



***Pediococcus pentosaceus*: cultivo iniciador con potencial probiótico en la industria cárnica**

***Pediococcus pentosaceus*: starter culture with probiotic potential in the meat industry**

Montserrat Escobarⁱ, Edith Ponce-Alquiciraⁱⁱ✉

Departamento de Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. Av. San Rafael Atlixco 186, Iztapalapa 09340, Ciudad de México, México. ✉ Autor de correspondencia: pae@uam.xanum.mx.

Resumen

Esta revisión tiene por objetivo describir el potencial probiótico de *Pediococcus pentosaceus* dentro de la industria cárnica sustentada en diversos estudios. Se consultaron revistas especializadas en ciencia, microbiología de alimentos y otras relacionadas con probióticos, cuyo descriptor principal fue *Pediococcus pentosaceus*. En general los reportes encontrados desde el año 2000 a la fecha, muestran evidencia en donde se ha determinado la supervivencia de *P. pentosaceus* aislado de carne fresca, cultivos comerciales iniciadores de carne, productos cárnicos cocidos y secos, siendo este microorganismo tolerante a condiciones ácidas similares a las del tracto gastrointestinal e intestino delgado (pH 3.0-5.0), muestra resistencia hasta 2% de concentración de sales biliares, una alta capacidad de auto-agregación y co-agregación; además exhibe inhibición del crecimiento de patógenos intestinales Gram positivos y Gram negativos. Por tanto, se constató que *Pediococcus pentosaceus* es una bacteria probiótica prometedora y también que existe poca investigación sobre el crecimiento de *Pediococcus pentosaceus* y su relación con la calidad, las propiedades organolépticas, el microambiente y la vida útil de la carne cuando se utiliza como cultivo iniciador.

Palabras claves: *Pediococcus pentosaceus*, probióticos, bacterias ácido lácticas, productos cárnicos, cultivos iniciadores.

Abstract

This review aimed to describe the probiotic potential of *Pediococcus pentosaceus* in the meat industry supported by different studies. Several journals specialized in food science,

ⁱ  orcid.org/0000-0002-8645-9108

ⁱⁱ  orcid.org/0000-0002-0797-9165

where the survival of *P. pentosaceus* isolated from fresh meat, commercial starter cultures of meat, cooked and dried meat products has been determined, this microorganism being tolerant to acidic conditions similar to those of the gastrointestinal tract and small intestine (pH 3.0-5.0), show resistance up to 2% concentration of bile salts, a high capacity for autoaggregation, co-aggregation and exhibit inhibition of the growth of Gram positive and Gram negative intestinal pathogens. Therefore, it was found that *P. pentosaceus* is a promising probiotic bacterium and there is also little research on the growth of *P. pentosaceus* and its relation to the quality, organoleptic properties, the microenvironment and the shelf life of meat when used as starter cultures.

Keywords: *Pediococcus pentosaceus*, probiotics, lactic acid bacteria, meat products, meat starters.

INTRODUCTION

El grupo de las bacterias ácido láctico (BAL) comprende un diverso espectro de bacterias Gram-positivas, que se caracterizan por producir ácido láctico como principal metabolito; presente en varios hábitats y particularmente en el tracto gastrointestinal de animales y humanos. En general las BAL se reconocen como microorganismos seguros y son empleados como agentes para la bioconservación por su capacidad para controlar la microbiota alterante en lácteos, verduras, carnes, café, cacao, ensilados y bebidas fermentadas, además contribuyen de forma significativa en el desarrollo de sabor y textura. Un aspecto importante es que algunas BAL presentan actividad probiótica ya que cuando se administran en cantidades adecuadas confieren beneficios al huésped, mejorando la microbiota y salud intestinal, además pueden actuar como moduladores del sistema inmunológico, aminoran los efectos de la intolerancia a la lactosa, el asma, además de infecciones gastrointestinales (Arief y col., 2015; López-Arvizu y col., 2019). Por lo que las BAL junto con otros organismos probióticos se han convertido en un tema importante de investigación en la última década (FAO y WHO, 2019).

