

CAMBIOS EN LA MICROBIOTA DURANTE LA MADURACIÓN DE UN CHORIZO

Yamilé Moya, Tatiana Beldarraín, Ramón Santos, María Aloida Guerra, Yamira Cepero, Aster Bruselas, Zobeida Frómeta y Norma Vergara*

*Instituto de Investigaciones para la Industria Alimentaria
Carretera al Guatao, km 3 ½, La Habana, C.P. 19 200, Cuba.*

E-mail: yamile@iia.edu.cu

RESUMEN

En este trabajo se determinaron los cambios en la microbiota durante la maduración del chorizo elaborado en condiciones artesanales. Se elaboraron cuatro templates de chorizo según la formulación tradicional y se dejaron en maduración por dos semanas en condiciones artesanales, hasta que el producto tuviera el aroma, textura y sabor deseados. Se realizaron determinaciones microbiológicas y físico-químicas al inicio y durante el tiempo de la fermentación y se aislaron e identificaron las especies involucradas al inicio y al final del proceso. Junto a los cambios bioquímicos del producto ocurre una disminución de la presencia de bacterias del deterioro, de psicrófilos y enterobacterias y un aumento de las bacterias acidolácticas.

Palabras clave: chorizo, fermentación, cambios en la microbiota, bacterias acidolácticas.

ABSTRACT

Microbiological changes during sausage chorizo's type ripening

In this work you determined the changes in the microbiota during the maturation of the sausage elaborated under handmade conditions. For they were elaborated it four sausage lots according to the traditional formulation and they were left in maturation by two weeks, under handmade conditions, until the product had the aroma, texture and wanted flavor. They were carried out determinations microbiológicas and physical-chemical to the beginning and during the time of the fermentation and they were isolated and they identified the species involved to the beginning and the end of the process. It was observed that he/she conforms to they produce the biochemical changes of the product it happens a decrease of the presence of bacterias of the deterioration, of psicrófilos and enterobacterias and an increase of the bacterias acidolácticas.

Key words: sausage chorizo's type, fermentation, microbiological changes, lactic acid bacteria.

INTRODUCCIÓN

La fermentación de alimentos, desarrollada de forma empírica durante muchos siglos, se basa en la participación activa de los microorganismos presentes en la materia prima. Los microorganismos fermentadores no sólo participan en la estabilidad microbiológica de los embutidos crudos-curados, sino que contribuyen a sus características organolépticas finales (1).

En muchos casos el carácter artesanal de estos productos, en lo que se refiere a composición de la mezcla y características del proceso, implica que su microbiota, compuesta tanto por microorganismos que son beneficiosos para el proceso de fermentación y *flavor* del

**Yamilé Moya Cribeiro: Licenciada en Educación, especialidad Veterinaria (ISPETP "Héctor Alfredo Pineda Zaldívar", 2004). Aspirante a investigador. Trabaja en la Dirección de carne. Sus principales líneas de trabajo son en el área de procesamiento primario del ganado, específicamente en la obtención y aprovechamiento de los subproductos del sacrificio animal, para el desarrollo de nuevos productos.*

embutido, como por gérmenes indeseables (deteriorantes y/o patógenos) puede resultar muy variada y compleja (2).

A diferencia de los embutidos más ácidos, la microbiota típica y los procesos de producción, en muchos casos todavía artesanales, no han sido suficientemente estudiados y su conocimiento permitiría un mejor control de la calidad microbiológica y de las características organolépticas de los embutidos fermentados (3). El aroma de cada producto depende de la zona en que se elabore, de los condimentos y de los gustos de los consumidores (4).

En el proceso artesanal de elaboración de embutidos crudos curados, la etapa de secado es la de mayor duración, la más importante y su duración depende del calibre y características del producto. Durante el proceso de maduración-secado, se produce la deshidratación del producto, junto con una serie de reacciones bioquímicas producidas por enzimas de origen endógeno y microbiano que degradan lípidos y proteínas y contribuyen a conferir la textura y el "flavor" característico del producto (2).

