



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN
DISCUSIÓN SOBRE LA PRESENCIA DE BACTERIAS HALÓFILAS EN
ALIMENTOS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA DE ALIMENTOS

PRESENTA

TANIA PATRICIA RAMÍREZ MATA



MÉXICO, D.F.

2015



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: **Profesor: Gloria Díaz Ruiz**

VOCAL: **Profesor: Maricarmen Quirasco Baruch**

SECRETARIO: **Profesor: Martha Giles Gómez**

1er. SUPLENTE: **Profesor: Juan Carlos Ramírez Orejel**

2° SUPLENTE: **Profesor: Esmeralda Paz Lemus**

ESTE TRABAJO SE REALIZÓ EN EL LABORATORIO 312 DEL DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA DEL EDIFICIO E DE LA FACULTAD DE QUÍMICA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

ASESOR DEL TEMA:

Dra. Maricarmen Quirasco Baruch

SUSTENTANTE:

Tania Patricia Ramírez Mata



ÍNDICE

Introducción	1
Metodología	2
Información general	3
1. Marco histórico	3
La sal en el mundo.....	3
La sal en América.....	5
2. Tipos de sal	9
3. Métodos de producción de sal	14
4. Propiedades del cloruro de sodio como conservador de alimentos	20
5. Aspectos básicos de las bacterias halófilas	24
5.1. Factores que influyen en el desarrollo de los microorganismos	26
5.1.1 Efecto de la presión osmótica	26
5.1.1.1. Osmófilos.....	26
5.1.1.2. Xerófilos.....	26
5.1.1.3. Halófilos.....	27
5.2 Mecanismos de resistencia a altas concentraciones de sal	29
6 Técnicas moleculares de identificación de microorganismos	31
7 Microbiología del agua en zonas productoras de sal	36
7.1 Microorganismos del mar y zonas salinas.....	37
8 Productos alimenticios fermentados de origen vegetal	42
8.1 Aceitunas verdes	42
8.2 Encurtido de vegetales fermentado tradicional.....	43
8.3 Asinan rebung.....	44
8.4 Suan – tsai	45
8.5 Pepinillos curados	46
8.6 Coles ácidas	46
8.7 Microorganismos en productos vegetales fermentados	48
8.8 Técnicas moleculares de identificación	51
9 Productos de origen animal	52
9.1 Pescado salado	52
9.2 Anchoita salada	53
9.3 Charqui (Carne seca fermentada)	54
9.4 Jeotgal y “Ganjang – gejang”	55



9.5 Salsa de pescado	56
9.6 Salsa kusaya	58
9.7 Salchichas fermentadas italianas	58
9.8 Microorganismos en productos de origen animal	60
10 Productos lácteos	64
10.1 HALAB en quesos.....	64
10.2 Queso Vorarlberger Bergkäse (VB)	64
10.3 Queso Gouda	65
10.4 Queso Cotija	67
10.5 Queso fresco de Chiautla, Puebla	69
10.6 Queso ahumado de la Joya	71
10.7 Microorganismos en productos lácteos salados	72
Discusión de información.....	79
Conclusiones	92
Bibliografía.....	93



Índice de Tablas

TABLA 1. COMPOSICIÓN DE LA SAL SOLAR, SAL EVAPORADA Y SAL DE ROCA.....	10
TABLA 2. COMPOSICIÓN DE LA SAL YODADA.....	11
TABLA 3. CONTAMINANTES QUÍMICOS DE LA SAL YODADA.....	11
TABLA 4. SEGMENTOS Y DISTRIBUCIÓN DEL USO DE LA SAL PRODUCIDA POR EVAPORACIÓN SOLAR	12
TABLA 5. PRINCIPALES PRODUCTORES DE SAL EN MÉXICO	13
TABLA 6. POTENCIAL DE CRECIMIENTO DE MICROORGANISMOS EN ALIMENTOS A DIFERENTES VALORES DE AW	21
TABLA 7. CLASIFICACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS HALÓFILOS	28
TABLA 8. MECANISMOS DE TRANSPORTE DE IONES	30
TABLA 9. TÉCNICAS MOLECULARES DE IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS AISLADAS	31
TABLA 10. MICROORGANISMOS PRESENTES EN AGUA DE MAR Y ZONAS SALINAS.....	37
TABLA 11. MEDIOS DE CULTIVO PARA AISLAMIENTO DE BACTERIAS HALÓFILAS.....	38
TABLA 12. CONDICIONES DE CULTIVO DE BACTERIAS IDENTIFICADAS EN ZONAS SALINAS	41
TABLA 13. BACTERIAS AISLADAS DE PRODUCTOS VEGETALES FERMENTADOS.....	48
TABLA 14. CONDICIONES DE CULTIVO DE BACTERIAS IDENTIFICADAS EN PRODUCTOS VEGETALES.....	50
TABLA 15. BACTERIAS PRESENTES EN PRODUCTOS DE ORIGEN ANIMAL.....	60
TABLA 16. CONDICIONES DE CULTIVO PARA BACTERIAS IDENTIFICADAS EN PRODUCTOS DE ORIGEN ANIMAL	62
TABLA 17. TÉCNICAS MOLECULARES DE IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS AISLADAS	63
TABLA 18. BACTERIAS AISLADAS DE PRODUCTOS LÁCTEOS	72
TABLA 19. CONDICIONES DE CULTIVO PARA BACTERIAS IDENTIFICADAS EN PRODUCTOS LÁCTEOS	76



