

REVIEW. BACTERIAS ACIDO LACTICAS: PAPEL FUNCIONAL EN LOS ALIMENTOS

REVIEW LACTIC ACID BACTERIA: FUNCTIONAL ROLE IN THE FOODS

BACTÉRIAS ÁCIDO LÁCTICAS: PAPEL FUNCIONAL NOS ALIMENTOS:

RICARDO ADOLFO PARRA HUERTAS ¹

PALABRAS CLAVE:

Bacterias ácido lácticas, cultivos estárter, fermentación, productos metabólicos, rutas metabólicas.

KEY WORDS:

Lactic acid bacteria, fermentation, metabolic products, pathways, starter.

PALAVRAS CHAVES:

Bacterias ácidas lacticas, pro-
ducotos metabolicos, nota meta-
bólica.

RESUMEN

Las bacterias ácido lácticas han sido importantes en los alimentos por siglos por su considerable contribución al valor de los productos. Debido a varias de sus propiedades metabólicas, las bacterias ácido lácticas desempeñan un papel importante en la industria alimentaria, por su contribución significativa al sabor, olor, textura, características sensoriales, propiedades terapéuticas y valor nutricional de los productos alimentarios Este grupo está compuesto de un número de géneros incluyendo Lactococcus, Lactobacillus, Enterococcus, Streptococcus, Leuconostoc y Pediococcus. Algunos de los metabolitos producidos por las este tipo de bacterias son ácidos orgánicos, sustancias preservantes, polisacáridos, vitaminas, endulzantes, olores y sabores entre otros. Esta revisión se enfoca en estudiar la importancia de las bacterias ácido lácticas en los alimentos.

ABSTRACT

Lactic acid bacteria have been important in food for centuries for their significant contribution to product value. Because several of its metabolic properties, lactic acid bacteria play an important role in the food industry for his significant contribution to the flavor, aroma, texture, sensory characteristics, therapeutic properties and nutritional value of food products. This group is composed of a number of genera, including Lactococcus, Lactobacillus, Enterococcus, Streptococcus, Leuconostoc and Pediococcus, among others. Some of the metabolites produced by these bacteria are organic acids, preservatives substances, polysacchari-

Recibido para evaluación: 22 de Enero de 2010, Aprobado para publicación: Junio 16 de 2010

¹ Magister en Ciencia de los Alimentos. Profesor Facultad de Ciencias Básicas. Grupo de Investigación en Química y Tecnología de los Alimentos. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia.

Correspondencia: rparrahuertas@hotmail.comstarter

des, vitamins, sweeteners, aromas and flavors, among others. This review focuses on studying the importance of lactic acid bacteria in food.

RESUMO

As bactérias ácido lácticas têm sido importantes nos alimentos por séculos pela sua considerável contribuição ao valor dos produtos. Devido a várias das suas propriedades metabólicas, as bactérias ácido lácticas desempenham um papel importante na indústria alimentar, pela sua contribuição significativa ao sabor, cheiro, textura, características sensoriais, propriedades terapêuticas e valor nutricional dos produtos alimentar. Este grupo está constituído de um número de gêneros incluindo *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Etreptococcus*, *Leuconostoc* e *Pediococcus*. Alguns dos metabolitos produzidos por este tipo de bactérias são ácidos orgânicos, substâncias preservadoras, poli-sacáridos, vitaminas, adoçantes, cheiros e sabores entre outros. Esta revisão se enfoca em estudar a importância das bactérias ácido lácticas nos alimentos.

INTRODUCCIÓN

Historia. Son ampliamente distribuidas en diferentes ecosistemas, además de generarse a gran escala procesos para la producción comercial de alimentos fermentados, bebidas alcohólicas, ensilados, levaduras para la producción de cerveza, vinos y bacterias ácido lácticas (BAL) para la utilización en vegetales, fermentaciones cárnicas [1], queso, mantequilla, yogurt, salchichas, ensilajes, olivos, uvas y cereales como pan y cerveza preservando y proporcionando propiedades sensoriales y nutricionales a los productos alimenticios [2, 3, 4].

Las BAL desempeñan un papel importante en los procesos de fermentación; ellas son muy utilizadas en la industria alimentaria, no solamente por su habilidad por acidificar y por lo tanto preservar alimentos de las esporas, sino también su implicación en la textura, sabor, olor y desarrollo de aroma de alimentos fermentados [5].

El conocimiento de cultivos lácticos se originó en el siglo XVIII, cuando agricultores de África, Asia y Europa observaron el comportamiento de la leche cruda en los meses cálidos. La leche coagulaba y bajo estas condiciones presentaba un sabor diferente, en ocasiones agradable, entonces los campesinos fueron seleccionando las de mejor sabor para inocular la leche al día siguiente [6]. Las BAL vivas pueden estar contenidas en un grupo de microorganismos llamados cultivos lácticos o iniciadores [7, 8], se emplean en la industria láctea para la elaboración de leches fermentadas, quesos, mantequilla [9] y otros productos que

para su obtención requieren ser fermentadas [7]. Se distinguen tres clases de cultivos: el cultivo inicial, el cultivo madre, y el cultivo usual. Los cultivos estarter son puros, a partir de estos, se prepara el cultivo madre, luego del cultivo madre se desarrolla el cultivo usual para ser empleado directamente en procesos fermentativos [10].

Son un grupo de bacterias relacionadas que producen ácido láctico como el principal metabolito [11] o único producto de fermentación [12]; son microorganismos nutricionalmente exigentes los cuales son capaces de hidrolizar péptidos de la leche [13, 14]. La concentración de aminoácidos libres en leche son muy limitados, así el crecimiento sostenido de BAL depende de la producción de proteinasas peptidasas y sistema de transporte de aminoácidos y péptidos específicos [14]. Además de producir el ácido láctico, las bacterias acidificantes, llamadas también bacterias iniciadoras, contribuyen al sabor, aroma, textura y el valor nutricional de alimentos fermentados a través de la producción de exopolisacáridos (EPS) y modificación proteínas [2], lo anterior debido a su actividad metabólica sobre proteínas, azúcares y lípidos, contribuyendo a la digestibilidad de alimentos y preservación del producto final [14]. El objetivo es realizar una revisión de las bacterias ácido lácticas y su importancia en la industria alimenticia.

