase de latencia y una disminución de la tasa de crecimiento microbiano (Zamora y Zaritzky, 1985; Greer, 1988; Prandl y col., 1994; Garriga y col., 1996). Mientras el almacenamiento de la carne a bajas temperaturas retrasará el crecimiento bacteriano y extenderá así la vida útil, la medida en la cual la tasa de crecimiento decrece con las menores temperaturas varía con las especies de microorganismos presentes. Cuando la temperatura a la que se somete la carne alcanza los 20 °C, las *Pseudomonas* se constituyen en el grupo microbiano alterante predominante. Cuando la temperatura asciende a 30

°C, las cepas de *Acinetobacter* y las enterobacterias son los microorganismos que prevalecen (Greer, 1988; Prandl y col., 1994).

La tensión de oxígeno presente durante el almacenamiento de la carne influye marcadamente sobre el tipo de microorganismos que prevalecerán. Mientras que en condiciones de aerobiosis son las *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella* y *Flavobacterium* los géneros que exhiben un desarrollo superior, en la carne envasada al vacío o en atmósferas modificadas, prevalecerá la flora Gram positiva, especialmente bacterias lácticas y *Brochothrix thermosphacta* (Prandl y col., 1994).

Las bacterias ácido lácticas solo representan una pequeña proporción de la microflora inicial en carne envasada al vacío. No obstante, progresivamente se constituyen en el 70-90% de la población microbiana presente. Algunos estudios realizados y que analizan la flora existente en éste tipo de atmósferas demuestran que se favorece el crecimiento de enterobacterias, *Brochothrix thermosphacta*, *Alteromona putrefaciens* y bacterias ácido lácticas (Nassos y col., 1983; Hotchkiss, 1988; Schoebitz y col., 1990; Greer y Jones, 1991).

Protección de la carne

El desarrollo tecnológico en el procesamiento y preservación de los alimentos ha proporcionado a los consumidores una gran selección de alimentos con una gran vida útil. Consecuentemente, los compradores de carne han sido más selectivos y más conscientes de la calidad. Desde que la carne es procesada y luego distribuida y vendida hasta los minoristas, a menudo lejos del procesador primario, éste debe emplear métodos para asegurar la preservación de la carne. Tales métodos deben ser capaces de inhibir o atenuar el crecimiento tanto de los organismos patógenos como los alteradores. Además de prolongar la vida útil y mantener la calidad, las técnicas de preservación empleadas deben conservar las características de los productos crudos tanto como sea posible.

De los numerosos métodos de procesamiento físicos y químicos disponibles para extender la vida útil de la carne, la refrigeración es el método más importante en la industria cárnica. Sin embargo, en la carne fresca refrigerada pueden crecer una serie de microorganismos alterantes como *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, enterobacterias, *Brochothrix thermosphacta*, además de *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Carnobacterium* y

Leuconostoc (Aymerich y Hugas, 1998). El envasado al vacío es tal vez el método más común de modificar el ambiente interno del envase y es utilizado extensamente por la industria cárnica. La extensión de la vida de anaquel de las carnes envasadas al vacío radica en los cambios que se producen en las concentraciones de O₂ y CO₂ dentro del envase, generándose una selección microbiana. Como resultado, se inhibe el crecimiento de especies aerobias, especialmente *Pseudomonas*, mientras se tornan predominantes especies de *Lactobacillus* y *Brochothrix thermosphacta* (Nassos y col., 1983; Hotchkiss, 1988; Schoebitz y col., 1990; Greer y Jones, 1991). De esta forma se prolonga la vida comercial del producto en forma considerable, entre un 50 y 400% (Garriga y col., 1996).

Los microorganismos muestran la mayor tolerancia a un factor ambiental adverso simple cuando las otras condiciones ecológicas son óptimas. Dos o más condiciones subóptimas del ambiente actuando simultáneamente, ejercerán un efecto inhibitorio mayor que cada una de ellas consideradas separadamente (tecnología de barreras o “hurdle technology” en inglés) (Hugas, 1998). Dentro de las ventajas de utilizar dos o más obstáculos en conjunto para el control de la alteración se destaca el que el efecto colateral indeseable de una barrera individual puede ser evitado o reducido al ser menos intenso.