Índice de Figuras

FIGURA 1. HISTORIA DE LA SAL EN ASIA, EUROPA Y ÁFRICA DURANTE LA EDAD MEDIA	4
FIGURA 2. MAPA DEL ÁREA MAYA CON LOCALIDADES SALINERAS.....	5
FIGURA 3. MAPA DE BELICE CON LOCALIDADES SALINERAS.....	6
FIGURA 4. FRAGMENTOS DE RECIPIENTOS ENCONTRADOS EN ZONAS SALINERAS DE BELICE	7
FIGURA 5. RECIPIENTES UTILIZADOS EN BELICE PARA LA OBTENCIÓN DE SAL	7
FIGURA 6. HUIXTOCÍHUATL, DIOSA DE LA SAL	8
FIGURA 7. PRODUCTORES DE SAL EN MÉXICO.....	12
FIGURA 8. “TAPEXTLE” UTILIZADO EN LA OBTENCIÓN DE SAL.....	14
FIGURA 9. PROCESO DE PRODUCCIÓN DEL CLORURO DE SODIO	15
FIGURA 10. PROCESO DE PRODUCCIÓN DE LA SAL ARTESANAL YODADA Y FLUORADA	16
FIGURA 11. ESTANQUES DE PRECONCENTRACIÓN (PCO), CONCENTRACIÓN (CO) Y CRISTALIZACIÓN (CR) EN LAS SALINAS DE PINET	17
FIGURA 12. OBTENCIÓN DE CLORURO DE SODIO POR EVAPORACIÓN SOLAR	18
FIGURA 13. DIAGRAMA DE FLUJO DEL PROCESO PARA LA OBTENCIÓN DE SAL UTILIZANDO SALMUERAS	19
FIGURA 14. ESTRUCTURAS DE CÉLULAS PROCARIOTAS	24
FIGURA 15. TIPOS Y COMPOSICIÓN DE PARED CELULAR DE BACTERIAS	25
FIGURA 16. GRÁFICA DE CLASIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS HALÓFILOS.....	27
FIGURA 17. CLASIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS HALÓFILOS	28
FIGURA 18. CÉLULA EN UNA SOLUCIÓN AL 0.85% DE NACL Y AL 10% DE NACL	30
FIGURA 19. ESQUEMA DE PROTEÍNAS TRANSPORTADORAS	31
FIGURA 20. ESQUEMA DE LA REACCIÓN DE PCR.....	32
FIGURA 21. REGIONES DEL GEN 16S.....	33
FIGURA 22. TIPOS DE GELES DE LA TÉCNICA DGGE	35
FIGURA 23. DIAGRAMA DE PROCESO DE LAS ACEITUNAS VERDES FERMENTADAS.....	42
FIGURA 24. DIAGRAMA DE PROCESO DE ENCURTIDOS DE VEGETALES FERMENTADOS.....	43
FIGURA 25. DIAGRAMA DE PROCESO DE ASINAN REBUNG	44
FIGURA 26. DIAGRAMA DE PROCESO DE SUAN - TSAI.....	45
FIGURA 27. DIAGRAMA DE PROCESO DE PEPINILLOS CURADOS	46
FIGURA 28. DIAGRAMA DE PROCESO DE COLES ÁCIDAS	47
FIGURA 29. DIAGRAMA DE PROCESO DEL PESCADO SALADO	52
FIGURA 30. DIAGRAMA DE PROCESO DE ANCHOITA SALADA	53



FIGURA 31. DIAGRAMA DE PROCESO DEL CHARQUI	54
FIGURA 32. DIAGRAMA DE PROCESO DEL “GANJANG – GEJANG”	55
FIGURA 33. DIAGRAMA DE PROCESO DE LOS OSTIONES FERMENTADOS “JEOTGAL”	56
FIGURA 34. DIAGRAMA DE PROCESO DE LA SALSA DE PESCADO	57
FIGURA 35. DIAGRAMA DE PROCESO DE SALSA KUSAYA	58
FIGURA 36. DIAGRAMA DE PROCESO DE LA SALCHICHA FERMENTADA ITALIANA	59
FIGURA 37. DIAGRAMA DE PROCESO DE QUESO VORARLBERGER BERGKASE	65
FIGURA 38. DIAGRAMA DE PROCESO DE ELABORACIÓN DE QUESO GOUDA	66
FIGURA 39. ZONA PRODUCTORA DE QUESO COTIJA DENOMINACIÓN DE ORIGEN	67
FIGURA 40. DIAGRAMA DE PROCESO DE QUESO COTIJA	68
FIGURA 41. DIAGRAMA DE PROCESO DE QUESO FRESCO DE CHIAUTLA, PUEBLA	70
FIGURA 42. DIAGRAMA DE PROCESO DE QUESO AHUMADO DE LA JOYA.....	71

INTRODUCCIÓN

El objetivo de este trabajo es reunir la información relacionada con las bacterias halófilas presentes en diversos alimentos que ha sido publicada hasta el momento. Los datos a recabar son tipos de microorganismos y productos en los que se desarrollan, así como medios de aislamiento y técnicas moleculares utilizadas para su identificación.

La relevancia de esta investigación es debido a la importancia de la sal y sus diversos usos en alimentos a lo largo de la historia del hombre; ya sea por consumo directo, o bien para la preparación de productos fermentados y conservas.

Por otra parte, en los alimentos se puede contar con la presencia de bacterias benéficas para el consumidor, así como también puede haber bacterias patógenas y de descomposición. Por lo que es importante identificar y saber cuáles bacterias pertenecen a estos dos grupos.

Todo el conjunto de conceptos microbiológicos básicos y la compilación de resultados de varios grupos de investigación sobre la presencia de microorganismos en alimentos de alto contenido en sal será importante para investigaciones posteriores a este trabajo; como apoyo y facilitador en la búsqueda de información sobre las bacterias halófilas que están presentes en productos alimenticios, cuyo ingrediente es la sal.

METODOLOGÍA

Como primera fase se realizó la búsqueda de información en libros de texto acerca de los temas de microbiología general y química de alimentos para definir los conceptos básicos.

A continuación, se buscaron en las bases de información digital como Scopus y Science Direct, artículos relacionados con las bacterias halófilas. La búsqueda se realizó en publicaciones científicas para después analizar la información obtenida y organizarla por temas.