TAXONOMÍA Y CARACTERÍSTICAS

La clasificación de BAL fue iniciada en 1919 por Orla-

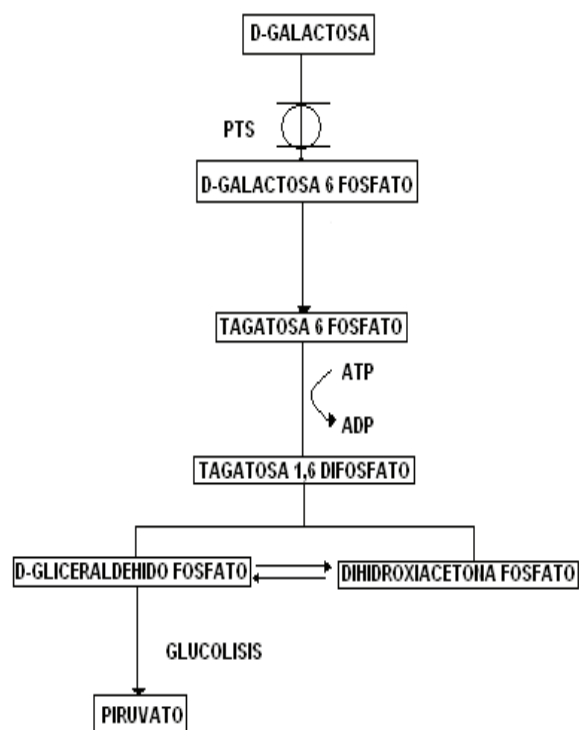
Jensen, comprende un diverso grupo de organismos Gram-positivos, formadores de no esporas, no motilidad y forma de cocos y carencia de catalasa [4]. Son cocos y bacilos de longitud variable y de un grosor de 0.5 -0.8 μm . Se trata de un grupo de bacterias fisiológicamente uniforme, de pared Gram-positiva [15], son anaerobias facultativas, catalasa negativa, y no formadoras de esporas [12, 16]. Carecen de actividad respiratoria porque les falta una enzima (citocromo catalasa), contiene un grupo hemo, que les permita poner en marcha la cadena respiratoria con el oxígeno como aceptor de electrones. A pesar de su metabolismo anaerobio, son anaerobios tolerantes y en los medios de cultivos sólidos forman colonias en presencia de aire [15]. Diferentes factores afectan el crecimiento de BAL en un medio de fermentación. Además de los requerimientos nutricionales, la temperatura es uno de los factores más importantes que influyen en el crecimiento de las BAL. Existe una temperatura óptima a la cual la velocidad de crecimiento es más alta y depende de las características del microorganismo utilizado, como también de las condiciones ambientales [17]; la mayoría de las especies necesitan aminoácidos y vitaminas del grupo B (lactoflavina, tiamina, biotina, ácido nicotínico, ácido pantoténico, ácido fólico) y varios aminoácidos [11,15]. Son quimoorganotróficos y solamente crecen en medios complejos. Carbohidratos fermentables y alcoholes pueden ser empleados como fuentes de energía para formar principalmente ácido láctico, a través de la degradación de hexosas a lactato (homofermentativas) y productos adicionales como acetato, etanol, CO_2 , formato o succinato (heterofermentativas) [4].

FUNCIONES

Las funciones en la tecnología de productos alimenticios de las BAL son: formación de sabor ácido, inhibición de organismos patógenos, gelificación de la leche, reducción del contenido de lactosa, formación de aroma, producción de gas requerida para la formación de "ojos" en los quesos, proteólisis requerida en la maduración de los quesos [18], también han sido muy utilizadas como probióticos [19,20]. (Figura 1)

BAL producen pequeñas cantidades de acetaldehído y diacetilo por la fermentación de citratos, otorgando sabor y aroma agradable. Además producen dióxido de

Figura 1. Ruta metabólica de la galactosa [17].



carbono, que van a formar los ojos de algunos quesos y el carácter espumoso de algunas leches fermentadas [9].

La actividad lipolítica y proteolítica tiene influencia en la formación de compuestos de sabor y aroma típicos de variedades de quesos madurados, como son los ácidos grasos libres y transformaciones enzimáticas de algunos aminoácidos produciendo amoníaco, ácidos orgánicos (ácido acético, ácido propiónico, ácido isobutírico) y dióxido de carbono [21, 9].

La primera y principal función de las BAL es la formación de ácidos orgánicos, principalmente ácido láctico [8] a una velocidad conveniente para asegurar una fermentación consistente y exitosa [22]. El ácido láctico puede ser obtenido a través de la fermentación de la lactosa, que da un sabor ácido fresco en leches fermentadas, mejora cuerpo y textura en los quesos e inhibe, en parte, el desarrollo de flora contaminante y patógena [23, 7]. Además, aseguran la calidad y uniformidad del producto final [7] y en varios casos al valor nutricional de productos alimenticios [23]. Poseen actividades proteolíticas y lipolíticas, especialmente durante la maduración de los quesos, producción de otros componentes (alcohol) en la elaboración de kumis [1].

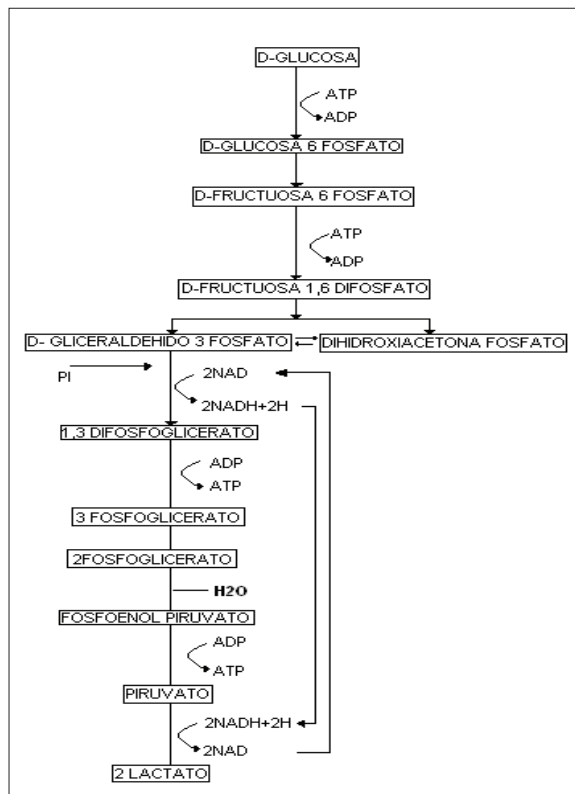
CLASIFICACIÓN

Las BAL pertenecen al phylum Firmicutes que comprenden alrededor de 20 géneros: *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *enterococcus*, *Oenococcus*, *tetragenococcus*, *Vagococcus* y *Weisella* son los principales miembros de las BAL, siendo *Lactobacillus* es el más grande de estos géneros [8, 11, 16, 22].

El tipo y característica de los organismos iniciadores que son utilizados en la producción de leches fermentadas, son los dos más importantes factores que determinan la calidad del producto final. El criterio esencial para la selección de iniciadores incluye acidificación, aroma, sabor, estabilidad y textura [24]. Estos se pueden clasificar de varias maneras, dependiendo de su forma, temperatura de crecimiento, funciones etc [25].

Según la fermentación de la lactosa las BAL se clasifican en homofermentativas (produce sólo ácido láctico) y heterofermentativas (producen ácido láctico y otras sustancias) y según la temperatura de crecimiento en mesófilos y termófilos [7].

Figura 2. Fermentación homoláctica [5].



Homofermentativas.