La mayoría de los probióticos en humanos son bacterias del ácido láctico (BAL) (Pérez-Chabela y col., 2013; Pérez Chabela y col., 2013a; Ramirez-Chavarin y col., 2013; Chen y col., 2017) que se utilizan para la elaboración de productos lácteos fermentados, carnes y vegetales. Las cepas probióticas incluyen miembros de los géneros *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *Enterococcus*, entre otros (Hernández-Alcántara y col., 2018). Es muy importante poder mejorar la estabilidad de las bacterias probióticas para ampliar sus nuevos usos y para garantizar dosis mínimas efectivas para productos particulares (Lee y Salminen, 1995). Investigar las características de BAL aisladas de productos cárnicos es de interés ya que se requiere más información relacionada con la evaluación de sus propiedades probióticas, así como identificar y definir especies de BAL aisladas que cumplan los requisitos mínimos necesarios para el estado probiótico y propiedades saludables para el ser humano (FAO y WHO 2002).

Pediococcus pentosaceus ha sido aislada de diversos productos cárnicos y puede tener un potencial uso como cultivo iniciador y en carne; ya que se han probado diferentes cepas que pertenecen a este género y se utilizan como bacterias probióticas (Hernández-Alcántara y col., 2018), es por ello de gran interés describir la termoresistencia, actividad antimicrobiana y propiedades probióticas de *Pediococcus pentosaceus*.

Probióticos

Un probiótico es un cultivo de microorganismos vivos, principalmente BAL o bifidobacterias, que afecta de manera benéfica la salud del huésped cuando se ingiere en cantidades suficientes. La colonización del intestino por bacterias probióticas previene el crecimiento de bacterias dañinas por exclusión competitiva, modulación del sistema inmune y por la producción de ácidos orgánicos y compuestos antimicrobianos (Fuller, 1989; Mogensen, 1995; Bao y col., 2010). Las BAL son residentes normales del tracto gastrointestinal, el número de BAL en el estómago es de $<3 \log \text{ UFC/ml}$, en el íleon $2-5 \log \text{ UFC/g}$ y en el colon $4-9 \log \text{ UFC/g}$ (Gorbach y col., 1967).

Se ha informado que las condiciones para que las BAL se utilicen como probióticos incluyen mínimamente lo siguiente: a) deben reconocerse como seguras (GRAS), b) deben ser tolerantes al ácido y la bilis y c) deben producir sustancias antimicrobianas como ácido láctico y bacteriocinas (Pennacchia y col., 2006). Además, deben poseer la capacidad de sobrevivir en los productos con un número suficiente durante su producción y almacenamiento (Bao y col., 2010) y tener la capacidad de adherirse a la mucosidad intestinal, las células epiteliales, auto-agregación y co-agregación para formar una barrera que bloquea la colonización por patógenos (Ehrmann y col., 2002; Ramirez-Chavarin y col., 2013).

Resistencia a acidez y sales biliares

Los probióticos comienzan su acción en el tracto gastrointestinal siendo capaces de sobrevivir un pH ácido en el estómago y posteriormente resisten los ácidos biliares al comienzo del intestino delgado (Salminen y col., 1996). El pH del HCl excretado en el estómago es de 0.9. Sin embargo, la presencia de alimentos eleva el valor del pH al nivel de pH 3. Después de la ingestión de alimentos, el estómago tarda $2 \pm 4 \text{ h}$ en vaciarse. Las sales biliares se sintetizan a partir del colesterol en el hígado, se almacenan en la vesícula biliar y se liberan en el intestino delgado después de la ingestión de lípidos. Este detergente es crítico para los microorganismos ya que sus membranas celulares están compuestas de lípidos y ácidos grasos. Sin embargo, algunos microorganismos pueden hidrolizar las sales biliares con la enzima hidrolasa de sal biliar, disminuyendo su solubilidad y por tanto debilitando su efecto detergente (Erkkilä y Petaja, 2000; Hofmann y Mysels, 1992).