En la tercera fase se seleccionaron los alimentos e información que se revisa en el apartado de discusión, considerando algunos quesos mexicanos, conservas vegetales y productos cárnicos, como ejemplo de alimentos que contienen sal y cuya microbiota puede ser influenciada por dicho ingrediente.

Posteriormente, se realiza una discusión acerca de las características de los microorganismos que se han encontrado en los diferentes productos mencionados a lo largo de la sección de información general. Y finalmente llegar a las conclusiones referentes a la presencia de las bacterias halófilas en los alimentos.

1. MARCO HISTÓRICO

La sal en el mundo

Desde la antigüedad, la sal ha sido un producto de gran relevancia debido a que fue utilizado por las culturas antiguas como moneda de pago de tributo y diezmos religiosos, así como un factor de expansión de los mercados para comercio (AMISAC, 2015).

Los primeros datos sobre el uso de la sal como un alimento se remontan al año 2670 a. C. por el emperador chino Huangdi. Las primeras salinas que se ocuparon para su producción se localizaban en la provincia de Shanxi. Los métodos de extracción se hicieron más elaborados aproximadamente en los años 800 a. C. por la Dinastía Xia. El método consistía en colocar el agua de las salinas en recipientes de barro en calentamiento con fuego hasta obtener los cristales por evaporación (AMISAC, 2015).

Como resultado de la conquista romana sobre la cultura celta, éstos últimos transmitieron los conocimientos sobre la extracción y uso de la sal a los romanos; debido a que los celtas realizaban la explotación de unas salinas en la ciudad de Hallein, ubicadas en Salzburgo, nombre cuyo significado es “ciudad de la sal” (AMISAC, 2015).

En culturas como la egipcia y romana utilizaban la sal para conservar alimentos como carne y aceitunas, esto ayudó a que tuvieran una mayor diversidad de alimentos en las épocas de escasez. Además, en el antiguo Egipto se utilizaba en ritos funerarios. Se sabe que el origen de la sal utilizada por los egipcios era del comercio entre puertos, principalmente con Libia y Etiopía (AMISAC, 2015).

En la Edad Media el pago de tributo por el uso de la sal era a beneficio de los reyes. Por lo que la evasión del pago de dicho impuesto resultó en la elaboración de pan sin sal. Además, en esta época existían dos mercados principales para el

comercio de la sal: África occidental y la industria salinera de los Países Bajos en el siglo XVII. El origen de este impuesto fue un factor de gran influencia en el cauce de imperialismo europeo (AMISAC, 2015).

Como se mencionó anteriormente, uno de los impuestos por los que se obtenía una mayor ganancia fue el uso y explotación de la sal. Un ejemplo de esto es el impuesto llamado “la gabelle” (AMISAC, 2015; Holt y Turner, 1973); el cual fue estipulado por el gobierno francés. Otro país que obtenía fondos a partir de impuestos sobre la sal como producto de consumo era China (Holt y Turner, 1973).

En la figura 1 se puede observar un mapa en el que se presenta la historia de la sal hasta la Edad Media.

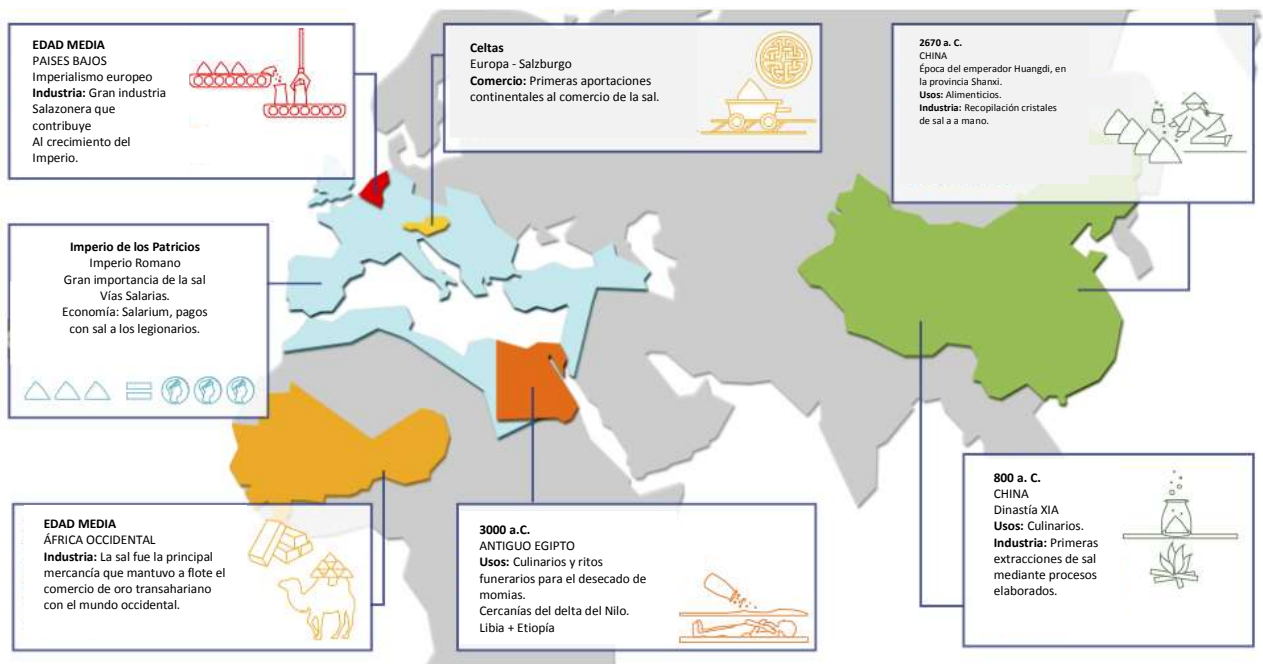


Figura 1. Historia de la sal en Asia, Europa y África durante la Edad media (AMISAC, 2015).

Hasta el siglo XIX se declaró libre de impuestos la explotación y venta de sal (AMISAC, 2015).