El grupo homofermentativo compuesto de *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus* y *Streptococcus*, utilizan la ruta Embden-Meyerhoff-Parnas al convertir 1 mol de glucosa en dos moles de ácido láctico [1], además que se produce más del 85% de ácido láctico a partir de glucosa. En contraste, las bacterias heterofermentativas producen cantidades equimolares de lactato, CO₂ y etanol a partir de glucosa usando la hexosa monofosfato o la vía de las pentosas, y así solamente generan la mitad de la energía del grupo homofermentativa [1].

En la figura 2 se observa que el ácido láctico es el principal producto de esta fermentación. Las bacterias pertenecientes a este grupo poseen las enzimas aldolasa y hexosa isomerasa, pero carecen de la fosfoctolasa. Dentro de este grupo se tiene: Lactobacillos de bastones largos, aislados o en cadenas cortas, termófilos, acidificantes muy energéticos y de actividad caseolítica notable. *Streptococcus*, de formas esféricas en cadenas, acidificación rápida y poca actividad caseolítica [18].

Heterofermentativas.

Producen solamente 50% de ácido láctico. Estas fermentan 1 mol de glucosa para formar 1 mol de ácido láctico, 1 mol de etanol y 1 mol de CO₂. 1 mol de ATP es generada por mol de glucosa [11, 26]. Este grupo está compuesto de un número de géneros incluyendo: *Lactococcus*, *Lactobacillos*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* y *Pediococcus*. Este grupo de bacterias contiene la enzima fosfoctolasa, pero carece de la aldolasa y hexosa isomerasa; así que, en lugar de seguir la vía (EMP), utilizan las vías de la hexosa monofosfato o la de la pentosa [1].

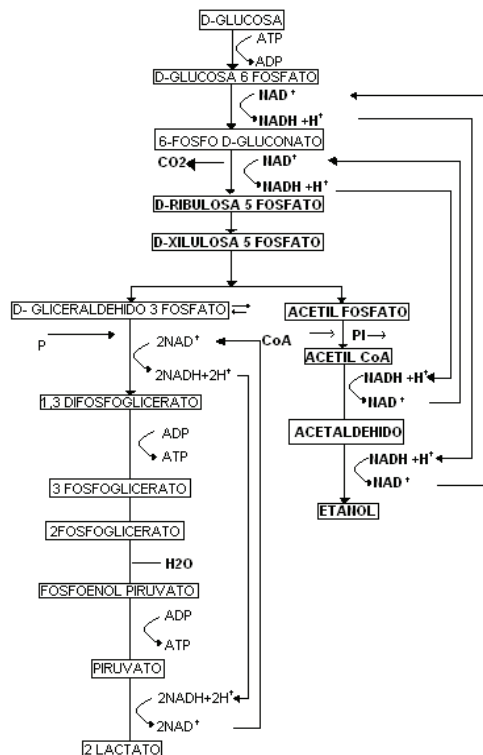
Las especies heterolácticas obligadas utilizan solamente la ruta dependiente fosfoctolasa para metabolizar azúcares, y además de ácido láctico, ellas producen cantidades significantes de ácido acético y/o etanol con la generación de dióxido de carbono; la D-galactosa puede ser metabolizada a través de la ruta tagatosa 6-fosfato o ruta Leloir, (véase figura 1) [1]. Estas especies fermentativas metabolizan hexosas a través de la ruta glicolítica Embden-Meyerhoff, pero pentosas y algunas otras sustancias son metabolizadas vía fosfoctolasa para producir ácido láctico y otros productos (típicamente ácido acético y etanol) (véase figura

3). Miembros de las BAL pueden ser subdivididas en dos distintos grupos basados en su metabolismo de carbohidratos [1].

En la fermentación heteroláctica los *Lactobacillus* están formados por: *plantarum*, *ramnosus*, *coryneformis*, *curvatus*, *casei*, *paracasei*, *brevis*, *buchneri*, *fermentun*, *kéfir*, *reuteri*, *leuconostc*. Homoláctica *Lactobacillus acidophilus*, *helveticus*, *delbrueckii subsp delbrueckii*, *debrueckii subsp lactis*, *delbrueckii subsp bulgaricus*, *lactis*, *thermophilus* [9].

Las bacterias lácticas homofermentativas como no poseen piruvato Descarboxilasa, transfieren el hidrógeno formado por acción de la fosfotriosa-deshidrogenasa al ácido pirúvico con ayuda de la nicotinamida-adenina dinucleotido (NAD), y lo transforma en ácido láctico. Las especies heterofermentativas metabolizan hexosas a través de la ruta glicolítica de Embden-Meyerhoff. Estas especies usan solamente la fosfoctolasa dependiendo de la vía para el metabolismo del azúcar, y además de ácido láctico, ellas producen cantidades significantes de ácido acético o etanol con la generación de dióxido de carbono [16].

Figura 3. Fermentación heteroláctica [5].



Las BAL iniciadoras producen enzimas intracelulares (peptidasas, lipasas y enzimas de catabolismo de aminoácidos), las cuales desempeñan un papel importante en el desarrollo del sabor de quesos durante la maduración. Después del rompimiento inicial de caseínas por la renina, proteasas endógenas de la leche y proteasas bacteriales de la pared celular, las peptidasas son capaces de degradar los péptidos resultantes en aminoácidos libres. Estos pueden ser subsecuentemente catabolizados a componentes de aroma volátiles por varias rutas enzimáticas. También, esterasas y lipasas catalizan hidrólisis de triglicéridos de la grasa de leche en ácidos grasos libres que son mas adelante convertidos a componentes aromáticos. Ellas también pueden sintetizar ésteres a partir de alcoholes y glicéridos [27].

Las BAL también se clasifican según la temperatura ideal de crecimiento en mesófilas y termófilas.

Mesófilas: Temperatura ideal de incubación: 20- 25°C, volumen de cultivo líquido 1-2%, tiempo de incubación: 18-20 horas, acidez final 0.8% de ácido láctico. Especies: *Lactococcus lactis subsp lactis*, *Lactococcus lactis subsp cremoris*, *Lactococcus lactis*, *biovariedad diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides subsp cremoris*. Utilización: kumis, quesos semi-madurados [9].

Termófilas: Temperatura ideal de incubación: 40-45°C, volumen de cultivo líquido 2-3 %, tiempo de incubación: 2-4 horas, acidez final 0.9% de ácido láctico. Especies: *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus salivarius subsp thermophilus* [9].

Utilizaciones: Yogurt, y quesos madurados [9]. Algunas de las pruebas para la selección de las bacterias lácticas para cultivos iniciadores son fermentación de la leche y producción de cultivos (véase tabla 1.)

Metabolitos

Las BAL producen una serie de sustancias llamadas metabolitos que pueden cumplir funciones en los alimentos entre las que se destacan:

Producción de ácido propiónico: esta fermentación la efectúan bacterias heterofermentativas utilizadas en quesería (Emmental, Suizo, Gruyere, etc.) donde el

Tabla 1. Pruebas para la selección de BAL para cultivos iniciadores [28].