Actividad antibacteriana

Las cepas de *P. pentosaceus* han presentado actividad antibacteriana, demostrada por su capacidad de producir una zona clara contra bacterias patógenas mediante métodos de difusión por agar en diversos estudios. Algunos reportes sugieren que la actividad antagonista de estas cepas BAL es causada principalmente por ácidos orgánicos producidos como resultado del metabolismo de la glucosa. Otros posibles factores pueden ser algunos péptidos y bacteriocinas que desempeñan actividad antimicrobiana a pH bajo (Arief y col., 2015).

Acidez y producción de ácidos orgánicos

Las cepas de BAL tienen diferentes capacidades en la supervivencia de la acidez, como lo indica los resultados de Arief y col. (2015), debido a que son afectadas específicamente por los mecanismos de homeostasis de pH, los tres sistemas principales involucrados en la homeostasis de pH de BAL son el sistema de arginina deaminasa, la bomba de protones H⁺-ATPasa y el sistema de glutamato descarboxilasa (Cotter y Hill, 2003).

El mecanismo de inhibición del ácido láctico a la célula bacteriana tiene propiedades hidrofóbicas, facilitando la difusión en forma de protones en la célula a través de la membrana celular. Como resultado, el pH intracelular es más alto que el pH extracelular, (Bogaert y Naidu, 2000). La actividad antimicrobiana de los ácidos orgánicos y del pH es complementaria, debido a su naturaleza lipofílica, pueden atravesar la membrana celular y disociarse en el citoplasma, interfiriendo con funciones celulares, como la translocación de sustrato y la fosforilación oxidativa, incremento de protones en el interior celular excediendo la capacidad tampón del citoplasma, provocando el transporte hacia el exterior mediante bomba de protones, agotando las reservas energéticas de la célula, la bomba de protones se detiene y se provoca el descenso del pH interno, esto causa desnaturalización de proteínas y desestabilización de componentes estructurales y funcionales, interfiriendo así con la viabilidad celular (Vásquez y col., 2009). A pesar de que las bacterias son sensibles al pH ácido del estómago, algunas BAL pueden sobrevivir y crecer a ese pH relativamente bajo porque tienen un sistema que transporta simultáneamente ácido láctico y protones al exterior de la célula (Ramirez-Chavarin y col., 2013).

Producción de bacteriocinas

Las bacteriocinas son péptidos con actividad antimicrobiana producidos por síntesis ribosomal; existen numerosas bacteriocinas y cada una tiene espectros de inhibición particulares, actuando no solo frente a bacterias estrechamente relacionadas sino que también pueden afectar a otras especies bacterianas, hongos y algunos parásitos, característica que es aprovechada para la manipulación de poblaciones bacterianas a nivel de tracto digestivo con el fin de excluir patógenos, mejorar la digestibilidad e incrementar la actividad inmunológica de muchas especies animales (Monroy y col., 2009). Las bacteriocinas de BAL son generalmente estables a pH ácido o neutro, indicando una

adaptación al entorno natural de las bacterias que las producen (Gutiérrez Ramírez y col., 2005). Se han reportado más de 230 bacteriocinas en bases de datos como BACTIBASE (URL: <http://bactibase.pfba-lab-tun.org>). Klaenhammer (1993) propuso una clasificación en cuatro grupos (Clase I, Clase II, Clase III y Clase IV) acorde a su proceso de síntesis, modificación postraducciona, peso molecular y estructura; aunque recientemente se han propuesto otros esquemas de subclasificación que consideran características genómicas (Alvarez-Sieiro y col., 2016).