Biopreservación en carne cruda

Los alimentos han sido conservados por acción de las bacterias ácido lácticas desde mucho antes que existiera la ciencia de la microbiología. Históricamente la preservación por fermentación láctica era un proceso empírico por el cual los alimentos crudos sufrían cambios que resultaban en alimentos con características y calidades diferentes. Probablemente, la leche fermentada por acción bacteriana fuese consumida desde hace al menos 11,000 años (Hugas, 1993; Fields, 1996; Stiles, 1996). La biopreservación puede definirse como la extensión de la vida útil e incremento de la seguridad sanitaria de los alimentos mediante la microflora natural o sus metabolitos (Aymerich y Hugas, 1998; Hugas, 1998). Puede ser aplicada en los alimentos en general y en las carnes en particular, a través de 4 métodos básicos:

1. Adición de cultivos bacterianos viables. El éxito depende de la habilidad del cultivo bacteriano para crecer bajo las condiciones

ambientales del alimento y las condiciones tecnológicas. No debe producir cambios sensoriales y en el caso de abuso de temperatura debe ser capaz de crecer competitivamente.

2. Adición de cultivos bioprotectores productores de bacteriocinas.
3. Mediante licores de fermentación o sus concentrados procedentes del crecimiento de bacterias lácticas en medios complejos.
4. Como sustancia purificada o semipurificada.

Microbiológicamente, las bacterias ácido lácticas se caracterizan por ser Gram positivas, comúnmente no móviles, no esporuladas y que producen ácido láctico como producto principal o único del metabolismo fermentativo. Crecen de manera anaerobia, sin embargo, la mayor parte de ellas no son sensibles al oxígeno (anaerobios aerotolerantes). La mayor parte de este grupo sólo puede obtener energía del metabolismo de los carbohidratos y compuestos relacionados. Según su metabolismo pueden diferenciarse en homofermentadoras (producen virtualmente un único producto de fermentación, el ácido láctico) y heterofermentadoras (producen otros productos y en particular etanol, ácido acético y CO₂) (Larpent, 1995; Caplice y Fitzgerald, 1999). Las bacterias ácido lácticas que crecen en la carne fresca causan interferencia con el crecimiento de microorganismos alterantes y patógenos mediante diferentes mecanismos como la competencia por nutrientes y oxígeno, competición por la adhesión al sustrato y producción de una amplia gama de sustancias inhibitorias, principalmente ácido láctico o acético, diacetilo, peróxido de hidrógeno, reuterina, bacteriocinas y otras sustancias de bajo peso molecular (por ejemplo ácido benzóico, metilidantoina y mevalonolactona) (Selgas y col., 1993; Aymerich y Hugas, 1998; Hugas, 1998; Niku-Paavola y col., 1999). Al no poder esterilizarse la carne antes de aplicar este tipo de microorganismos, éstos deben ser altamente competitivos con la microflora nativa (Pérez-Chabela y col., 2000).

El ácido láctico es el principal metabolito producido por las bacterias ácido lácticas homofermentativas. Es uno de los ácidos con mayor distribución en la naturaleza y el más empleado con fines preservantes (Hugas, 1993; Larpent, 1995). Es incoloro, no volátil, muy soluble en agua y con un pKa de 3.857 (van der Marel y col., 1988). No solo el ácido láctico es empleado

como sanitizante en carnes, también ácidos como el acético, propiónico y/o sórbico son otros ejemplos. Su aplicación más importante es como decontaminante de canales de cerdo, vacuno y pollo, incrementando la estabilidad microbiológica de las carnes envasadas al vacío (Nassos y col., 1985; Zamora y Zaritzky, 1987; van der Marel y col., 1988; Mendonca y col., 1989; Anderson y Marshall, 1990; Unda y col., 1990; Brewer y col., 1991; Dixon y col., 1991; Greer y Jones, 1991; Lamkey y col., 1991; Papadopoulos y col., 1991).