Debido a la necesidad de mantener la calidad sensorial y seguridad de los embutidos crudos curados, es importante lograr que la producción industrial de embutidos fermentados se realice sobre la base del desarrollo de cultivos bioprotectores con características tecnológicas y sensoriales, luego de la selección de cepas aisladas de productos fermentados de forma empírica (5). El objetivo de este trabajo fue determinar los cambios en la microbiota durante la maduración del chorizo elaborado en condiciones artesanales.

MATERIALES Y MÉTODOS

La Tabla 1 muestra que el chorizo se elaboró a partir de carnes semicongeladas y para su manufactura se utilizó una fórmula propuesta por investigadores. Las carnes semicongeladas a -5 ± 2 °C se molieron por disco de 13 mm y se mezclaron según la formulación con el resto de los ingredientes durante 5 a 7 min. La masa obtenida se dejó macerar por 24 h, para volver a mezclar por 10 min, luego se embutió en tripa natural de cerdo y se torció manualmente en porciones de 10 a 15 cm para alcanzar pesos de 90 ± 10 g.

Tabla 1. Formulación empleada para la elaboración del chorizo

| Ingredientes | Porcentaje |
|---|---------------|
| Carne cerdo primera y tercera categoría | 91,32 |
| Sales | 2,65 |
| Pimentón dulce | 4,00 |
| Espicias | 0,325 |
| Pimentón picante | 0,155 |
| Vino seco | 1,50 |
| Acido láctico | 0,05 |
| TOTAL | 100,00 |

Los chorizos se colocaron en varillas a razón de 30 y 35 unidades y se ahumó a 30 °C durante 3 h. El proceso de maduración-fermentación se realizó por dos semanas a temperatura y humedad relativa entre 18 ± 2 °C y 50 ± 5 %, respectivamente, en condiciones artesanales, hasta que el producto tuviera el aroma, textura y sabor deseados.

Se realizaron cuatro producciones y a cada uno se le realizó una caracterización físico-química al inicio y al final de la fermentación. Para ello se realizaron determinaciones de humedad (7), nitrito (8), cloruro de sodio (9). Además, cada 72 h y hasta el final de la fermentación, se realizaron determinaciones de pH (10) y actividad de agua (11).

Al final de la fermentación se realizó, además, la evaluación sensorial del producto por un panel de jueces adiestrados mediante una escala de puntuación para evaluar la calidad general (7-excelente, 1 pésimo), para ello los productos se identificaron con números aleatorios de tres cifras y los jueces debían tener en cuenta los atributos de aspecto, sabor, color y textura.

Para la evaluación microbiológica al inicio y cada 72 h se determinó la presencia de flora mesófila y psicrófila total, enterobacterias totales, hongos, levaduras y de bacterias ácido lácticas (BAL). La determinación de mesófilos se realizó en medio ACP, incubándose las placas durante 48 h a 35 ± 1 °C. La determinación de psicrófilos se realizó también en ACP con incubación a 4 °C por siete días. Las enterobacterias se determinaron en Agar violeta rojo bilis glucosa, las placas se incubaron a 37 °C durante 18 a 24 h. Para la determinación de lactobacilos se empleó Agar dextrosa triptona, se incubó a 37 °C durante 18 a 24 h.

Además, se analizó la presencia de los patógenos *E. coli*, *Salmonella sp.*, *Aeromonas sp.*, y *Staphylococcus aureus*. Para la determinación de patógenos (*E. coli*, *Salmonella sp.* y *Aeromonas sp.*) se empleó la base de medio cromogénico Cromocen AGN siguiendo las indicaciones del productor. Para la interpretación de los resultados se tuvo en cuenta que las colonias de *Aeromonas sp* toman una tonalidad verde claro, las colonias de *Salmonella sp.* son rosado intensas con bordes rosados, mientras que las de *E.coli* son violetas con halo azul (12). *Staphylococcus aureus* se determinó empleando el medio Agar Baird Parker (13)

Para el aislamiento y caracterización de los microorganismos se tomaron, de forma aséptica, muestras de chorizo a $t=0$ y cada 72 h hasta la maduración completa del mismo en condiciones artesanales. Se prepararon diluciones y se realizaron los análisis microbiológicos por el método de la placa vertida. Se determinó la flora mesófila en medio agar nutriente, incubándose las placas durante 48 h a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ y se analizó, además, la presencia de los patógenos *E. coli*, *Salmonella sp.* y *Aeromonas sp.* en medio cromogénico Cromocen AGN siguiendo las indicaciones del productor (12).