Objeto	Pruebas que se realizan
Fermentación de la leche	Efecto sobre el aroma/textura Velocidad de acidificación (a diferentes temperaturas) Compatibilidad con otras cepas Resistencia a temperaturas de cocción Actividad proteolítica Halo -tolerancia Estabilidad de sus características
Producción de cultivos	Resistencia a la aglutinación Rendimiento en la fermentación Mantenimiento de la viabilidad/actividad durante el proceso de fabricación Estabilidad en forma liofilizada/congelada Actividad en forma de cultivos para inoculación directa

ácido láctico es transformado en ácido propiónico y acético con desprendimiento de CO₂ el cual forma los ojos en los quesos [22].

Fermentación de ácido cítrico: esta fermentación la efectúan bacterias heterofermentativas, utilizadas en mantequillas y quesos, ya que transforman el ácido cítrico en productos aromatizantes como la acetoina y el diacetilo (*Leuconostoc citrovorum*, *Streptococcus diacetylactis*) [18]. Estos compuestos, así como imparten aroma y sabor a los productos lácteos también tienen un efecto antimicrobiano. El acetaldehído puede inhibir la división celular en *Escherichia coli*, y diacetilo inhibe levaduras, bacterias Gram-negativas y Gram-positivas [22].

Ácido láctico

Este ácido ha tenido a lo largo de la historia utilidades para fermentación y preservación de comestibles. Fue primero descubierto en leche cortada por Scheele en 1780, quien inicialmente lo consideró a este como un componente de la leche. En 1789, Lavoisier llamó a este como un componente de la leche "ácido láctico". En 1857, Pasteur descubrió que no era un componente de la leche, pero sí un metabolito de la fermentación generado por ciertos microorganismos. Es clasificado como GRAS (generalmente reconocido como seguro) para su empleo como aditivo alimenticio por la FDA (Administración

de Drogas y Alimentos) [29, 4]. Este ácido es uno de los más importantes producidos por las BAL [22]. Dentro de los microorganismos productores pueden citarse *Lactobacillos*, *streptococcus*, *tetragenococcus* y *Bifibobacterium*, siendo el *Lactobacillus delbrueckii* el microorganismo más utilizado [30].

Este es el primer ácido orgánico funcionalmente versátil producido biotecnológicamente teniendo un amplio rango de aplicaciones. Este es un producto de procesos de fermentación natural que ocurre en la mantequilla, queso, cerveza, leches cortadas y algunos otros alimentos fermentados. Este es utilizado como acidulante/agente buffer de pH o inhibidor de esporas de bacterias en una amplia variedad de alimentos procesados, como dulces, pan y productos de panadería, bebidas no alcohólicas, sopas, sorbetes, productos lácteos, mermeladas, gelatinas y mayonesas [11]. En ciertos alimentos no es posible agregar ácido láctico en grandes cantidades por su olor y sabor fuerte. Es así que puede ser reemplazado por cierta cantidad de ácido acético por ácido láctico, el cual también tiene una actividad antimicrobiana [31].

Sustancias antimicrobianas: Las BAL producen varios componentes antimicrobianos los cuales inhiben el crecimiento de organismos esporádicos relevantes. Recientemente, está demostrado que la adición de levaduras fermentadas por *Lactobacillus plantarum*, inhibe el crecimiento de *Fusarium* [32]. La inhibición de *B. cereus* por BAL ha sido intensivamente estudiada en varios alimentos fermentados como productos lácteos, productos basados en cereales y productos de semilla de soya. Tabla 2.

Peróxido de hidrógeno: Es metabólicamente producido por el grupo lactococcus a través de la acción de NADH oxidasa la cual cataliza la oxidación de NADH por oxígeno molecular [28]. El sistema lactoperoxidasa es un sistema antimicrobiano natural que se encuentra en la leche, ha sido exitosamente utilizado para extender la vida útil de la leche y queso cottage inhibiendo patógenos en leche y productos lácteos procesados, inhibe microorganismos como *Pseudomona* y *Staphylococcus aureus* y *ssp* [22].

Bacteriocinas La utilización de las BAL y/o sus metabolitos para la preservación de alimentos es generalmente aceptado por consumidores como algo "natural" y "promotores de salud" [33]. Las BAL produce un conjunto

Tabla 2. Bacteriocinas a partir de bacterias ácido lácticas [22, 19].

Bacteriocinas	Bacteria ácido láctica
Lactococcina	Lactococcus lactis
Lactacina	Lactobacillus johnsonii
Mesenterocina	Leuconostoc mesenteroides
Curvaticina	Lactobacillus curvatus
Sakacina	Lactobacillus sake
Pediocina	Pediococcus acidilactici
Piscicolina	Carnobacterium piscicola
Nisina	Lactococcus lactis
Lacticina	Lactococcus lactis
Lactocina	Lactobacillus sake
Carnocina	Carnobacterium piscicola
Variacina	Micrococcus varians
Leucocina	Leuconostoc gelidum

de sustancias antimicrobianas (como ácidos orgánicos, diacetilo, acetoina, peróxido de hidrógeno, reuterina, reuterociclina, péptidos antifúngicos y bacteriocinas) [34, 4] que han sido utilizadas como biopreservadoras en productos alimenticios, incluyendo productos lácteos como quesos frescos y madurados con el objeto de evitar la proliferación de patógenos como *Listeria monocytogenes* y *Clostridium* y *Staphylococcus aureus* [35]. Las bacteriocinas son componentes proteínicos antibacterianos que son producidos por BAL comúnmente presentes en alimentos [36]. Son péptidos bioactivos con efecto bactericida o bacteriostático [22]. Han sido objeto de muchas investigaciones en recientes años por su novedoso uso potencial como preservante natural en alimentos y propósitos médicos [37]. Las bacteriocinas típicamente tienen un estrecho espectro antibacterial. Así, algunas bacteriocinas de BAL pueden inhibir el crecimiento de Gram-positivas patogénicas y bacterias dañinas como también levaduras y especies Gram-negativas [23]. Aplicaciones alimenticias de bacteriocinas son una alternativa para satisfacer el crecimiento de consumidores por la demanda de alimentos que son higiénicamente seguros [38].

Las producciones de bacteriocinas son muy exigentes debido a la necesidad para enriquecer el medio de crecimiento conteniendo nutrientes como carbohidratos, ácidos nucleicos, minerales y principalmente, aminoácidos, proteínas o hidrolizados de proteínas. Por ejemplo, los medios de laboratorio estándar (MRS, TGE, APT) resuelven el problema de fuentes de proteína, incorporando productos como bactopectona, triptona, extracto de carne o extracto de levadura en las formulaciones las cuales alcanzan costos altos. Entre las

moléculas producidas por estos microorganismos los cuales presentan actividad antimicrobiana están ácido láctico y ácido acético, etanol, diacetilo, 2-3-butanodiol y bacteriocinas que se observan en la tabla 2 [39, 40].