En el siglo XX, en Asia la situación no era la misma, ya que en 1930 los hindúes marcharon en contra del impuesto cobrado por los ingleses para utilizar la sal.

Andrews (1998) en la zona se concluyó que existe la posibilidad de que en épocas prehispánicas se obtuviera sal solar de estas salinas.

En Belice las fuentes productoras de sal conocidas se encontraban en el litoral, las cuales se muestran en el mapa de la Figura 3.



Figura 3. Mapa de Belice con localidades salineras (Andrews, 1998).

En Belice, se han hecho investigaciones sobre el método de producción que se utilizaba. Los hallazgos en la zona fueron fragmentos de barro cocido en forma de cilindro utilizados para la evaporación de sal por calor (Andrews, 1998). En la Figura 4 y 5 se muestran imágenes de los recipientes utilizados en esa época.



Figura 4. Fragmentos de recipientes encontrados en zonas salineras de Belice
(Andrews, 1998).

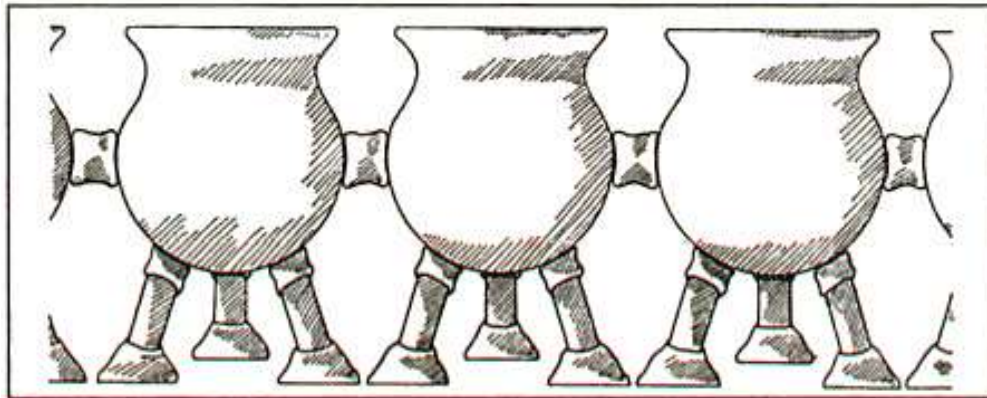


Figura 5. Recipientes utilizados en Belice para la obtención de sal
(Andrews, 1998).

En cuanto a México, los aztecas tenían una diosa de los salineros y de las aguas saladas llamada Huixtociúatl (figura 6), quien se relacionaba con Tláloc y Chalchiuhtlicue, dioses de la lluvia y las lagunas, respectivamente (AMISAC, 2015).



Figura 6. Huixtocihuatl, diosa de la sal (AMISAC, 2015).

Para los aztecas y los mayas la sal fue un modo de cobrar tributo a otras culturas como los tlaxcaltecas, siendo un instrumento para guerra y política (AMISAC, 2015).

La extracción de sal en la época prehispánica en México era realizada en las Marismas Nacionales, Sinaloa; Mezcaltitlán, San Blas y Laguna Quelote, Nayarit; Tenacatita y Barra de Navidad, Jalisco y las lagunas de Potrero Grande y Cuyutlán en Colima (William, 2003). Además se tiene conocimiento de 90 lagunas que se localizaban en Peñón Blanco, entre San Luis Potosí y Zacatecas. La importancia económica de ellas fue que la sal obtenida se utilizó para las minas de plata desde 1640 hasta 1834.

Para el siglo XVIII, la Laguna de Cuyutlán que contaba con una extensión de 7,200 hectáreas, era uno de los principales productores de sal para uso en minas de plata. La sal se distribuía principalmente en Guanajuato, Taxco y la Ciudad de México. A finales del siglo XIX debido a los avances en el área de obtención de

plata, la sal producida pasó a ser mayoritariamente para su consumo humano (William, 2003; INAES, 1998).

2. TIPOS DE SAL

El cloruro de sodio (NaCl), conocido comúnmente como sal, es un ingrediente utilizado para la preparación y conservación de alimentos. Se describe físicamente como un sólido cristalino blanco que puede ser de transparente a opaco. Existen diferentes tipos de sal; los cuales son sal evaporada a alto vacío, sal de roca, sal solar o sal simple (Committee on Codex Specifications, 1981).

La sal evaporada es la que se produce a partir de la evaporación de agua de mar; la sal de roca se obtiene de los depósitos subterráneos que tienen sal, la cual se disuelve y se evapora usando energía producida con algún combustible (Lenntech, 2015).

A diferencia de la sal de roca, la sal solar se produce a partir de agua de mar evaporando la fase líquida con ayuda de energía solar y el viento para después iniciar la etapa de cristalización. Esta etapa empieza cuando la salmuera se encuentra como una solución saturada. Existen 3 variantes de este proceso: por cristalización fraccionada, cristalización con salmueras no depuradas y salinas artesanales (AMISAC, 2015).

En la Figura 7 se presentan los estados de la República Mexicana productores de sal al alto vacío. Este proceso consiste en la extracción de sal a través de una planta diseñada para ello. Utiliza maquinaria como evaporadores e intercambiadores de calor, los cuales utilizan muy bajas presiones. En dicho proceso se obtiene una sal cristalina, blanca y con un contenido de NaCl de 99.5% (AMISAC, 2015).

Los tres diferentes tipos de sal cambian en su composición. En la Tabla 1 se presentan los componentes de cada una.

Tabla 1. Composición de sal solar, sal evaporada y sal de roca (Lenntech, 2015).