Las bacteriocinas pueden definirse como compuestos de naturaleza proteica biológicamente activos que exhiben propiedades antimicrobianas sobre otras bacterias generalmente relacionadas filogenéticamente con el organismo productor (Bruno y Montville, 1993). Son pequeños péptidos catiónicos (30 a 60 residuos aminoacídicos) con un alto punto isoeléctrico y características anfipáticas (Jack y col., 1995; Nes y col., 1996; Uteng y col., 2002). El espectro de acción antibacteriana se reduce a grupos microbianos estrechamente relacionados filogenéticamente (bacterias Gram positivas), siendo muy baja la actividad frente a bacterias Gram negativas (Jack y col., 1995). La actividad de las bacteriocinas se ha demostrado que depende del pH del medio donde se encuentren (óptima actividad a pH bajos), de la temperatura (disminuyen su actividad al disminuir la temperatura, posiblemente como resultado de cambios experimentados al nivel de la membrana celular bacteriana) y de sus concentraciones (Okereke y Montville, 1991; Hugas y col., 1995; Aymerich y col., 1996; Hugas, 1996; Contreras y col., 1997). Se han realizado un importante número de estudios aplicando bacterias acidolácticas, algunas de ellas productoras de bacteriocinas para comprobar su eficacia como agentes bioprotectores evaluando la calidad microbiológica de los alimentos (Guerrero-Legarreta y col., 1995; Guidolin-Milani y col., 1998; Hugas, 1998; Roos y col., 1999). Otro estudio ha demostrado que los cultivos de bacterias ácido lácticas son eficientes para controlar el crecimiento de enterobacterias en carne de res almacenada tanto a temperaturas de refrigeración como bajo abuso térmico, logrando reducciones de 1 y 0.5 logUFC/g de carne, respectivamente (Signorini y col., 2002). Adicionalmente se mostraron útiles para reducir la cuenta de *Pseudomonas* spp. y bacterias lácticas heterofermentativas en carne sometida a abuso térmico. Estos resultados concuerdan con los reportados por Minor Pérez (1998) y Quintero (2001) empleando bacterias acidolácticas en carne de cerdo y ave, respectivamente.

Paralelamente los cultivos bioprotectores lograron reducir la concentración de histamina en carne bovina almacenada a 20 °C por una semana, concordando con Quintero Salazar (2001), quien reportó reducciones en la concentración de dos aminas biogénicas indicadoras de calidad microbiológica en carne de pollo (putrescina y cadaverina) almacenada a 4 °C. Además de la evaluación de los cultivos de bacterias ácido lácticas sobre microorganismos alterantes, se ha estudiado la actividad frente a patógenos cárnicos. Se comprobó la eficacia de determinadas bacteriocinas para inhibir la germinación de esporas de *Cl. botulinum* en productos cárnicos sometidos a refrigeración (Okereke y Montville, 1991). En este mismo sentido se evidenció la potencialidad de las cepas bacteriocinogénicas para actuar como biopreservantes en carnes frescas y productos cárnicos, antagonizando el crecimiento y desarrollo de *Listeria monocytogenes* (Skytta y col., 1993; Winkowski y col., 1993; Hugas y col., 1995; Aymerich y col., 1996; Hugas, 1996; Monfort y col., 1996).

Los productos decontaminantes deben reunir ciertas propiedades para ser utilizadas en alimentos, como poseer actividad bactericida fuerte y rápida, no dejar residuos que puedan afectar al consumidor, no afectar las características organolépticas y ser aceptado por el público consumidor (van der Marel y col. 1988). Diferentes mecanismos se han postulado para describir el mecanismo por el cual los ácidos orgánicos ejercen su efecto bactericida. El que mayor consenso ha ganado es aquel por el cual el ácido orgánico en su estado no disociado atraviesa por difusión la membrana celular bacteriana favorecido por su carácter lipofílico. Una vez en el interior celular, quien presenta un pH superior al exterior, el ácido se disocia con el objetivo de reestablecer nuevamente el equilibrio (disociado/no disociado) liberando al medio grupos H^+ acidificando el medio. La bacteria, con el objetivo de reestablecer el estado de homeostasis, agota su energía activando los mecanismos para eliminar los grupos ácidos hacia el exterior celular. Junto con este agotamiento energético, la acidificación del citoplasma bacteriano provocaría la competencia con co-enzimas, inactivación enzimática (especialmente aquellas que posean grupos S-S en su estructura), supresión de la oxidación del fumarato en microorganismos catalasa+, entre otras acciones (Smulders y col., 1986; Young y Foegeding, 1993; Shelef, 1994). Otra teoría establece que al incorporarse importantes cantidades de lactato al interior bacteriano modifican el equilibrio termodinámico de la reacción por la cual el piruvato es reducido a lactato,