Exopolisacáridos (EPS) son polisacáridos de cadena larga consistentes de ramificaciones de unidades repitentes de azúcares. Estas unidades de azúcar son principalmente, glucosa, galactosa y ramnosa en diferentes proporciones [24]. Como las BAL son GRAS, son candidatas para la producción segura de EPS funcionales [41]. Las BAL son caracterizadas por su conversión de una gran proporción de su fuente de carbono, azúcares fermentables, a ácido láctico; las BAL son capaces de desviar una pequeña proporción de azúcares fermentables hacia la biosíntesis de EPS [42], dependiendo también de las condiciones de cultivo y medio de composición [43].

Los polisacáridos pueden ser divididos en dos grupos: homopolisacáridos compuestos por monosacáridos como el dextrano y heteropolisacáridos compuestos de diferentes azúcares como glucosa, galactosa, ramnosa, manosa, N-acetilglucosamina, N-acetilgalactosamina y ácido glucónico [44]. El factor que afecta el comportamiento reológico del coágulo de caseína es la producción de EPS por los cultivos iniciadores. Algunos cultivos de *S. thermophilus* y *Lactobacillus delbruekii* subsp. *bulgaricus* son capaces de producir polisacáridos de alto peso molecular con diferentes estructuras [45].

Los exopolisacáridos (EPS) desempeñan un papel industrial en la producción de derivados lácteos fermentados, en particular en la producción de yogurt, queso, crema fermentada entre otras. Su aporte contribuye a la textura, reología, sabor, percepción sensorial y estabilidad final del producto [46,47]. Además, los EPS han sido utilizados extensivamente como geles, emulsificantes y suspensiones de estabilizantes [48]; otro beneficio fisiológico incluye la colonización gastrointestinal de bacterias probióticas incrementando la residencia de los EPS en el tracto gastrointestinal [49]. Además, los EPS producidos por BAL han sido pretendidos al tener efectos anti-tumor, anti- úlcera, efectos inmuno-estimulatorios y disminución de niveles de colesterol en la sangre [48].

Otros: La ingestión de leches fermentadas ácidas por *Lactobacillus helveticus* que contienen ACE (an-

giotensina I-convertidora de enzima), parece ser que disminuye la presión arterial ligeramente en personas. Esto se logra utilizando BAL a través de la proteólisis de la leche produciéndose péptidos bioactivos [50]. La retención de componentes de aromas reteniendo esteres por bacterias ácido lácticas utilizando *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* diacetylactis ha sido también investigada [27].

Las BAL desempeñan un significativo papel en la producción de vinos, son las responsables de llevar a cabo la fermentación maloláctica, la cual es una reacción secundaria importante que ocurre en algunos vinos después de las fermentaciones alcohólicas por levaduras [51]. Algunas especies de BAL presentan actividad enzimática aminoácido-descarboxilasa y puede contribuir a la formación de aminas biogénicas en alimentos fermentados, incluyendo vino. Estas aminas biogénicas, en particular histamina y tiramina, a altas concentraciones han sido reportadas que afectan la salud de consumidores susceptibles [52].

Formación de sabores y olores por BAL.

La mayoría de las BAL tiene solamente una habilidad limitada para sintetizar aminoácidos de nuevo. Para este crecimiento en leche, las BAL son completamente dependientes del sistema proteolítico al degradar parcialmente caseínas y generar aminoácidos libres y, especialmente, péptidos libres. Estos péptidos son además hidrolizados a aminoácidos por la acción combinada de peptidasas. Durante este proceso en el queso, un número de péptidos amargos son formados como intermedios y degradados de nuevo, con un directo impacto en el sabor y olor del queso. Un amplio rango de componentes de sabor y olor pueden ser producidos como resultado de la conversión de aminoácidos como metionina, leucina y fenilalanina [2].

Producción de endulzantes bajos en calorías Una aplicación de de las BAL es la conversión de lactosa azúcar de la leche en alcoholes azúcares (polioles) como manitol y sorbitol. El manitol es a menudo formado por BAL que han tenido o no lactato deshidrogenasa (LDH), especialmente bajo condiciones anaeróbicas. En lugar de piruvato, otros intermedios como las hexosas en la glucólisis, sirven como aceptores de electrones. En esta ruta, manitol y sorbitol pueden ser obtenidos a través de la reducción de fructosa 1-fosfato [2].

Producción de vitaminas

Las vitaminas B, folato, riboflavina y vitamina B12 pueden ser producidas por diferentes bacterias de grado alimentario. Algunas BAL y también bacterias ácido propiónicas) [2].

Bebidas lácteas

El mercado de bebidas representa una industria grande y en crecimiento. Recientemente, ha sido muy difundido el interés en el consumo de bebidas lácteas basadas en lactosuero constituyendo un segmento emergente de productos lácteos no convencionales [14]; microorganismos como *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* han sido estudiadas recientemente por su habilidad de degradar proteínas de lactosuero en productos lácteos [14, 53].

La utilización de lactosuero en polvo o líquido en bebidas lácteas es muy común [54]. La fermentación de lactosuero por BAL podría disminuir el contenido alto de lactosa contenido en el lactosuero, produciendo principalmente ácido láctico y otros metabolitos como aromas contribuyendo al sabor, olor y textura e incrementando solubilidad de carbohidratos y dulzor del producto final [14].

Leches fermentadas y su relación con BAL han demostrado beneficios saludables como productos funcionales; estos productos están caracterizados por ser refrescantes teniendo una textura suave y baja viscosidad. El consumo de bebidas lácteas se ha incrementado en varios países [55].

El yogurt es un producto fermentado elaborado a partir de leche en el cual toman acciones las BAL transformando los azúcares en ácido láctico y otros compuestos dando lugar a un producto con sabor, aroma y textura característicos [49]. En la fermentación láctica de la leche para producir yogurt, pueden intervenir el *Streptococcus thermophilus* y el *Lactobacillus delbrueckii* y algunos microorganismos probióticos como *Bifidobacterium lactis* y *Lactobacillus acidophilus* entre otros [56, 57]. Estos microorganismos pueden ser denominados probióticos los cuales se encuentran disponibles en alimentos fermentados como el yogurt [58]. BAL al mezclarse con otras especies como las propionibacterias: *Pro-*

propionibacterium jensenii y *Propionibacterium thoenii* (*jensenii*) no han tenido efecto negativo sobre *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* en yogurt [59].

Ensilados

El ensilaje es un método de preservación para cultivos o cosechas húmedos, que están basados en una fermentación natural ácido láctica convirtiendo carbohidratos solubles en agua en ácidos orgánicos, principalmente ácido láctico. Como un resultado, el pH disminuye y el forraje es preservado. Inoculantes conteniendo principalmente BAL son empleadas como aditivos de ensilaje para mejorar eficiencia en la preservación. Entre las BAL, las más frecuentemente utilizada son especies homofermentativas como *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecium* y *pediococcus*. Estas son utilizadas por su eficiente utilización de carbohidratos hidrosolubles de las cosechas, la producción intensiva de ácido láctico y descenso rápido en pH. Otras BAL son también incluidas como *Lactobacillus buchneri*, una BAL heterofermentativa la cual produce altas concentraciones de ácido acético en el ensilaje que inhiben hongos y así preservan ensilajes susceptibles de esporas y exposiciones al aire. Una inoculación de $10^5 - 10^6$ células viables por gramo de cosecha es a menudo suficiente para la inoculación de BAL en el ensilaje [60].