Tipo de sal	Compuesto	Cantidad
Sal de roca	NaCl	98 – 99 %
	Materia insoluble (Sulfato de calcio)	0.5 – 1.5%
Sal evaporada	NaCl	99.6 – 99.9%
Sal solar	NaCl	85%
	Materia insoluble	< 0.03%

Químicamente la sal de mesa está compuesta por iones, sodio (Na^+) y cloruro (Cl^-), mayoritariamente. De acuerdo con el *Codex alimentarius* no debe tener menos de 97% de NaCl. Otros compuestos que pueden estar presentes son sulfatos, carbonatos, bromuros y cloruros de calcio, potasio, magnesio, yodo, flúor y cobre; así como otros compuestos contaminantes. La cantidad presente de dichos compuestos en la sal dependerá de la fuente y método de producción, así como de la adición de compuestos al producto final (FAO, 2006; Coordinación General de Minería, 2013). Se presentan las Tablas 2 y 3, en las que se definen los límites mínimos y máximos permitidos de NaCl en la sal yodada y contaminantes en su composición.

Tabla 2. Composición de la sal yodada (FAO, 2006; NMX – F – 008 – 1988).

Compuesto	Mínimo	Máximo
Yodato de potasio (KIO ₃)	20 mg / kg de sal	40 mg / kg de sal
Flúor	200 mg / kg de sal	250 mg / kg de sal
Cloruro de sodio (NaCl) en materia seca	97.0 %	
Materia insoluble en agua		2.0%
Humedad		3.0%
Tamaño de partícula	85% por un tamiz de 1.00 mm	20% por un tamiz de 0.212 mm
Características	Color blanco. 10 g de sal en 100 ml de agua da una solución ausente de color.	

Tabla 3. Contaminantes químicos de la sal yodada (FAO, 2006).

Compuesto	Máximo
Alcalinidad (como NaCO ₃)	0.1%
Materia insoluble	0.15%
Sulfato (como SO ₄ ²⁻)	0.5%
Arsénico (As)	0.5 mg / kg
Cobre (Cu)	2.0 mg / kg
Plomo (Pb)	2.0 mg / kg
Cadmio (Cd)	0.5 mg / kg
Mercurio (Hg)	0.1 mg / kg
Calcio (Ca ²⁺)	0.5%
Estaño (como Sn)	100.0 mg / kg

Los diversos usos que puede tener este producto son en las áreas de consumo humano, industria y ganado (FONAES, 2015), los cuales se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4. Segmentos y distribución del uso de la sal producida por evaporación solar (FONAES, 2015).

Segmento	Porcentajes de distribución
Comestible (consumo humano)	42%
Industrial	38%
Ganado	20%

En México encontramos diversas zonas productoras de sal. Las principales se encuentran en Baja California, Sonora, Yucatán y Veracruz; de las cuales en los tres primeros estados se produce sal solar, mientras que en Veracruz produce sal evaporada al alto vacío. En la figura 7 se presentan los productores de sal en México con mayor importancia económica de acuerdo a la AMISAC.



Figura 7. Productores de sal en México (AMISAC, 2015).

Como se observa en la figura 7, se menciona también la obtención de sal a partir de salmuera, por la inyección a presión de agua a un domo de salino.

Referente a los principales productores de sal en México en la Tabla 5 se presentan junto con las toneladas por año producidas.

Tabla 5. Principales productores de sal en México (FONAES, 2015).

Productora	Capacidad productiva (ton / año)	Tipo de sal
Exportadora de Sal. Guerrero Negro	7'000,000	Solar
Sales del Istmo	510,000	Evaporada al alto vacío
Pennwalt	478,000	Salmuera
Industrial Salinera de Yucatán	220,000	Solar
Salinas de Lobos	75,000	Solar
Compañía Salinera del Istmo	18,000	Evaporada al alto vacío
Salineros de Colima	14,000	Solar
Salineros del Golfo	14,000	
Lomas del Real (Salinera La Boladeña)	9,000	Solar

Uno de los lugares de obtención de sal solar de grano a partir de métodos artesanales es la Laguna de Cuyutlán ubicada en Colima. El proceso se basa en el uso del *tapextle* (figura 8), que es un filtro con forma de cama o techo elaborado de ramas, palmeras, trozos de coco, arena y cal. En esta base, se coloca tierra que se tomó directamente del fondo de la laguna y se realizan varios lavados con agua para obtener una solución salina. Al caer, la solución se dirige a los estanques de evaporación teniendo como resultado una sal blanca y en forma de granos (William, 2003).

Las temporadas en que se realiza la extracción son en primavera y verano (Castellón, 2007). Actualmente el proceso de producción de sal en Cuyutlán se diferencia por la extracción de agua de la laguna con bombas mecánicas (William, 2003).