invirtiéndola y de este modo inhibiendo la ruta metabólica más importante de los microorganismos anaerobios (Shelef, 1994). Los ácidos hidroxicarboxílicos como el cítrico, láctico, málico y tartárico, poseen actividad quelante sobre ciertos cationes (Young y Foegeding, 1993). Se presume que esta actividad quelante, especialmente sobre el Fe, es el causante de la actividad anti-*Listeria* (Shelef, 1994). Bajo las mismas condiciones (especialmente de pH) existen diferencias en la actividad antimicrobiana de los diferentes ácidos orgánicos, sugiriendo un efecto específico relacionado a la potencia para penetrar en la célula, la parte celular que es atacada y la naturaleza química del ataque (Mendonca y col., 1989; Unda y col., 1990). La eficiencia del tratamiento con ácidos orgánicos depende de los siguientes factores: A) Grado y naturaleza de la contaminación inicial: altas concentraciones iniciales están correlacionadas con escasa actividad antimicrobiana (Smulders y col. 1986). Asimismo, se determinó que *Listeria monocytogenes* es más resistente a la acción del ácido láctico que las enterobacterias, siendo éstas a su vez más resistentes que *Salmonella thyphimurium* y *Campylobacter jejuni* (Van Netten y col., 1994). B) pH: la actividad antimicrobiana es ejercida por la forma no disociada del ácido gracias a su característica lipofílica. El grado de disociación está relacionado con el pK_a del mismo y obviamente por el pH del ambiente en el cual se encuentre presente la molécula de ácido. En estudios realizados con ácido sórbico (Zamora y Zaritzky, 1987) se determinó que la forma no disociada es 45 veces más efectiva que la disociada. C) Temperatura: se ha demostrado que la actividad antibacteriana de las moléculas de ácidos orgánicos es más intensa a temperaturas de 35 °C que a temperaturas de refrigeración (Van Netten y col., 1994). D) Otros, como la concentración de ácido presente está relacionada directamente con su actividad antimicrobiana (Smulders y col. 1986), así como el tiempo de exposición del mismo con el material a descontaminar (Van Netten y col., 1994).

Las experiencias que utilizaron lactato como agente sanitizante indican que en concentraciones del 2-3% se observa una disminución del recuento de microorganismos mesófilos aerobios totales, enterobacterias y psicotrofos. Además se menciona la reducción en las tasas de crecimiento para patógenos como *Escherichia coli* (Dixon y col., 1991), *Campylobacter jejuni* (Cudjoe y Kapperud, 1991), *Clostridium botulinum* (Maas y col., 1989), *Listeria monocytogenes* (Young y Foegeding, 1993) y *Salmonella spp* (Dixon

y col., 1991). Por otra parte se evidencia una modificación en la flora predominante, estando constituida entre un 76 y 95% por bacterias lácticas (especialmente *Leuconostoc spp.* y *Lactobacillus spp.*) cuando la carne se almacena en aerobiosis o anaerobiosis respectivamente (Nassos y col., 1985). Del mismo modo, la aplicación de una solución de ácido láctico (200 mg/100 g de carne) logró controlar la cuenta de enterobacterias, *Pseudomonas spp.*, *B. thermosphacta* y bacterias lácticas heterofermentativas en carne bovina, observándose reducciones de 2.0, 1.1 y 1.0 logUFC/g respectivamente cuando la carne se almacenó bajo refrigeración y reducciones de 2.5, 2.0, 1.5 y 0.5 logUFC/g respectivamente cuando la carne fue sometida a abusos térmicos, donde adicionalmente se pudo comprobar la eficiencia de este ácido orgánico para reducir los niveles de histamina, putrescina y tiramina en carne bovina almacenada a 4 y 20 °C (Signorini y col., 2002).