A partir del crecimiento obtenido en las placas del medio agar nutriente, se aislaron las colonias más representativas. Para esto se sembraron por agotamiento empleando el mismo medio de cultivo y se incubaron a 30°C de 18 a 24 h con el fin de obtener las colonias fisiológicamente aptas. Para facilitar la identificación, las colonias se numeraron y se describieron sus características. Luego, se sembraron por estrías, se pasaron a medios sólidos inclinados y se refrigeraron para su conservación.

Para ubicación en género se realizaron las pruebas de tinción de Gram, test de la catalasa, test de la oxidasa, producción de ácido a partir de la glucosa, relación con el oxígeno y crecimiento en caldo oxidación/fermentación y los resultados se compararon con las tablas de identificación (14).

Para el protocolo de identificación hasta especie se tuvieron en cuenta la morfología de las colonias, la reacción a la prueba de gram y la prueba de la catalasa (5). Las bacterias que resultaron catalasa negativas y gram positivas se les realizaron las siguientes pruebas fisio-

lógicas y bioquímicas: formación de gas de la glucosa, hidrólisis de la arginina, crecimiento a 8 y 10 % de cloruro de sodio, crecimiento a 4, 10, 15, 37 y 45°C . Además, se les realizó el patrón de identificación hasta especie API CHL (BioMeriux) recomendado para especies de lactobacilos.

En el caso de los cocos gram y catalasa positivos se les determinó API Staph (BioMeriux), método sencillo por el que se pudo obtener, de manera rápida, la identificación hasta especie de las bacterias integrantes de la familia *Micrococaceae*, a la que pertenecen *Staphylococcus spp.* y *Micrococcus spp.*

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 2 muestra que al inicio de la fermentación, se parte de un chorizo que tiene un porcentaje medio de humedad de 59,44 %, de cloruro de 2,26 % y de 29,32 ppm de nitrito de sodio. Los bajos porcentajes de humedad alcanzados por el producto al inicio podrían estar relacionados con el ahumado a que se somete el producto unido a los porcentajes de grasa que tiene la carne de tercera categoría. Al final de la maduración del chorizo se produce una disminución del porcentaje de humedad a 32,43 %, así como del nitrito de sodio a 17,32 %. Se produce, además, un aumento del porcentaje de cloruro de sodio a 4,67 % (primer obstáculo que deben vencer los microorganismos) debido a los cambios físico-químicos y a las pérdidas de peso que ocurren durante la maduración de este embutido. Estos valores son esperados y coinciden con lo informado por otros autores para productos similares (6, 15).

Tabla 2. Valores medios y desviaciones estándar de los análisis físico-químicos realizados al chorizo al inicio y al final de la fermentación

| Análisis realizados | Inicio | Final |
|---------------------|------------|------------|
| % Humedad | 59,44±0,78 | 32,43±1,56 |
| % Cloruro | 2,26±0,12 | 4,67±0,35 |
| ppm nitrito | 29,32±2,17 | 17,23±0,32 |
| pH | 5,76±0,33 | 5,35±0,07 |
| aw | 0,98±0,01 | 0,85±0,01 |

La Fig. 1 refleja que en el caso del pH, al inicio el producto tiene un valor medio de 5,76 y paulatinamente se produce una acidificación que está íntimamente ligada a la actividad microbiana que genera la acumulación de ácido láctico. Esto, unido a la acción del propio ácido que se adiciona al producto al inicio del proceso, condicionan los cambios bioquímicos y de textura que ocurren en el chorizo. Este es otro de los obstáculos que deben vencer los microorganismos.