Las bacteriocinas de la clase IIa o pediocinas son un grupo de bacteriocinas de bajo peso molecular, estables a los tratamientos térmicos y producidos principalmente por bacterias del género *Pediococcus*. Dentro de su secuencia de aminoácidos contienen una secuencia N-terminal conservada YGNGVXCXXXCXV, con dos residuos de cisteína unidos mediante un enlace disulfuro y cuyo gen estructural *pedA* se encuentra asociado a otros genes de inmunidad y transporte *pedB*, *pedC* and *pedD*. Dentro de las bacteriocinas de la clase II, la Pediocina A es una de las de mayor interés por su capacidad de acción contra *Listeria monocytogenes*, *S. aureus* y *Pseudomonas*. Algunos ejemplos de productos comerciales con esta bacteriocina incluyen a ALTA® (Kerry Bioscience), Fargo 23® (Quest International) y Bactoferm F-LC® (Chr. Hansen) como conservadores en productos vegetales y cárnicos (Yousef y col., 1991; López-Cuellar y col., 2016; López-Arvizu y col., 2019).

Capacidad de auto-agregación y co-agregación

Las BAL probióticas tienen la capacidad de formar un agregado articular consigo mismas (auto-agregación) y con bacterias patógenas (co-agregación), acorde con Bao y col. (2010). Ramírez-Chavarin y col., en 2013 mencionaron que hay estudios en donde se ha informado que la capacidad de auto-agregación se correlaciona con la adherencia, que es un requisito previo para la colonización del tracto gastrointestinal y la infección por patógenos. La co-agregación, por el contrario, está vinculada a la capacidad de interactuar estrechamente con los patógenos; la capacidad de co-agregación, junto con la hidrofobicidad de la superficie celular y la capacidad de agruparse con cepas patógenas se pueden utilizar para la selección preliminar y la identificación de bacterias probióticas con aplicaciones potenciales en sistemas humanos y animales.

Capacidad de adherencia a células epiteliales

Un criterio principal para la selección de cepas probióticas es la capacidad de adherirse a la superficie intestinal ya que se requiere adherencia al moco intestinal para la colonización y la actividad antagonista contra enteropatógenos. Al llegar al intestino, una cepa probiótica debe fijarse a las puntas de las microvellosidades y luego adherirse al moco para evitar ser arrastrado por el peristaltismo. El moco intestinal es un modelo clásico para evaluar la adherencia in vitro ya que se pueden ubicar diferentes receptores en el moco del intestino delgado y grueso utilizando las propiedades de adherencia específicas de una serie de bacterias beneficiosas y patógenas (Ramírez-Chavarin y col., 2013).

Cultivos iniciadores en productos cárnicos

Los cultivos iniciadores se han desarrollado en la industria de la carne para reducir los tiempos de fermentación, asegurando bajos contenidos de nitrato y nitrito residuales en el producto final y estandarizar las características organolépticas. Puede observarse que la mayoría de los cultivos iniciadores disponibles en el mercado son mezclas de una cepa de BAL y una cepa del género *estafilococos* y / o *micrococcos* que poseen la actividad nitrato reductasa (Hugas y Monfortl., 1997). Las BAL se agregan entonces como inóculo natural o como cultivos iniciadores para favorecer el proceso de fermentación en productos cárnicos ya que provocan cambios en el olor, el sabor y la textura, además de su acción conservante; cuando el valor de pH disminuye (5.9-4.6) por la producción de ácido láctico como resultado de la utilización de carbohidratos, el desarrollo del color ocurre bajo dichas condiciones ácidas, el óxido nítrico se produce a partir del nitrito y luego puede reaccionar con la mioglobina. Finalmente, la inhibición de bacterias patógenas y de descomposición es una consecuencia de la acumulación del ácido láctico, ácido acético, ácido fórmico, etanol, amonio, ácidos grasos, peróxido de hidrógeno, acetaldehído, antibióticos y bacteriocinas (Hugas y Monfort., 1997).