Referencias

- ANDERSON M.E., MARSHALL R.T. 1990. Reducing microbial population on beef tissues: Concentration and temperature of an acid mixture. *Journal of Food Science* 55(4): 903-905.
- AYMERICH T., HOLO H., HAVARSTEIN L.S., HUGAS M., GARRIAGA M., NES I.F. 1996. Biochemical and genetic characterization of Enterocin A from *Enterococcus faecium* a new antilisterial bacteriocin in the Pediocin family of bacteriocins. *Applied and Environmental Microbiology* 62 (5): 1676-1682.
- AYMERICH M.T., HUGAS M. 1998. Estado actual de la bioconservación en productos cárnicos. *Eurocarne* 72: 39-49.
- BREWER M.S., McKEITH F., MARTIN S.E., DALLMIER A.W., MEYER J. 1991. Sodium lactate effects on shelf-life, sensory, and physical characteristics of fresh pork sausage. *Journal of Food Science* 56 (5): 1176-1178.
- BRUNO M.E., MONTVILLE T.J. 1993. Common mechanistic action of bacteriocins from lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 59 (9): 3003-3010.
- CAPLICE E., FITZGERALD G.F. 1999. Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *International Journal of Food Microbiology* 50: 131-149.
- CONTRERAS B.G.L., DE VUYST L., DEVREESE B., BUSANYOVA K., RAYMAECKERS J., SABLON E., VANDAMME E.J. 1997. Isolation, purification and amino acid sequence of Lactobin A, one of the two bacteriocins produced by *Lactobacillus amylovorus* LMG P-13139. *Applied and Environmental Microbiology* 63 (1): 13-20.

- CUDJOE K.S., KAPPERUD G. 1991. The effect of lactic acid sprays on *Campylobacter jejuni* inoculated onto poultry carcasses. *Acta Veterinaria Scandinavia* 32: 491-498.
- DIXON Z.R., ACUFF G.R., LUCIA L.M., VANDERZANT C., MORGAN J.B., MAY S.G., SAVELL J.W. 1991. Effect of degree of sanitation from slaughter through fabrication on the microbiological and sensory characteristics of beef. *Journal of Food Protection* 54: 200-207.
- FIELDS F.O. 1996. Use of bacteriocins in food: regulatory considerations. *J Journal of Food Protection.*, Supplement: 72-77.
- GARRIGA M., MARCER M., HUGAS M. 1996. Microbiología de la carne fresca y productos cárnicos envasados. *Eurocarne* 49:69-73.
- GILL C.O. 1976. Substrate limitation of bacterial growth at meat surfaces. *Journal of Applied Bacteriology* 41(3): 401-410.
- GILL C.O., NEWTON K.G. 1980. Growth of bacteria on meat at room temperatures *Journal of Applied. Bacteriology* 49(2):315-323.
- GILL C.O., PENNEY N. 1982. Bacterial penetration of muscle tissue. *Journal of Food Science* 47(2):690-691.
- GREER G.G. 1988. Bacteria and meat quality. 31 Conferencia Anual del Instituto Canadiense de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Winnipeg, Canadá.
- GREER G.G., JONES S.D.M. 1991. Effects of lactic acid and vacuum packaging on beef processed in a research abattoir. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal* 24 (3-4): 161-168.
- GUERRERO I., TAYLOR A.J. 1994. Meat surface decontamination using lactic acid from chemical and microbial sources. *Lebensmittel-Wissenschaft. und-Technologie* 27: 201-209.
- GUERRERO-LEGARRETA I., MENDIOLEA R., PONCE E., PRADO A. 1995. Inoculation of lactic acid bacteria on meat surfaces as a means of decontamination in semitropical conditions. *Meat Science* 40(3): 397-411.
- GUIDOLIN MILANI L.I., SCHUCH BOEIRA L., SORIANO BESSA L., DIAS DE AVILA L., LAZZERI J.B., MARTINS FRIES L.L., TERRA N.N. 1998. Inhibición de microorganismos indeseables en la superficie de las canales de pollo refrigeradas. *Eurocarne* 67: 61-70.
- HOTCHKISS J.H. 1988. Experimental approaches to determining the safety of food packaged in modified atmospheres. *Food Technology* 42(9): 55-64.
- HUGAS M. 1993. Acción antimicrobiana de las bacterias lácticas: sistemas naturales de conservación de los alimentos. *Eurocarne* 45: 47-52.
- HUGAS M., GARRIGA M., AYMERICH M.T., MONFORT J.M. 1995. Inhibition of *Listeria* in dry fermented sausages by the bacteriocinogenic *Lactobacillus sake* CTC494. *Journal of Applied. Bacteriology* 79(3): 322-330.