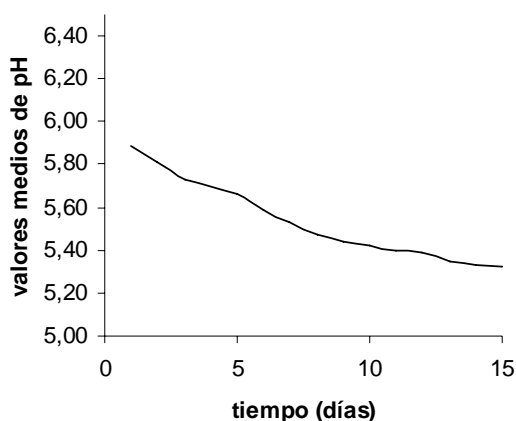


Fig. 1. Valores medios de pH durante el tiempo de fermentación de las variantes 1 y 2.

Los resultados sensoriales realizados mostraron que el producto se caracteriza por tener un buen aspecto al corte, una textura adecuada así como sabor y color propio de un chorizo crudo fermentado. Los valores medios de las evaluaciones estuvieron entre 6 (muy bueno) y 7 (excelente). Son muchos los factores que contribuyen al aroma y sabor final de este producto y entre ellos los más importantes son la calidad y el tipo de las materias primas así como las condiciones y el tiempo de maduración (18).

La Fig. 3 muestra que al inicio de la fermentación los conteos de aerobios mesófilos están en el orden de 6 unidades. En los primeros días de la maduración, las barreras importantes que tiene el producto son la presencia de cloruro de sodio y nitritos, que inhiben muchas de las bacterias presentes, lo que trae consigo una disminución de los conteos. De hecho, se produce una disminución del conteo de *Pseudomonas* spp que podría deberse al efecto del nitrito presente en el producto sobre este grupo relacionado con el deterioro de la carne. Ese fenómeno fue explicado por investigado-

La Fig. 2 representa que el descenso paulatino de la actividad de agua y el valor final obtenido (0,85) se convierten en otro obstáculo que deben superar los microorganismos y los valores finales que alcanza el chorizo lo convierten en un producto estable a temperatura ambiente que se conserva sus características nutricionales y sensoriales sin necesidad de refrigeración según la clasificación de realizada por otros investigadores (16, 17).

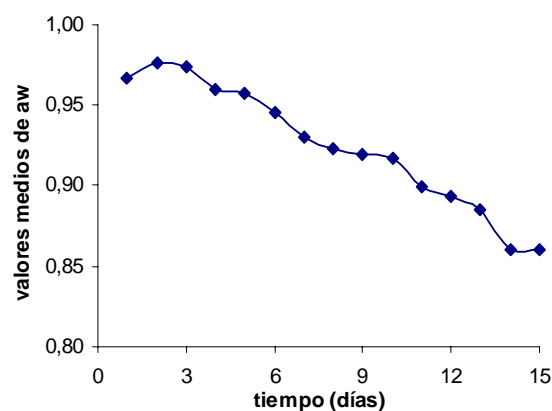


Fig. 2. Valores medios de aw durante el tiempo de fermentación de las variantes 1 y 2.

res (19, 20) quienes atribuían la reducción de *Pseudomonas* spp presentes en la carne fresca al efecto que tenía el nitrato de sodio sobre el potencial redox. Esto, unido al efecto de la multiplicación de otros grupos bacterianos como los micrococcos, que también juegan su rol en la disminución del potencial redox del producto, modifica el balance de la microbiota al final de la maduración del chorizo.

La modificación del potencial redox, inhibe los organismos aerobios pero favorece el crecimiento de bacterias acidolácticas (BAL), que son la flora competitiva, lo que causa acidificación del producto. Esta población aumenta rápidamente llegando a alcanzar valores de 5 unidades log y se convierten entonces en la flora dominante del chorizo. Algunos factores que podrían incidir en que estos microorganismos sean capaces de adaptarse a condiciones tan extremas, podrían ser su capacidad de crecer a amplios rangos de temperatura así como a pH entre 3,2 y 9,6 (21).