Probióticos.

Las BAL fueron referidas como probióticos en la década de los 60, sin embargo en la década de los 70 la palabra probiótico tomó una terminología diferente al describir extractos de tejidos que estimulaban crecimiento microbiano. A los finales de los 70 se redefinió como organismos y sustancias que contribuyen al balance microbiano intestinal [4]. La más reciente y acertada descripción de probióticos se hizo a finales de los 80 redefiniéndose como suplementos dietarios microbianos, viables, seleccionados que cuando son introducidos en suficientes cantidades, afectan benéficamente el organismo humano a través de sus efectos en el tracto intestinal [61,62]. También la FAO ha adoptado la definición de probióticos como "microorganismos vivos los cuales cuando son administrados en cantidades adecuadas confieren un beneficio saldable en el huésped [62]. BAL son utilizadas en alimentos para proporcionar una amplia variedad de beneficios

saludables. Los efectos fisiológicos relacionados con bacterias probióticas incluye reducción de pH en el intestino, producción de algunas enzimas digestivas y vitaminas, producción de sustancias antibacteriales como por ejemplo ácidos orgánicos, bacteriocinas, peróxido de hidrógeno, diacetilo, acetaldehído, sistema lactoperoxidasa, lactonas y otras sustancias sin definir, reconstrucción y construcción de microflora intestinal normal después de desordenes causados por diarrea, terapia de antibióticos y radioterapia, reducción de colesterol en la sangre, supresión de infecciones bacteriales, eliminación de carcinogénesis, mejoramiento de la absorción de calcio [62]. Además del efecto benéfico en la salud del huésped, un cultivo debe ser ingerido en cantidades suficientes. La concentración sugerida de BAL está en el rango $10^6 - 10^7$ ufc/g de producto [63, 64].

Conway en 1996 enumeró los siguientes microorganismos como especies utilizadas en la preparación de probióticos: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus casei* subsp. *ramnosus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*. Cepas de *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus paracasei* y *Bifidobacterium* aislados de tracto intestinal humano o animal también han sido probióticos muy estudiados [65, 66].

Alimentos fermentados, como yogurt y bebidas fermentadas, pueden ser vehículos importantes de enormes cantidades de bacterias vivas, con utilización biotecnológica como cultivos iniciadores dentro del cuerpo humano [63, 64].

Los microorganismos comúnmente empleados como probióticos se encuentran disponibles comercialmente a través de laboratorios o industrias alimenticias a nivel internacional así como en colecciones de cultivos. Algunos ejemplos de estos microorganismos son los siguientes: *Lactobacillus acidophilus* NCFM (Rhone-Poulenc., Estados Unidos), *Lactobacillus reuteri* 106 (Biogaia, Estados Unidos), *Bifidobacterium longum* bb536 (Morinaga Milk Ind. Japón), *Lactobacillus*

plantarum 299 (ProViva, Finlandia), *Lactobacillus casei* YIT9018, Shirota, (Yakult, Japón) y *Lactobacillus johnsonii* LJ-1 (Nestlé Suiza). *Lactobacillus casei* CRL 431 y *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 (CEREALA, Argentina), *Lactobacillus reuteri* CRL 1098 (Patente en trámite número p040103130, CEREALA, Argentina) entre otros [67].

Tendencias futuras

Las bacterias ácido lácticas desde la antigüedad y hasta el tiempo presente, han representado una gran utilidad biotecnológica en el área de los alimentos. La biopreservación de alimentos utilizando bacteriocinas producidas por bacterias ácido lácticas, tendrán un éxito mayor en la aplicación de alimentos, tal es el caso de la carne [68], y también en el control de microorganismos patógenos como *Salmonella* y *E. coli* [69]. En un futuro se espera ampliar la acción de BAL sobre otras especies perjudiciales para la humanidad. La tecnología de elaboración de bebidas no tradicionales con inoculación de BAL se espera lograr con gran auge, por ejemplo actualmente bebidas a partir de lactosuero obteniendo resultados aceptables al consumidor se están desarrollando [70]. Un campo importante que se desarrollará será la utilización de BAL silvestres, por ejemplo actualmente los procesos panificación han ido evolucionando empleando BAL, sin embargo es necesario seguir investigando para ampliar el campo de acción de estas bacterias silvestres [71].

En el futuro los alimentos funcionales con bacterias ácido lácticas tendrán un mayor consumo y existirán variedad de productos disponibles en el mercado. Se espera que haya descubrimiento de nuevas bacterias y por ende nuevos productos biotecnológicos con nuevos hallazgos benéficos nutricionales y terapéuticos que estén disponibles al consumidor desde la infancia hasta la tercera edad.

CONCLUSIONES

Las bacterias ácido lácticas son Gram-positivas, formadoras de no esporas, no motilidad, forma de cocos y carencia de catalasa. Son cocos y bacilos de longitud variable y de un grosor de 0.5 -0.8 μm , son anaerobias facultativas y catalasa negativa. Se pueden clasificar en heterofermentativas y homofermentativas. Las primeras

producen solamente 50% de ácido láctico. Estas fermentan 1 mol de glucosa para formar 1 mol de ácido láctico, 1 mol de etanol y 1 mol de CO_2 . 1 mol de ATP es generada por mol de glucosa; las homofermentativas utilizan la ruta Embden-Meyerhoff-Parnas al convertir 1 mol de glucosa en dos moles de ácido láctico, además que se produce más del 85% de ácido láctico a partir de glucosa.

Las bacterias ácido lácticas son microorganismos que se pueden encontrar en la leche y algunos derivados lácteos, son capaces de fermentar monosacáridos o polisacáridos para transformarlos en ácidos como láctico, cítrico, propiónico, exopolisacáridos, bacteriocinas, peróxido de hidrogeno, endulzantes no calóricos, vitaminas, bebidas lácteas, ensilados, formación de sabores y aromas deseables, maduración de quesos, entre otros. Los anteriores metabolitos y otros son producidos través de rutas metabólicas utilizando la glucosa como fuente primaria de energía hasta la producción del metabolito deseado. Se encuentran difundidos en productos fermentados líquidos y sólidos. Su beneficio es nutricional y terapéutico otorgando características sensoriales muy aceptadas en los consumidores. Dentro de los principales microorganismos están *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *enterococcus*, *Oenococcus*, *tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Weisella* que son *Lactococcus*, *Lactobacillos*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* y *Pediococcus*