Se han utilizado las BAL como cultivos bioprotectores tanto para productos cárnicos cocidos como productos cárnicos fermentados secos, en los productos cárnicos secos el cultivo iniciador se vuelve dominante cambiando el ambiente para garantizar la calidad microbiológica y prevenir el crecimiento de microorganismos indeseables; en los productos cárnicos cocidos se necesita un procesamiento térmico para desarrollar textura y destruir las formas vegetativas para asegurar la vida útil adecuada, por lo cual se requiere el uso de BAL termotolerantes como cultivos iniciadores (Pérez-Chabela y col., 2008). Se ha estudiado el efecto de BAL termotolerantes en productos cárnicos cocidos inoculadas en forma de células libres, como cultivo bioconservador y encapsuladas en seco; los autores reportaron que las BAL mejoraron la textura de salchichas bajas en grasa que excretan exopolisacáridos y que la capacidad termotolerante de estas BAL podría permitir su inoculación en alimentos procesados por calor como salchichas cocidas, convirtiéndose en la flora dominante durante el almacenamiento en frío envasado al vacío, actuando como agentes biopreservantes (Pérez-Chabela y col., 2013a; Pérez-Chabela y col., 2013b).

Pediococcus pentosaceus

Los *pediococcus* poseen una morfología de tétradas y esférica, se dividen en dos planos para producir tétradas o pares. Son homofermentativos o heterofermentativos facultativos (*P. acidilactici* y *P. pentosaceus*), con la excepción de *L. dextrinicus* que produce ácido L (+) -láctico, todas las especies producen DL - lactato a partir de glucosa. Los *pediococos* de la cerveza y de origen vegetal se incluyeron inicialmente en una especie como *P. cerevisiae*, pero los estudios posteriores sobre aislamiento de éstas dos fuentes se mostraron diferentes entre sí y fueron asignados a *P. dumnosus* y *P. pentosaceus*, respectivamente. El

hábitat común de estos microorganismos son la cerveza, vino, sidra, ensilados, chucrut, vegetales, salchichas fermentadas, leche y productos lácteos, salsa de soja, salmueras encurtidas. (Stiles., y col., 1997).

Estudios del potencial probiótico de *Pediococcus pentosaceus* como cultivo iniciador y en carne

El desarrollo de BAL como cultivos iniciadores para alimentos funcionales es una tendencia en la tecnología de procesamiento de alimentos (Arief y col., 2015). Las BAL con propiedades probióticas también pueden utilizarse como cultivos iniciadores en productos cárnicos probióticos. Un cultivo iniciador con propiedades probióticas en productos cárnicos, además de afectar la textura, el sabor y la vida útil, debe de estar bien adaptado al entorno heterogéneo que se encuentra en ellos, debe ser fuerte competidor contra la microflora natural de la carne y crecer en un número que tenga efecto benéfico sobre la salud (Erkkilä y Petaja., 2000). Es importante determinar y caracterizar las propiedades probióticas de BAL como cultivos iniciadores de productos cárnicos ya que es de utilidad para formular productos cárnicos secos o cocidos en caso de que además cuenten con termotolerancia (Pérez-Chabela y col., 2013b).

Se ha determinado la supervivencia de *P. pentosaceus* aislado de cultivos comerciales iniciadores de carne en condiciones ácidas similares a las del tracto gastrointestinal e intestino delgado. Erkkilä y Petaja (2000) indicaron en sus resultados que 0.3% es una concentración crítica de sales biliares para seleccionar cepas tolerantes; *P. pentosaceus* sobrevive a pH 3 y pH 5 con 0.3% de sales biliares. En condiciones ácidas, así como en presencia de sales biliares, el número de *P. pentosaceus* disminuyó en aproximadamente 1 unidad logarítmica, lo que indica que sobrevivió hasta un 10%.