Otro resultado importante en la caracterización microbiológica es la disminución marcada de psicrófilos (CPs), enterobacterias (CE) y levaduras totales (CL). Esta disminución probablemente se deba al efecto que tiene el pH sobre la homeostasis celular. Este fenómeno se describió por Leistner (17, 22) y está relacionado con el hecho de que en los ácidos débiles existe un equilibrio entre el estado disociado y sin disociar que depende del pH. Al disminuir el pH, como la célula necesita mantener su homeostasis interna, consume todo el ATP en producir los protones y aniones necesarios que compensan el estado no disociado de la molécula lo que trae como consecuencia una restricción del crecimiento de los microorganismos.

Al final de la maduración, y ya cuando el producto posee actividades de agua de 0,85; se produce una disminución de los conteos totales y de bacterias acidolácticas de hasta 2 unidades logarítmicas. Esto podría estar dado por la influencia que tienen las bajas actividades de agua sobre todos los grupos microbianos. De hecho, las bajas actividades de agua son las responsables de la estabilidad microbiológica de los embutidos de larga maduración (22).

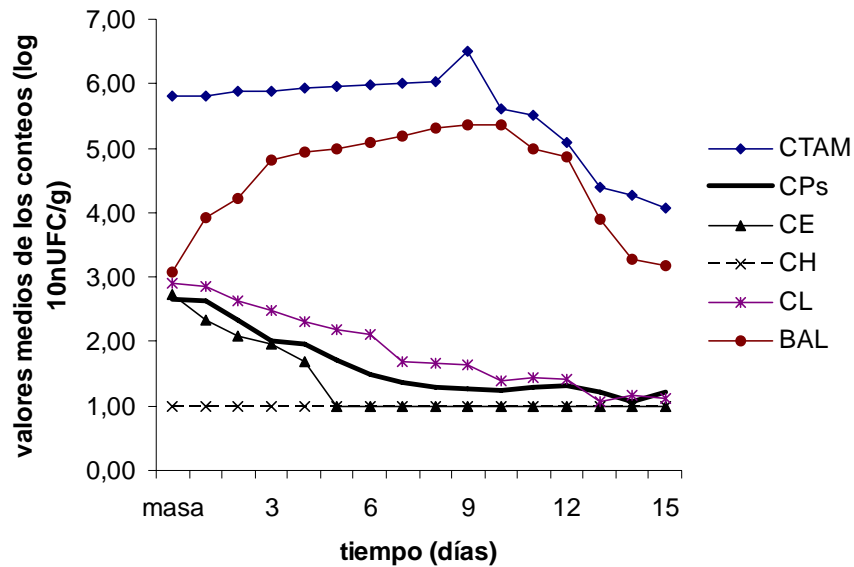


Fig. 3. Resultados medios de los conteos microbianos en chorizo.

La Tabla 3 refleja los resultados obtenidos luego de caracterizar las colonias al inicio del estudio. Predominan las colonias bacterianas de los géneros *Pseudomonas spp* (34 %), *Micrococcus spp* (31 %), *Lactobacillus spp* (18 %) y en mucha menor cuantía *Stahpylococcus spp* (12 %) y *Xanthomonas spp* (5 %), lo cual denota la variabilidad de la microbiota inicial del producto. Estos resultados corroboran lo informado por algunos investigadores, quienes encontraron, además, especies como *Bronchotrix thermofacta*, microorganismo relacionado con el deterioro de productos envasados (23).

En el caso de los micrococcos, las especies aisladas al inicio de la maduración del chorizo fueron *Micrococcus luteus* y *M. varians*. Estos grupos microbianos juegan un rol muy importante durante la maduración de los embutidos, sobre todo *M. varians* que se le ha asociado actividad reductora sobre los nitritos. Los géneros *Micrococcus spp* y *Stahpylococcus spp* como presentes en múltiples ambientes naturales ya que tiene gran versatilidad nutricional. Estos géneros pertenecen a la familia *Micrococcaceae* y pudieran estar presentes debido a la manipulación que sufre el producto (24).