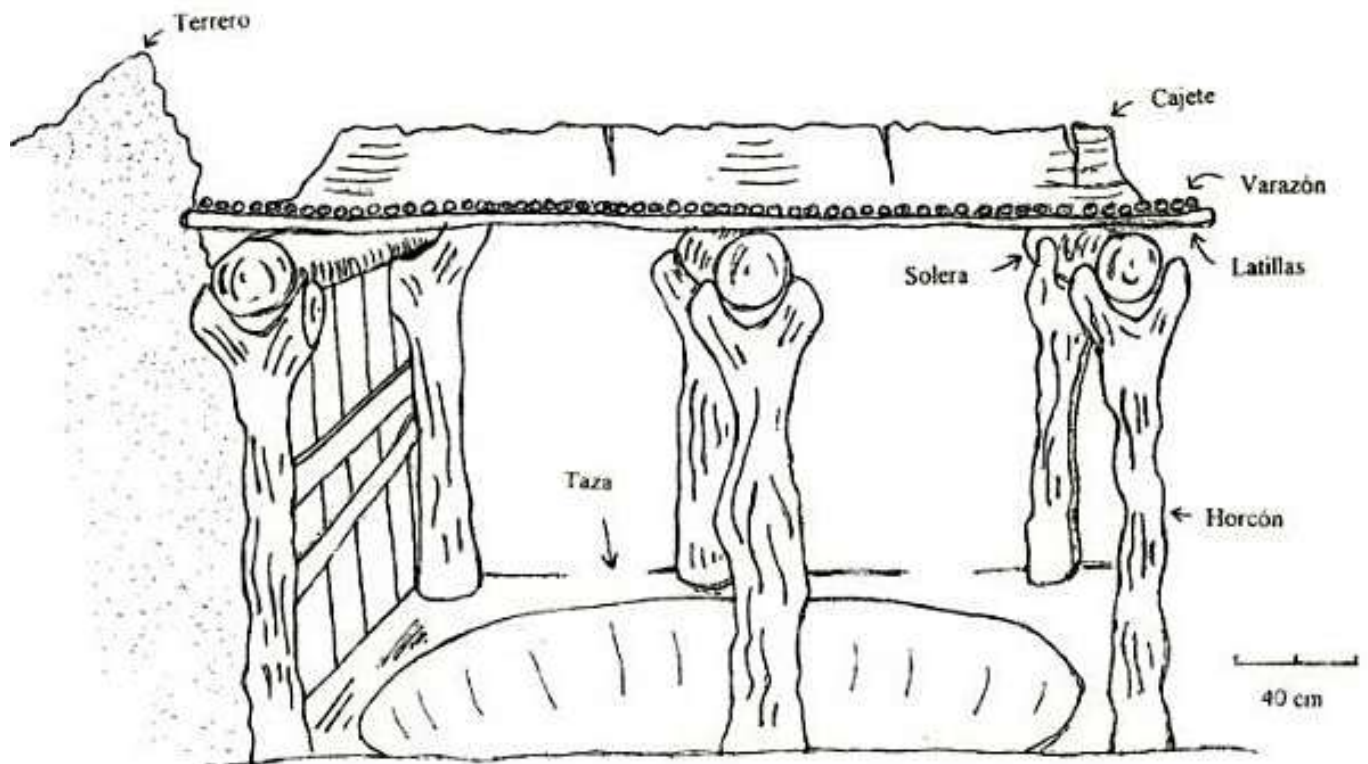


Figura 8. "Tapextle" utilizado para la obtención de sal (William, 2003).

3. MÉTODOS DE PRODUCCIÓN DE LA SAL

El proceso de producción de la sal con las operaciones básicas mínimas necesarias se presenta en la figura 9. De acuerdo con el *Codex Alimentarius*, se puede obtener a partir de agua de mar, depósitos subterráneos o de salmueras naturales (FAO, 2006).

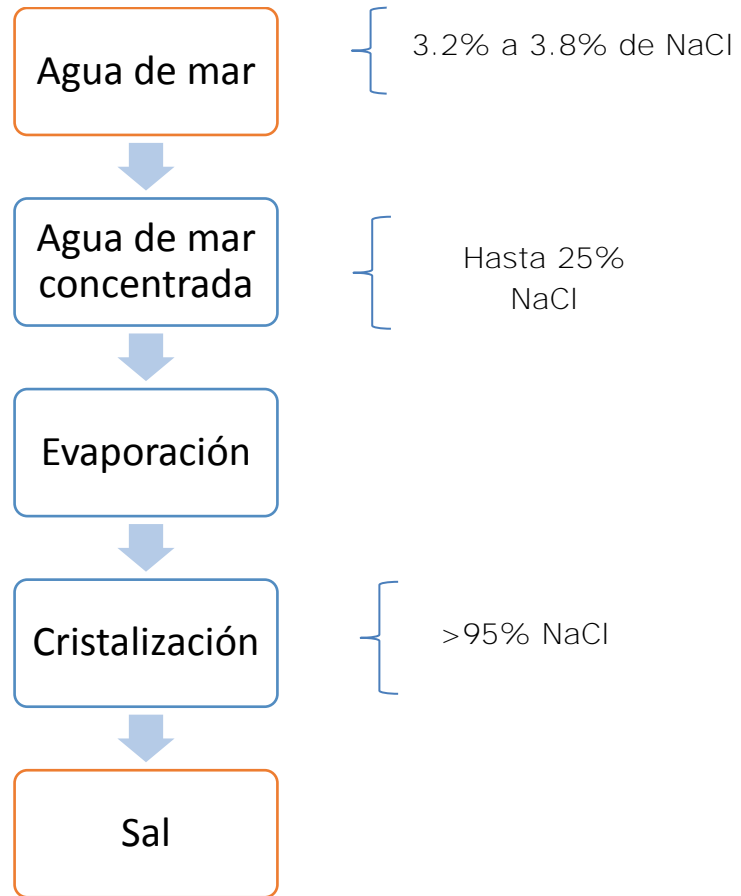


Figura 9. Proceso de producción del cloruro de sodio (Madigan, et al., 2006).

La sal puede tener varias presentaciones dependiendo del proceso utilizado para su producción y el uso final del producto. Puede obtenerse sal de grano y sal refinada, de la cual la segunda es la más procesada (AMISAC, 2015). En la figura 10 se presenta el proceso de producción de la sal artesanal yodada fluorada, a la cual se le agregan yodo (30 ± 10 mg / kg de sal) y flúor (200 a 250 mg / kg de sal) en la última etapa de producción antes de ser empacada (NOM – 040 – SSA1-1993).

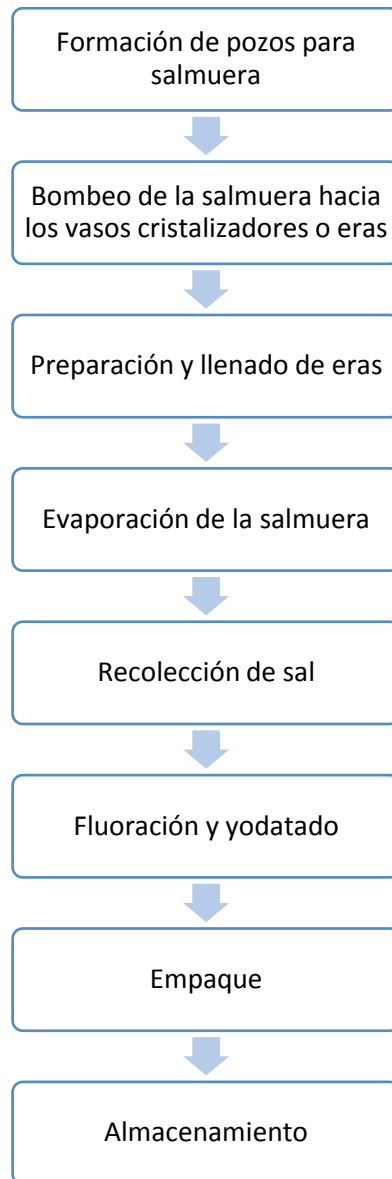


Figura 10. Proceso de producción de sal artesanal yodada y fluorada (FONAES, 2015)