Ramirez-Chavarin y col., en 2013 reportaron cinco cepas de *P. pentosaceus* termotolerantes aisladas de productos cárnicos cocidos que mostraron todas un buen crecimiento después de 4 h de incubación a pH 4 y 5 y una cepa después de 3 h de incubación a pH 3; fueron intolerantes a las condiciones de pH 0.5-2, sin embargo los autores indicaron que existen sistemas como la microencapsulación que ayudan a mejorar la supervivencia de los probióticos cuando se exponen a condiciones ácidas, sales biliares y tratamientos térmicos. Tres de las cepas resistieron el jugo gástrico simulado durante 90 minutos, tiempo que es suficiente para alcanzar su sitio de acción en el intestino, también cuatro cepas crecieron en concentraciones biliares de hasta 2% y todas crecieron en ácido taurocólico. En general las cepas tuvieron un buen porcentaje de co-agregación con *E. coli*, y *Salmonella* lo que indicó que podrían funcionar para eliminar las bacterias patógenas del tracto gastrointestinal, además exhibieron una alta capacidad de autoagregación a las 24 h y cumplieron con el criterio de adherencia a células HEp-2 (derivada de células de cáncer de faringe humano); Este estudio indicó que la capacidad termotolerante inherente más la propiedad probiótica demostradas de *P. pentosaceus* lo perfilan como un cultivo

bioprotector viable que puede inocularse en productos cárnicos cocidos antes del procesamiento térmico, para garantizar su prevalencia como flora probiótica dominante durante y antes de la vida útil. También Vidhyasagar y Jeevaratnam en 2013 evaluaron seis cepas de *P. pentosaceus* para determinar las propiedades probióticas *in vitro*. Llegaron a la conclusión de que las cepas exhibían inhibición del crecimiento de patógenos intestinales Gram positivos y Gram negativos y podían usarse en alimentos funcionales como una cepa probiótica. Arief y col., en 2015 realizaron pruebas de acidez a dos cepas de *P. pentosaceus* aisladas de carne fresca indonesia, obtuvieron una supervivencia del 46% a pH 2.0, 75% con pH 2.5 y 84% a pH 3.2 con una población inicial de 10^9 - 10^{11} UFC mL⁻¹. Por su parte Chen y col. en 2017 reportaron que *P. pentosaceus* posee propiedades biológicas potencialmente superiores, especialmente mejorando el rendimiento del crecimiento, el equilibrio de la microbiota intestinal, la calidad de la carne y el microambiente en pollos, y disminuyendo el contenido de amoníaco en el medio. Finalmente Hernández-Alcántara y col., en 2018 reportaron propiedades probióticas deseables de cinco cepas de *P. pentosaceus* termotolerantes, aisladas de productos cárnicos cocidos, en condiciones de estrés gástrico, la viabilidad de las cepas disminuyó más de cinco veces, mientras que en la exposición al estrés del intestino delgado no afectó drásticamente la supervivencia de ninguna de las cepas que pudieron crecer en presencia de sales biliares al 0.3%, las cuales presentaron un perfil superficial hidrófilo, con mayor afinidad por el cloroformo que por el xileno. Las cepas mostraron altos niveles de autoagregación, así como co-agregación con patógenos bacterianos Gram-positivos y Gram-negativos y adherencia a células humanas Caco-2 de 2%-5%.

CONCLUSIONES

Los estudios revisados en este estudio indican que *Pediococcus pentosaceus* como probiótico ejerce efectos beneficiosos mediante una variedad de mecanismos complementarios, que incluyen la resistencia a la acidez, sales biliares y jugo gástrico, la capacidad de adhesión y la actividad antimicrobiana contra patógenos. Sin embargo, sigue existiendo poca información disponible sobre *Pediococcus pentosaceus* con efectos probióticos sobre el crecimiento, la calidad y el microambiente en la carne, en esta revisión solo se encontró un reporte de Chen y col. en 2017 que indica que *P. pentosaceus* posee capacidad como cultivo iniciador probiótico de mejorar la calidad de la carne para consumo humano. En general *Pediococcus pentosaceus* es un microorganismo interesante de estudio que posee características potenciales como cultivo bioprotector para los procesos de fabricación de cárnicos.