Tabla 3. Identificación hasta género de las bacterias aisladas del producto al inicio de la fermentación

| GRAM | OXI | CATA | O/F | GLU | O ₂ | Grupo | % Aparición |
|----------------|------|------|------|------|----------------|----------------------------|-------------|
| Coco-Bacilos - | Pos. | Pos. | O | Pos. | Aer. | <i>Pseudomonas spp.</i> | 34 |
| Cocos + (rac) | Pos. | Pos. | O | Neg. | Aer. | <i>Micrococcus spp.</i> | 31 |
| Bacilos + | Neg. | Neg. | F | Pos. | Fac. | <i>Lactobacillus spp.</i> | 18 |
| Cocos + | Neg. | Pos. | F | Pos. | Fac. | <i>Staphylococcus spp.</i> | 12 |
| Bacilos - | Neg. | Pos. | Neg. | Neg. | Aer. | <i>Xanthomonas spp.</i> | 5 |

Leyenda: Neg: negativo F: Fermenta la glucosa Fac: anaerobio facultativo
Pos: positivo O: Oxida la glucosa Aer: aerobio

El género *Lactobacillus spp.* está formado por bacilos largos y delgados que fermentan los azúcares dando como producto principal ácido láctico. Son microaerófilos y catalasa negativos. La especie identificadas al inicio de la fermentación del chorizo fueron *L. plantarum* y *L. viridescens*. Estas especies se han aislado de productos como los frankfurthers y se asocian con las fermentaciones asistidas de productos cárnicos (25).

Al género *Xanthomonas spp.*, pertenecen microorganismos que hasta hace poco tiempo pertenecían al género *Pseudomonas* por su notable parecido morfológico y fisiológico. Se caracterizan por ser aerobios estrictos y se les ha encontrado en carnes deterioradas (25).

La Tabla 4 muestra que al final de la fermentación, se produjo un incremento de los géneros *Lactobacillus spp.*, *Micrococcus spp.* y *Staphylococcus spp.* Luego de la maduración del producto las cepas de *Lactobacillus spp.* aportaron 43 % de los microorganismos aislados, mientras que *Micrococcus spp.* y *Staphylococcus spp.* contribuyen con 38 y 16 %, respectivamente. Se encontró presencia, además de un grupo microbiano que no estaba al inicio *Leuconostoc spp.* que pertenecen al grupo de las bacterias ácidolácticas pero producen ácido láctico por una vía heterofermentativa.

Tabla 4. Identificación hasta género de las bacterias aisladas del producto al final de la fermentación

| GRAM | OXI | CATA | O/F | GLU | O ₂ | Grupo | % Aparición |
|-------------------------|------|------|-----|------|----------------|----------------------------|-------------|
| Bacilos y cocobacilos + | Neg. | Neg. | F | Pos. | Fac. | <i>Lactobacillus spp.</i> | 43 |
| Cocos + (rac) | Pos. | Pos. | O | Neg. | Aer. | <i>Micrococcus spp.</i> | 38 |
| Cocos + | Neg. | Pos. | F | Pos. | Fac. | <i>Staphylococcus spp.</i> | 16 |
| Diplococos + | Neg. | Neg. | F | Pos. | Fac. | <i>Leuconostoc spp.</i> | 3 |

Leyenda: Neg: negativo F: Fermenta la glucosa Fac: anaerobio facultativo
Pos: positivo, O: Oxida la glucosa, Aer: aerobio

Las especies aisladas luego de la fermentación son *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus viridescens* y *Lactobacillus curvatus*. Esta última especie no se aisló al inicio del estudio pero se ha reportado su presencia durante la fermentación de embutidos croatas y húngaros (5), que son muy parecidos al elaborado en este estudio.

Es importante destacar el rol que juegan determinadas especies del género *Micrococcus spp.* que se suelen emplear en la Industria de la Carne como cultivos iniciadores. Estos microorganismos aparecen como parte de la microflora de diversos embutidos y carnes curadas, por lo que desarrollan el sabor de embutidos y jamones crudos fermentados, son microorganismos lipolíticos y ejercen una importante función reduciendo

el nitrato a nitrito en estos productos. Las especies aisladas al final de la fermentación del chorizo fue *Micrococcus varians* y *M. roseus*. Estas especies se han identificado, también, en embutidos serbios y debido a la prohibición de la mayoría de colorantes de origen artificial ha provocado que los microorganismos de la familia *Micrococcaceae* hayan ganado adeptos (26).