Del artículo de Asencio (2003) se presenta la figura 11 la cual, es una imagen de los estanques utilizados para la producción de sal por evaporación de agua de mar. Además, se señala la función de cada uno de los estanques en el proceso, así como la dirección del flujo de agua.



Figura 11. Estanques de pre concentración (PCO), concentración (CO) y cristalización (CR) en Las Salinas de Pinet (Asencio, 2013).

Se observa que en el artículo de Asencio se describen 4 etapas de preconcentración, 5 de concentración y una etapa de cristalización.

De acuerdo al proceso de la figura 11, el aumento en la concentración de sales en el agua da como resultado la precipitación de varios compuestos. Cuando la concentración del agua de mar es del doble, el carbonato de calcio se precipita; posteriormente al aumentar tres veces la concentración inicial, el sulfato de calcio es precipitado. Para concluir con la obtención del cloruro de sodio, la concentración debe tener un aumento de 10 veces la concentración inicial del agua de mar. En los estanques que van numerados del 5 al 8, señalados en la figura 11, se lleva a cabo la precipitación de los carbonatos y sulfatos, mientras que en el estanque número 10 se obtienen los cristales de sal (Asencio, 2013).

En la figura 12 se observa una representación gráfica del proceso de obtención de sal por evaporación con energía solar.

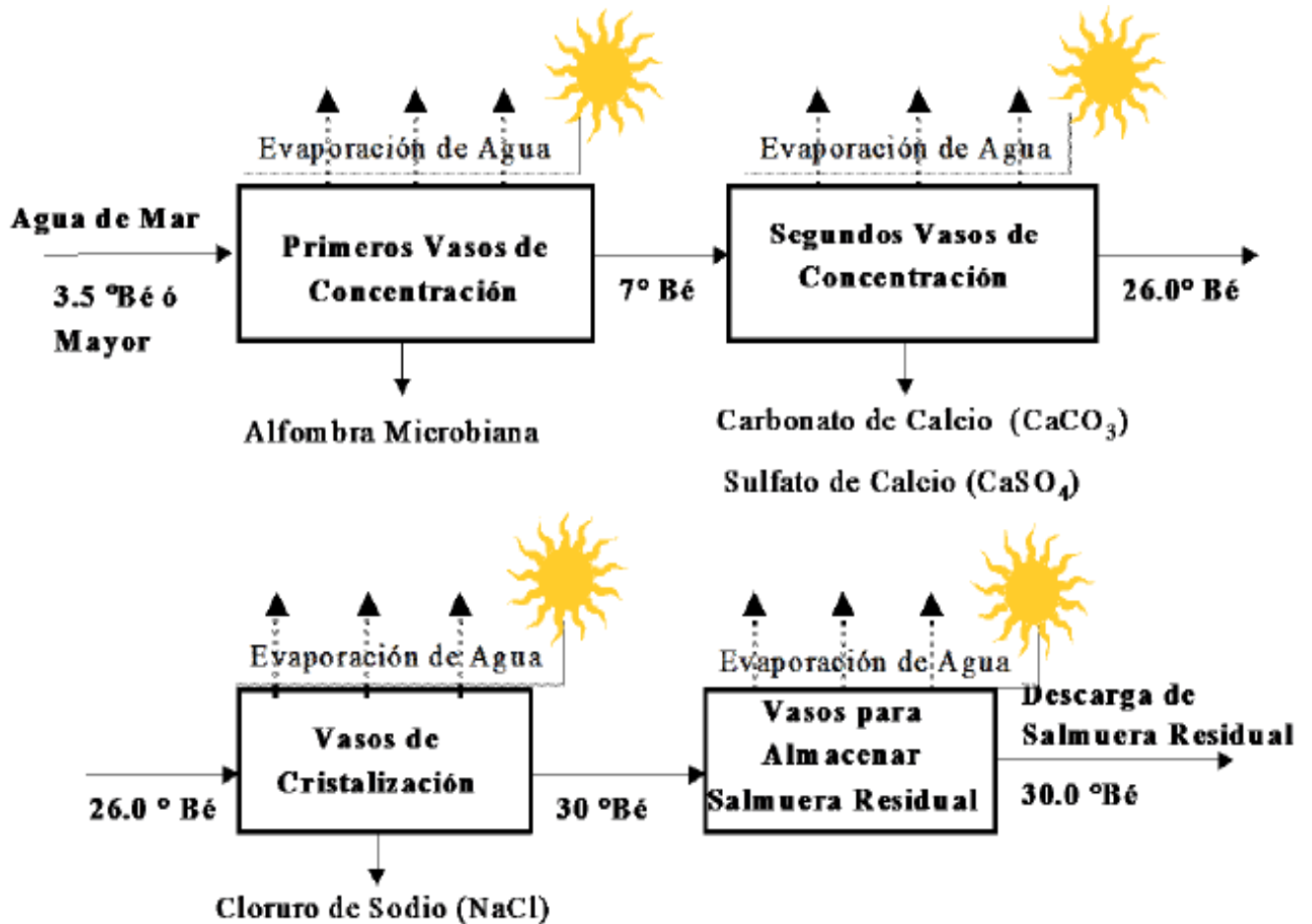


Figura 12. Obtención de cloruro de sodio por evaporación solar (Coordinación General de Minería, 2013).