REFERENCIAS

ALVAREZ-SIEIRO P., M. MONTALBÁN-LÓPEZ, D. MU, O. KUIPERS (2016). Bacteriocins of lactic acid bacteria: extending the family. Applied microbiology and biotechnology 100: 2939-2951.

- ARIEF I.I., B.S.L. JENIE, M. ASTAWAN, K. FUJIYAMA, A.B. WITARTO. (2015). Identification and probiotic characteristics of lactic acid bacteria isolated from Indonesian local beef. *Asian Journal of Animal Science* 9: 25-36.
- BAO, Y., Y. ZHANG, Y. ZHANG, Y. LIU, S. WANG, S., X. DONG, Y. WANG, H. ZHANG (2010). Screening of potential probiotic properties of *Lactobacillus fermentum* isolated from traditional dairy products. *Food Control* 21: 695-701.
- BACTIBASE database. URL: <http://bactibase.hammamilab.org/#> . Fecha de acceso 10/2019.
- BOGAERT J.C., A.S. NAIDU (2000). Lactic acid. Capitulo 22 en *Natural Food Antimicrobial Systems*, A.S. Naidu (Editor). Boca Raton: CRC Press, pp: 613-636.
- CHEN F., L. ZHU, H. QIU (2017). Isolation and probiotic potential of *Lactobacillus salivarius* and *Pediococcus pentosaceus* in specific pathogen free chickens. *Brazilian Journal of Poultry Science* 19: 325-332.
- COTTER P.D., C. HILL. (2003). Surviving the acid test: Responses of gram-positive bacteria to low pH. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 67: 429-453.
- EHRMAN M.A., P. KURZAK, J. BAUER, R.F. VOGEL (2002). Characterization of lactobacilli towards their use as probiotic adjuncts in poultry. *Journal of Applied Microbiology* 92: 966-975.
- ERKKILÄ S., E. PETÄJÄ (2000). Screening of commercial meat starter cultures at low pH and in the presence of bile salts for potential probiotic use. *Meat Science* 55: 297-300.
- FAO & WHO. (2019). Discussion paper on harmonized probiotic guidelines for use in foods and dietary supplements. Dusseldorf, Germany. 24-29 November 2019.
- FAO & WHO. (2002). Joint FAO/WHO Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. London, Ontario, Canada. 30 April-1 May 2002.
- FULLER R. (1989). A review: probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology* 66: 365-378.
- GORJBACH S., L. NAHAS, P.I. LERNER (1967). Studies of intestinal microflora. I. Effects of diet, age, and periodic sampling on numbers of fecal microorganisms in man. *Gastroenterology* 53: 845-55.
- GUTIERREZ RAMÍREZ L.A., O.I. MONTOYA CAMPUZANO, O.S. RUIZ VILLADIEGO (2005). Evaluación del potencial bactericida de los extractos de bacterias ácido lácticas sobre el crecimiento in vitro de *E. coli*, *Salmonella* sp. y *Listeria monocytogenes*. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas* 36.
- HERNÁNDEZ-ALCÁNTARA A.M., C. WACHER, M.G. LLAMAS, P. LÓPEZ, M.L. PÉREZ-CHABELA (2018). Probiotic properties and stress response of thermotolerant lactic acid bacteria isolated from cooked meat products. *LWT-Food Science and Technology* 91: 249-257.
- HUGAS M., J.M. MONFORT (1997). Bacterial starter cultures for meat fermentation. *Food Chemistry* 59: 547-554.