REFERENCIAS

- [1] ALMANZA F y BARRERA, E. Tecnología de leche y derivados, Bogotá Unisur 1991. p. 61-66.
- [2] ARRIBAS M y POLO C, "Occurrence of lactic acid bacteria and biogenic amines in biologically aged wines," *Food Microbiology*, 2008. vol. 25, p. 875-881.
- [3] HUGENHOLTZ, J. Review The lactic acid bacterium as a cell factory for food ingredient production. *International Dairy Journal*. 2008. vol 18, p. 466-475.
- [4] SAVADOGO A. et al. Bacteriocins and lactic acid bacteria - a minireview. *African Journal of Biotechnology*. 2006. Vol. 5, p. 678-683.
- [5] AXELSSON L. Lactic acid bacteria classification and physiology. Salminen, S. y von Wright, A. 1993. Ed Nueva York: Marcel Dekker.
- [6] BEDOLLA, S. et al. Introducción a la Tecnología de

- los Alimentos. Ed. México: Limusa, 2004, p78.
- [7] BERTRAND, C. et al. Evolution of κ -lactoglobulin and κ -lactoalbumin content during yogurt fermentation," *International Dairy Journal*, 2003. vol. 13, pp. 39-45.
- [8] BOUZAR F, CERNING J y. DESMAZEAUD M. Exopolysaccharide production and texture-promoting abilities of mixed-strain starter cultures in yogurt production," *Journal Dairy Science*. 1997 vol. 80, pp. 2310-2317.
- [9] BLANCO, S; DELAHAYE, P y FRAGENAS, N," Evaluación física y nutricional de un yogurt con frutas tropicales bajo en calorías," *Revista Facultad de Agronomía (Maracay) Venezuela*. 2006. vol. 32, p. 131-144.
- [10] CASTRO L y ROVETTO C. Probióticos: utilidad clínica," *Colombia Médica*. 2006.vol. 37, p15-22.
- [11] DEVLIEGHIERE, F; VERMEIREN L; y J. DEBEVERE J. New preservation technologies: Possibilities and limitations," *Review International Dairy Journal*. 2004 vol. 14 p. 273-285.
- [12] DUBOC, P y MOLLET, B. Applications of exopolysaccharides in the dairy industry" *International Dairy Journal*. 2001 vol. 11 p. 759-768.
- [13] EARLY,R. Tecnología de los productos lácteos. Editorial Acribia Zaragoza, 2000, p.36-51.
- [14] PESCUZZA, M. et al. 2008. Whey fermentation by thermophilic lactic acid bacteria: Evolution of carbohydrates and protein content. *Food Microbiology*. 2008. vol 25. P.442-451.
- [15] EKINCI F y GUREL M. Effect of Using Propionic Acid Bacteria as an Adjunct Culture in Yogurt Production. *Journal Dairy Science*. 2007.vol 91, p. 892-899.
- [16] GALVEZ, H. et al. Bacteriocin-based strategies for food biopreservation, *International Journal of Food Microbiology*. 2007. vol. 120, pp.51-70.
- [17] GUERRA, N; RUA, M y PASTRANA, L. Nutritional factors affecting the production of two bacteriocins from lactic acid bacteria on whey," *International Journal of Food Microbiology*. 2001.vol. 70, p. 267-28.
- [18] HERNANDEZ, V. et al. Preparation of a whey-based probiotic product with *Lactobacillus reuteri* and *Bifidobacterium bifidum*," *Journal Food Technology Biotechnological*. 2007. vol 45, p. 27-31.
- [19] HILL C; OKEEFFE, T y ROSS, P. Antimicrobial factors produced by lactic acid bacteria. *Encyclopedia of Food Sciences and nutrition*, 2002. Vol 14. p 273-285.
- [20] HUI Y. *Dairy Science and Technology Handbook, Product Manufacturing*. 1993. vol 2. Washington: VCH publishers, p.121.
- [21] MATHOT, E; BELIARD, E Y THUAULT, D. *Streptococcus thermophilus* 580 produces a bacteriocin potentially suitable for inhibition of clostridium tyrobutyricum in hard cheese. *Journal Dairy Science*. 2003. vol. 86. p 3068-3074.
- [22] JAGNOW, G y WOLFANG, D, *Introducción con experimentos modelo*, Ed. Zaragoza: Acribia, 1991, p. 157-167.
- [23] KAILASAPATHY, K. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt," *LWT*. 2006. vol. 39, p1221-1227.
- [24] LAWS, Y; GU, Y y MARSHALL V. Biosynthesis, characterization, and design of bacterial exopolysaccharides from lactic acid bacteria. *Biotechnology Advances*. 2001. vol.19 p. 597-625.
- [25] NEIRA, E y LÓPEZ, J. *Guía técnica para la elaboración de productos lácteos Bogotá-Colombia: litografía Enzas Ltda*, 2001, p. 33-45.
- [26] LY, M. et al. Retention of aroma compounds by acid lactic bacteria in models food media. *Food hydrocolloids*. 2008. vol. 22, p. 211-217.
- [27] MATHUR, S Y SINGH, R. Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria-a review. *International Journal of Food Microbiology*. 2005.vol. 105, pp. 281-295, 2005.
- [28] MACEDO, M. et al. Effect of medium supplementation on exopolysaccharide production by *Lactobacillus rhamnosus* RW-959M in whey permeate," *International Dairy Journal*. 2002. vol. 12, p. 419-426.
- [29] GHASEMI M. et al. Effect of different media on production of lactic acid from whey by *Lactobacillus bulgaricus*. *African Journal of Biotechnology*. 2009. Vol. 8, p. 081-084.
- [30] MOREIRA, M; ABRAHAM A y ANTONI G," Technological properties of milks fermented with thermophilic lactic acid bacteria at sub-optimal temperature. *Journal Dairy Science*. 2000. vol. 83, pp. 395-400.
- [31] MORENO, M Y POLO M. Occurrence of lactic acid bacteria and biogenic amines in biologically aged wines. *Food microbiology*. 2008. vol. 25, pp. 875-881.
- [32] VAZQUEZ J y MURADO M. Enzymatic hydrolysates from food wastewaters as a source of peptones for lactic productions," *Enzyme and Microbial Technology*. 2008. vol.43, p. 66-72.