- HUGAS M. 1996. Patente de una cepa de *Enterococcus faecium* CTC492 productora de bacteriocinas contra *Listeria monocytogenes*. *Eurocarne* 50: 45-49.
- HUGAS M. 1998. Bacteriocinogenic lactic acid bacteria for the biopreservation of meat and meat products. *Meat Science* 49 (Suppl. 1): S139-S150.
- HULTIN H.O. 1993. Características del tejido muscular. En Fennema, O. R. Ed. *Química de los Alimentos*. ACRIBIA S.A. Zaragoza, España, pp: 815-881.
- JACK R.W., TAGG J.R., RAY B. 1995. Bacteriocins of gram positive bacteria. *Microbiology Reviews* 59 (2): 171-200.
- LAMKEY J.W., LEAK F.W., TULEY W.B., JOHNSON D.D., WEST R.L. 1991. Assessment of sodium lactate addition to fresh pork sausage. *Journal of Food Science* 56 (1): 220-223.
- LARPENT J.P. 1995. Las bacterias lácticas. En Bourgeois, C.M. y Larpent, J.P. Eds, *Microbiología Alimentaria*. Vol. II. (Fermentaciones Alimentarias). ACRIBIA S.A., Zaragoza España, pp. 3-17.
- LAWRIE R.A. 1977. *Ciencia de la Carne*. Ed. ACRIBIA S.A. Zaragoza, España.
- MARSHALL D.L., BAL'A M.F. 2001. *Microbiology of Meats*". En Hui, Y.H.; Nip, W.K.; Rogers, R.W. y Young O.A. Eds., *Meat Science and Applications*. Marcel Dekker, Inc., Nueva York, EUA.
- MASS M.R., GLASS K.A., DOYLE M.P. 1989. Sodium lactate delays toxin production by *Clostridium botulinum* in cook-in-bag turkey products. *Journal of Food Science* 55(9): 226-2229.
- MENDONCA A.F., MOLINS R.A., KRAFT A.A., WALKER H.W. 1989. Microbiological, chemical and physical changes in fresh, vacuum-packaged pork treated with organic acids and salts. *Journal of Food Science* 51 (1): 18-21.
- MINOR PÉREZ H. 1998. Cambios en parámetros fisicoquímicos relacionados con la calidad de la carne de cerdo sometida a fermentación láctica como método de bioconservación. Tesis de Maestría en Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana, México.
- MONFORT J.M., HUGAS M., PAGES F., GARRIGA M. 1996. Comparación de diferentes lactobacilos productores de bacteriocina sobre el crecimiento de *Listeria* en salchichones. *Eurocarne* 48: 51-55.
- NASSOS P.S., KING A.D., STAFFORD A.E. 1983. Relationship between lactic acid concentration and bacterial spoilage in ground beef. *Applied. Environmental Microbiology* 46 (4): 894-900.
- NASSOS P.S., KING A.D., STAFFORD A.E. 1985. Lactic acid concentration and microbial spoilage in anaerobically and aerobically stored ground beef. *Journal Food Science* 50 (3): 710-715.