- HOFMANN A. F., K.J. MYSELS (1992). Bile acid solubility and precipitation in vitro and in vivo: the role of conjugation, pH, and Ca²⁺ ions. *Journal of Lipid Research* 33: 617-626.
- KLAENHAMMER T.R. (1993). Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews* 12: 39-85.
- LEE Y.K., S. SALMINEN (1995). The coming of age of probiotics. *Trends in Food Science & Technology* 6: 241-245.
- LOPEZ-ARVIZU A., I. GARCÍA-CANO, M.L. PEREZ-CHABELA M.L., E. PONCE-ALQUICIRA (2019) Antimicrobial bacteriocins and peptidoglycan hydrolases: beneficial metabolites produced by lactic acid bacteria. Capítulo 7 en: *The Many Benefits of Lactic Acid Bacteria*. J.G. LeBlanc, A. Moreno (Editores). New York: Nova Science, pp. 125-162.
- LÓPEZ-CUELLAR M.R., A.I. RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, N. CHAVARRÍA-HERNANDEZ (2016) LAB bacteriocin applications in the last decade. *Biotechnology & Biotechnological Equipment* 30: 1039-1050.
- MOGENSEN G. (1995). Realities and trends in probiotic attributes of lactic acid bacteria and their market impact, en *Lactic acid bacteria-Lactic 97*. Caen: Presses Universitaires de Caen, pp. 175-185.
- MONROY M., T. CASTRO, F.J. FÉRNANDEZ, L. MAYORGA L., (2009). Bacteriocinas producidas por bacterias probióticas. *Contactos* 73: 63-72.
- PENNACCHIA C., E.E. VAUGHAN, F. VILLANI (2006). Potential probiotic *Lactobacillus* strains from fermented sausages: Further investigations on their probiotic properties. *Meat Science* 73: 90-101.
- PÉREZ-CHABELA M.L., A. TOTOSAUS, I. GUERRERO, I. (2008). Evaluation of thermotolerant capacity of lactic acid bacteria isolated from commercial sausages and the effects of their addition on the quality of cooked sausages. *Food Science and Technology-Campiñas* 28: 132-138.
- PÉREZ-CHABELA M.L., J. DÍAZ-VELA, C.V. REYES-MENÉNDEZ, A. TOTOSAUS (2013a). Improvement of moisture stability and textural properties of fat and salt reduced cooked sausages by inoculation of thermotolerant lactic acid bacteria. *International Journal of Food Properties* 16: 1789-1808.
- PÉREZ-CHABELA M.L., R. LARA-LABASTIDA, E.M. RODRIGUEZ-HUEZO, A. TOTOSAUS (2013b). Effect of spray drying encapsulation of thermotolerant lactic acid bacteria on meat batters properties. *Food and Bioprocess Technology* 6: 1505-1515.
- RAMIREZ-CHAVARIN M.L., C. WACHER, C. ESLAVA-CAMPOS, M.L. PEREZ-CHABELA (2013). Probiotic potential of thermotolerant lactic acid bacteria strains isolated from cooked meat products. *International Food Research Journal*, 20(2), 991.
- SALMINEN S., M. LAINE, A. VONWRIGHT, J. VUOPIO-VARKILA, T. KORHONEN, T. MATTILA-SANDHOLM, T. (1996). Development of selection criteria for probiotic strains to assess their

potential in functional foods: a Nordic and European approach. *Bioscience and Microflora* 15: 61-67.

STILES M.E., W.H. HOLZAPFEL (1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International Journal of Food Microbiology* 36: 1-29.

VÁSQUEZ S.M., H. SUÁREZ, S. ZAPATA (2009). Utilización de sustancias antimicrobianas producidas por bacterias ácido lácticas en la conservación de la carne. *Revista Chilena de Nutrición* 36: 64-71.

VIDHYASAGAR V., K. JEEVARATNAM (2013). Evaluation of *Pediococcus pentosaceus* strains isolated from Idly batter for probiotic properties in vitro. *Journal of Functional Foods* 5: 235-243.

YOUSEF A.E., J.B. LUCHANSKY, A.J. DEGNAN, M.P. DOYLE (1991). Behavior of *Listeria monocytogenes* in wiener exudates in the presence of *Pediococcus acidilactici* H or pediocin AcH during storage at 4 or 25°C. *Applied and Environmental Microbiology* 57: 1461-1467.