- [33] OLSON D, y ARYANA, K. An excessively high *Lactobacillus acidophilus* inoculation level in yogurt lowers product quality during storage," *LWT*. 2008 vol. 41, p. 911-918.
- [34] OSORIO, L y ROLDAN, J. Volvamos al campo. Lácteos y derivados. Ed. Ltda Bogotá Grupo latino, 2003 p. 44.
- [35] OZKAYA F. et al. Effect of exopolysaccharides (EPS) produced by *Lactobacillus delbrueckii* susp. *bulgaricus* strains to bacteriophage and nisin sensitivity of the bacteria," *LWT*. 2007. Vol. 40, p. 564-568.
- [36] PANESAR, P. et al. Bioutilisation of whey for lactic acid production a review," *Food Chemistry*. 2007. vol. 105, p.1-14.
- [37] PARRA, R; RODRÍGUEZ J y MARTÍNEZ, G. Efecto de la stevia y gelatina como aditivos en la elaboración de un yogurt probiótico durante el periodo de incubación. En: 4 Coloquio Internacional y 5 Nacional de Investigación en Alimentación y Nutrición. Universidad de Antioquia. 2008. p 53.
- [38] ANANOU S. et al. 2008. Optimization of enterocin AS-48 production on a whey-based substrate. *International Dairy Journal*. 2008. vol 18, p. 923-927.
- [39] REDDY, G. et al. Amylolytic bacterial lactic acid fermentation a review *Biotechnology advances*. 2007. vol. 32, p. 456-463.
- [40] RIVAS, C. et al. Aislamiento, identificación y caracterización de bacterias ácido lácticas de un queso venezolano ahumado andino artesanal. Su uso como cultivo iniciador," *Revista Científica FCV-Luz*. 2007. vol.3, p. 301-308.
- [41] RODRÍGUEZ J. et al. Review Heterologous production of bacteriocins by lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology* 2003. Vol 80, p. 101-116.
- [42] RODRÍGUEZ, M. Manual técnico de derivados lácteos, vol III. Bogotá: Universidad Nacional Abierta y a Distancia, 2002, p. 39-43 Bogotá-Colombia.
- [43] LIN, T y CHANG M. 2007. Exopolysaccharides production as affected by lactic acid bacteria and fermentation time. *Food Chemistry*. 2007. vol 100, p.1419-1423.
- [44] ROSS, P; MORGAN, S Y C. HILL, C. Preservation and fermentation: past, present y future," *International Journal of Food Microbiolog*. 2002. vol. 79, p. 3-16.
- [45] RYAN, L; BELLO, F y ARENDT, E. The use of sourdough fermented by antifungal BAL to reduce the amount of calcium propionate in bread," *International Journal of Food Microbiology*. 2008. vol. 23, p. 875-881.
- [46] SHENE, C y BRAVO, S. Whey fermentation by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* for exopolisaccharide production in continuous culture. *Enzyme and Microbial Technology*. 2006. vol. 10, p.1006-1015.
- [47] SERNA, L y RODRÍGUEZ, S. Producción biotecnológica de ácido láctico. Estado del arte. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*. 2005. vol. 1, p. 55-65.
- [48] TAVARIA, F. et al. Amino Acid Catabolism and Generation of Volatiles by Lactic Acid Bacteria," *Journal Dairy Science*. 2002. vol. 85, p. 2462-2466.
- [49] VUYST, L. et al. Exopolysaccharide-producing *Streptococcus thermophilus* strains as functional starter cultures in the production of fermented milks," *International Dairy Journal*. 2003. vol. 13, p. 707-717.
- [50] TOPISIROVIC, L. et al. Potential of lactic acid bacteria isolated from specific natural niches in food production and preservation," *International Journal of Food Microbiology*, vol. 48, pp.318-326, 2006.
- [51] TSAI, J. et al. Antihypertensive effect of bioactive peptides produced by protease-facilitated lactic acid fermentation of milk. *Food Chemistry*. 2008. vol. 106, p. 552-558.
- [52] VALBUENA, E. et al. Modelos cinéticos aplicados al crecimiento de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* en leche," *Revista científica FCV-LUZ*, 2005. vol. 5, p.464-475.
- [53] PARRA, R. Lactosuero: importancia en la industria de alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*. 2009. Vol 62. p 4967-4982.
- [54] ALMEIDA K., TAMIME A y OLIVEIRA. Influence of total solids contents of milk whey on the acidifying profile and viability of various lactic acid bacteria. *LWT - Food Science and Technology*. 2009. Vol. 42, 672-678.
- [55] VINDEROLA G. et al. Effects of the oral administration of the exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefirifaciens* on the gut mucosal immunity. *Cytokine*. 2006. vol 36 p. 254-260.
- [56] WALSTRA, P et al. *Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos*. Ed. Zaragoza: Acribia Editorial, 2001, p 231.
- [57] WELMAN, D y MADDOX, S. Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: perspectives and challenges," *Review Trends in Biotechnology*. 2003. vol. 38, p. 67-79.

- [58] YANG, Y. et al. Inhibition of *Bacillus cereus* by lactic acid bacteria starter cultures in rice fermentation. *Food Control*. 2008. vol. 19, p. 159-161.
- [59] ZISU, B y SHAH, P. Effects of pH, temperature, supplementation with whey protein concentrate, and adjunct cultures on the production of exopolysaccharides by *Streptococcus thermophilus* 1275. *Journal Dairy Science*. 2003.vol. 86, p.3405- 3414.
- [60] WEINBERG Z; MUCK R y WEIMER P. The survival of silage inoculant lactic acid bacteria in rumen Fluid. *Journal of Applied Microbiology* 2003, vol 94, p.1066–1071.
- [61] KHALIL R. et al. Evaluation of the probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from faeces of breast-fed infants in Egypt. *African Journal of Biotechnology*. 2007. Vol. 6, p. 939-949.
- [62] GRAJEK W., OLEJNIK A y SIP, A. Review Probiotics, prebiotics and antioxidants as functional foods. *Acta Biochimica Polonica*. 2005. Vol. 52, p. 665–671.
- [63] RUIZ, S. et al. Screening of lactic acid bacteria and bifidobacteria for potential probiotic use in Iberian dry fermented sausages. *Meat Science*. 2008. Vol 80 p. 715-721.
- [64] HUMMEL A. et al. Antibiotic Resistances of Starter and Probiotic Strains of lactic acid bacteria. *Applied and environmental microbiology*, 2007. Vol 73, p. 730–739.
- [65] CONWAY P. Selection criteria for probiotic microorganisms. *Asia pacific J. Clin. Nutr.* 1996, p.10-14.
- [66] DUNNE C. et al. In vitro selection criteria for probiotic bacteria of human origin: correlation with in vivo findings. *The American Journal of Clinical Nutrition Am J Clin Nutr* 2009. Vol 73, p.386–392.
- [67] TARANTO M; MÉDECI M y FONT G. Alimentos funcionales probióticos. *Revista Química Viva*. 2005. vol 1, p. 26-34.
- [68] VÁSQUEZ S; SUAREZ H y ZAPATA S. Utilización de sustancias antimicrobianas Producidas por bacterias ácido lácticas. 2009. *Revista Chilena Nutrición* Vol. 36 p, 64-71.
- [69] ESTRADA A. et al. Evaluación *in vitro* del efecto bactericida de cepas Nativas de *Lactobacillus* sp. Contra *salmonella* sp. Y *Escherichia coli*. 2005. *Revista Facultad Nacional Agronomía de Medellín*. Vol.58, p.2601-2609.
- [70] MIRANDA O. et al. Elaboración de una bebida fermentada a partir del suero de queso. Características distintivas y control de Calidad. 2007. *Revista Cubana Alimentación Nutrición*. Vol.17, p.103-108.
- [71] LEON A. et al. Bbacterias ácido lácticas (BAL) silvestres colombianas presentan propiedades adecuadas para la fabricación de masa ácida 2006. *Revista Vitae* v.13, p. 26-35.