Los estafilococos se han convertido en el género más comunmente usado como "starter" en productos cárnicos debido a su capacidad de crecer y metabolizar distintos compuestos en condiciones de anaerobiosis (27). Las especies aisladas fueron *Staphylococcus carnosus* y *Staphylococcus xylosus*, estas dos especies se han utilizado como cultivo iniciador en los embutidos (27, 28).

Cuando se adiciona *S. xylosus* como cultivo iniciador, su número se ve reducido durante la fermentación cuando esta se realiza a elevadas temperaturas, especialmente si la concentración de sal es baja y la concentración de glucosa alta (32). Además, la adición de otros cultivos iniciadores como *Pediococcus pentosaceus* puede inhibir a *S. xylosus* especialmente al comienzo de la fermentación y durante los períodos de secado, debido a los bajos niveles de sal en estos períodos. Los nitritos también parecen tener un efecto inhibitor sobre este microorganismo a elevados niveles.

La especie del género *Leuconostoc spp.* identificada fue *Leuconostoc pentosus*, quien se caracterizó por fermentar la glucosa en condiciones de anaerobiosis así como los carbohidratos estudiados. Este microor-

ganismo se ha usado ampliamente como cultivo iniciador y juega un papel importante por su capacidad de disminuir el pH en caldo glucosado a pH 4,4 (15).

A nivel de especie, *Lactobacillus plantarum*, *Micrococcus varians* y *Staphylococcus xylosus*, fueron los principales representantes de los dos grupos microbianos de interés tecnológico. El predominio de *L. plantarum* estuvo de acuerdo con los resultados obtenidos en diferentes embutidos fermentados del sur de Europa (29-32). De todos los microorganismos aislados, 54 % se identificó como *Lactobacillus plantarum*, 32,6 % como *Micrococcus varians* y 13,4 % como *Staphylococcus xylosus*.

CONCLUSIONES

Se determinaron los cambios en la microbiota durante la maduración del chorizo y se observó que conforme se producen los cambios bioquímicos del producto ocurre una disminución de la presencia de bacterias del deterioro, de psicrofilos y enterobacterias y se produce un aumento de las bacterias acidolácticas.

Todos los grupos microbianos aislados luego de la fermentación del chorizo coinciden con las especies usadas como cultivo iniciador para productos cárnicos.

A nivel de especie, *Lactobacillus plantarum*, *Micrococcus varians* y *Staphylococcus xylosus* fueron los principales representantes de los dos grupos microbianos de interés tecnológico.

REFERENCIAS

1. Garriga, M.; Fadda, S. y Aymerich, T. Eurocarne 1, 49: 1-6, 2006.
2. Comaposada, J.; Arnau, J.; Garriga, M.; Xargayo, M.; Bernard, J.; Corominas, M.; Gou, P.; Lagares, J. y Monfort, J. Eurocarne 157: 45-51, 2007.
3. Martín, B.; Aymerich, M.; Garriga, M. y Hugas, M. Eurocarne 113: 1-6, 2003.
4. Herranz, B.; de la Hoz, L. y Ordoñez, J. La industria cárnica latinoamericana. 130: 8-13, 2003.
5. Gasparik, J.; Toth, S.; Coccoli, L.; Comi, G.; Drosinos, E.; Cvrila, Z.; Kozacinski, L.; Smajlovic, A.; Saicic, S.; Borovic, B. Tehnologija mesa 46 (3-4): 143-153, 2005.
6. Miranda, A. Estudios de embutidos con cultivos iniciadores y ácidos orgánicos (tesis entregada en opción al título de Ingeniera pecuaria. Instituto de Ciencias Agropecuarias de La Habana) 1981, 25 pp.
7. NC-ISO 1442: 2002. *Carne y productos cárnicos. Determinación del contenido de humedad: método de referencia*, Cuba, 2004.
8. NC 357: 2004. *Carne y productos cárnicos. Determinación del contenido de nitrito*, Cuba, 2004.
9. NC-ISO 1841-1: 2004. *Carne y productos cárnicos. Determinación del contenido de cloruro-parte 1: método de Volhard*, 2004.