- NES I.F., DIEP D.B., HAVARSTEIN L.S., BRURBERG M.B., EIJSINK V., HOLO H. 1996. Biosynthesis of bacteriocins in lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* 70: 113-128.
- NIKU-PAAVOLA M.L., LAITILA A., MATTILA-SANDHOLM T., HAIKARA A. 1999. New types of antimicrobial compounds produced by *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Applied Microbiology* 86(1): 29-35.
- NYCHAS G.J., DILLON V.M., BOARD R.G. 1988. Glucose, the key substrate in the microbiological changes occurring in meat and certain meat products. *Biotechnology and Applied Biochemistry* 10: 203-231.
- OKEREKE A., MONTVILLE T.J. 1991. Bacteriocin-mediate inhibition of *Clostridium botulinum* spores by lactic acid bacteria at refrigeration and abuse temperatures. *Applied Environmental Microbiology* 57 (12): 3423-3428.
- PAPADOPOULOS L.S., MILLER R.K., ACUFF G.R., VANDERZANT C., CROSS H.R. 1991. Effect of sodium lactate on microbial and chemical composition of cooked beef during storage. *Journal of Food Science* 56 (2):341-347.
- PÉREZ-CHABELA M.L., GUERRERO-LEGARRETA I., PONCE-ALQUICIRA E. 2000. Conservación de carnes por aplicación de bacterias lácticas. En Rosmini, M.R.; Pérez-Álvarez, J.A. y Fernández-López, J. Eds., *Nuevas Tendencias en la Tecnología e Higiene de la Industria Cárnica*. Universidad Miguel Hernández, Orihuela, España, pp. 119-132.
- PRANDL O., FISCHER A., SEMIDHOFERT T., SINELL H.J. 1994. *Tecnología e Higiene de la Carne*. Ed. ACRIBIA S.A. Zaragoza, España, 854 p.
- 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, México.
- RODRÍGUEZ H.R. 1996. Higiene y sanidad de las carnes de consumo. Instituto de Tecnología de Alimentos, CICV, INTA, 18: 13-27.
- ROOS R.P., GALVIN M., McAULIFFE O., MORGAN S.M., RYAN M.P., TWOMEY D.P., MEANEY W.J., HILL C. 1999. Developing applications for lactococcal bacteriocins. *Antonie van Leeuwenhoek* 76(1-4): 337-346.
- SCHOEBITZ R., de la VEGA J.A., TAMAYO R. 1990. Calidad microbiológica y sensorial de la carne de vacuno envasada al vacío almacenada a diferentes temperaturas. *Fleischwirtschaft español* 1(2): 31-36.
- SELGAS D., MARIN M.L., PIN C., CASAS C. 1993. Attachment of bacteria to meat surfaces: A review. *Meat Science* 34: 265-273.
- SHELEF L.A. 1994. Antimicrobial effects of lactates: A review. *Journal of Food Protection* 57(5): 445-450.
- SIGNORINI M., PONCE E., GUERRERO I. 2002. Effect of lactic acid and lactic acid bacteria on spoilage microorganisms in vacuum-packaged beef meat. 2002 Institute of Food Technologists Annual Meeting.

- SKYTТА E., HAIKARA A., MATTILA-SANDHOLM T. 1993. Production and characterization of antibacterial compounds produced by *Pediococcus damnosus* and *Pediococcus pentosaceus*. *Journal of Applied Bacteriology* 74(2): 134-142.
- SMULDERS F.J.M., BARENDSSEN P., van LOGTESTIЈN J.G., MOSSEL D.A.A., van der MAREL G.M. 1986. Review: Lactic acid: considerations in favour of its acceptance as a meat decontaminant. *Journal of Food Technology* 21(4):419-436.
- STILES M.E. 1996. Biopreservation by lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* 70:331-345.
- UNDA J.R., MOLINS R.A., WALKER H.W. 1990. Microbiological and some physical and chemical changes in vacuum-packaged beef steaks treated with combinations of potassium sorbate, phosphate, sodium chloride and sodium acetate. *Journal of Food Science* 55 (2): 323-326.
- UTENG M., HAUGE H.H., BRONDZ I., NISSEN-MEYER J., FIMLAND G. 2002. Rapid two-step procedure for large-scale purification of pediocin-like bacteriocins and other cationic antimicrobial peptides from complex culture medium. *Applied and Environmental Microbiology* 68(2):952-956.
- VAN DER MAREL G.M., VAN LOGTESTIЈN J.G., MOSSEL D.A.A. 1988. Bacteriological quality of broiler carcasses as affected by in-plant lactic acid decontamination. *International Journal of Food Microbiology* 6(1): 31-42.
- VAN NETTEN P., HUIS J.H.J., VELD H., MOSSEL D.A.A. 1994. The immediate bactericidal effect of lactic acid on meat-borne pathogens. *Journal of Applied Bacteriology* 77(5):490-496.
- WINKOWSKI K., CRANDALL A.D., MONTVILLE T.J. 1993. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by *Lactobacillus bavaricus* MN in beef systems at refrigeration temperatures. *Applied Environmental Microbiology* 59 (8): 2552-2557.
- YOUNG K.M., FOEGEDING P.M. 1993. Acetic, lactic and citric acids and pH inhibition of *Listeria monocytogenes* Scott A and the effect on intracellular pH. *Journal of Applied Bacteriology* 74(5): 515-520.
- ZAMORA M.C., ZARITZKY N.E. 1985. Modeling microbial growth in refrigerated packaged beef. *Journal of Food Science* 50(4): 1003-1013.
- ZAMORA M.C., ZARITZKY N.E. 1987. Potassium sorbate inhibition of microorganisms growing on refrigerated packaged beef. *Journal of Food Science* 52 (2): 257-262