10. NC ISO 2917: 2004. *Carne y productos cárnicos. Medición del pH. Método de referencia*, Cuba, 2004.
11. Krispien, K.; Leistner, L. y Rödel, W. *Fleischwirtschaft* 59 (8): 1173-1177, 1979.
12. Anón. Catálogo de medios de cultivo. Ed. Centro Nacional de Biopreparados, La Habana, 2006, 45 pp.
13. NC-ISO 6888-1:1999. *Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Método horizontal para la enumeración de Staphylococcus coagulasa positiva (Staphylococcus aureus y otras especies)*. Parte 1: Técnica utilizando el medio Agar Baird Parker, Cuba, 1999.
14. Cowan, S. "Manual for the identification of medical bacteria". Cambridge University, Press: 1993, 212 pp.
15. Beldarraín, T.; Moya, Y.; Piloto, S.; Cepero, Y.; Bruselas, A.; Santos, R.; Guerra, M.A.; Frómata, Z.; Rodríguez, F.; Vergara, N.; Carrillo, C. y Casañas, C. Control de patógeno en chorizo mediante la utilización de cultivo bioprotector. Monografía no publicada. Instituto de Investigaciones para la Industria Alimentaria, Cuba.
16. Leistner, L. *Fleischwirtschaft* 59 (10): 1452, 1454-1455, 1979.
17. Leistner, L. Combined methods for food preservation. En *Handbook of Food preservation*. Ed Rahman, M.S. Marcel Dekker, Inc, New York, 1999, 457-485.
18. Bruna, J.; Hierro, E.; de la Hoz, L.; Mottram, D.; Fernández, M. y Ordoñez, J. *Int. J. Food Microb* 85 (1,2): 111-125, 2003.
19. Lücke, F. y Hechelmann, H. *Fleischwirtsch* 67: 307-314, 1987.
20. Kröckel, L. Bacterial fermentation of meats. En: *Fermented meats*. Campbell-Platt, G. y Cook, P.E. (eds.). Blackie Academic and Professional, London, 1995, pp. 69-109.
21. Jay, J. *Microbiología Moderna de los Alimentos*. 3ª ed. Acribia, Zaragoza, 1994.
22. Leistner, L. *Int. J. Food Microbiol.* 55: 181-186, 2000.
23. Borch, E.; Kant, M. y Blixt, Y. *Int. J. Food Microb.* 33 (1): 103-120, 1996.
24. Rocabayera, X.; Toldrá, F.; Flores, J. y Prieto, M. ECCEAMST, Utrecht, 1992.
25. Garriga, M.; Marcer, M. y Hugas, M. *Eurocarne*, 49: 1-4, 1996.
26. Hugas, M. y Roca, M. *Eurocarne*, 54: 1-5, 1997.
27. Jessen, B. *Fermented meat*. Campbell-Platt G. y Cook P. E. London, 1995.
28. Leistner, L. y Gorris-L. *Trends-in-Food-Science-&-Technology* 6 (2): 41-46, 1995.
29. Torriani, S.; Dellaglio, F. y Palummeri, M. *Ann. Microbiol* 40: 225-233, 1990.
30. Hugas, M.; Garriga, M. y Aymerich, T. Instituto de Investigaciones para la Industria Alimentaria Monfort, J. *International Journal of Food Microbiology* 18: 107-113, 1993.
31. Coppola, R.; Giagnacovo, B.; Iorizzo, M. y Grazia, L. *Food Microbiology* 15: 347-353, 1998.
32. Parente, E.; Martuscelli, M.; Gardini, F.; Griego, S.; Crudele, M. y Suzzi, G. *Journal of Applied Microbiology* 90: 882-891, 2001.