Otro método de producción es a partir de salmueras, el cual sigue las operaciones unitarias descritas en la figura 13.



Figura 13. Diagrama de flujo de proceso para la obtención de sal utilizando salmueras (Sal La Fina, 2011).

Se observa que el agua es inyectada al domo de sal para así obtener la salmuera que pasará por las etapas de evaporación y secado.

4. PROPIEDADES DEL CLORURO DE SODIO COMO CONSERVADOR DE ALIMENTOS

Desde tiempos remotos se observó que al agregar sal en algunos alimentos a determinadas concentraciones, ésta puede funcionar como un aditivo para su conservación; debido a una disminución en la actividad acuosa (a_w) del alimento con el consecuente cambio en la presión osmótica de las células bacterianas. De tal forma que evita el desarrollo de microorganismos, dentro de los que se encuentran las bacterias patógenas y de descomposición.

El contenido de humedad en un alimento es un factor determinante para el crecimiento de los microorganismos, esta disponibilidad de agua se representa por el a_w . Dicho valor se reduce a medida que aumenta la concentración de solutos en el medio acuoso. Para determinar este valor se utilizan la presión de vapor de agua en el alimento (p) entre la presión de vapor del agua pura (p_0), ambas a la misma temperatura (Castillo y Andino, 2010).

$$a_w = p/p_0$$

En la Tabla 6 se presentan los valores de a_w de algunos alimentos con los microorganismos que se pueden desarrollar en estas condiciones.

Tabla 6. Potencial de crecimiento de microorganismos en alimentos a diferentes valores de a_w . (Castillo y Andino, 2010 ; Madigan, et al., 2006 ; Fennema, 2000)

Intervalo de a_w	Microorganismos inhibidos por el a_w mínimo del intervalo	Alimentos dentro de este intervalo de a_w
1.00 – 0.95	<i>Pseudomonas, Escherichia, Proteus, Shigella, Bacillus, Clostridium perfringens,</i> algunas levaduras.	Alimentos altamente perecederos (frescos), frutas, hortalizas, carne, pescado y leche enlatados; salchichas cocidas y panes; alimentos que contienen hasta 7% (p/p) de cloruro sódico o 40% de sacarosa. Agua de mar.
0.95 – 0.91	<i>Salmonella, Vibrio parahaemolyticus, Clostridium botulinum, Serratia, Lactobacillus,</i> algunos mohos, levaduras (<i>Rhodotorula, Pichia</i>).	Algunos quesos (Cheddar, suizos, Muenster, Provolone), carnes curadas (jamón), algunos jugos concentrados de frutas, alimentos que contienen hasta un 12% (p/p) de cloruro sódico o 55% de sacarosa.
0.91 – 0.87	Muchas levaduras (<i>Candida, Torulopsis, Hansenula</i>) <i>Micrococcus</i>	Embutidos (salami), tartas esponjosas, quesos secos, margarina, alimentos que contienen hasta 15% (p/p) de cloruro sódico o saturados de sacarosa (65%).

Tabla 6 (cont). Potencial de crecimiento de microorganismos en alimentos a diferentes valores de a_w . (Castillo y Andino, 2010 ; Madigan, et al., 2006 ; Fennema, 2000)

Intervalo de a_w	Microorganismos inhibidos por el a_w mínimo del intervalo	Alimentos dentro de este intervalo de a_w
0.87 – 0.80	La mayoría de las bacterias halofílicas, aspergilos micotoxigénicos.	Confituras, mermeladas, mazapán, frutas glaseadas, algunos confites (nubes).
0.75 – 0.65	Mohos xerofílicos (<i>Aspergillus chevalier</i> , <i>A. candidus</i> , <i>Wallemia sebi</i>), <i>Saccharomyces bisporus</i> .	Hojuelas de avena con 10% de contenido de humedad; turrone granulados, dulce de azúcar, confite (nubes), gelatina, melazas, azúcar de caña sin refinar, algunas frutas desecadas.
0.65 – 0.60	Levaduras osmofílicas (<i>Saccharomyces rouxii</i>), algunos mohos (<i>Aspergillus echinulatus</i> , <i>Monascus bisporus</i>)	Frutas desecadas con contenido de humedad de 10 – 15%, caramelos y miel.
0.60 – 0.50	No hay proliferación microbiana.	Pasta con contenido de humedad del 12%, especias con contenido de humedad del 10%.
0.50 - 0.40	No hay proliferación microbiana.	Huevos enteros en polvo con un contenido de humedad del 5%.

Tabla 6 (cont.). Potencial de crecimiento de microorganismos en alimentos a diferentes valores de a_w . (Castillo y Andino, 2010 ; Madigan, *et al.*, 2006 ; Fennema, 2000)

Intervalo de a_w	Microorganismos inhibidos por el a_w mínimo del intervalo	Alimentos dentro de este intervalo de a_w
0.40 – 0.30	No hay proliferación microbiana.	Bizcochos, galletas, cortezas de pan, etc. Con un contenido en humedad del 3 – 5%.
0.30 – 0.20	No hay proliferación microbiana.	Leche entera en polvo con un contenido en humedad del 2 – 3%, hortalizas desecadas con un contenido de humedad del 5%; hojuelas de maíz con un contenido de humedad del 5%; bizcochos y galletas estilo campestre.

Dentro de los métodos de conservación de los alimentos en los que se presenta la disminución del a_w se encuentran las operaciones de deshidratación, el salado y el curado.

La deshidratación, es un método de conservación utilizado desde la antigüedad que se realiza con la finalidad de reducir la cantidad de agua libre del alimento por aplicación de calor, y de este modo provocar un descenso en el valor de a_w y cambios de la presión osmótica (Castillo y Andino, 2010).

El salado consiste en añadir sal al alimento, provocando como resultado una deshidratación de las células, como se muestra en la Figura 21. Mientras que el curado se define como la agregación de sales y especias al alimento. En ambos casos, por el aumento de solutos, hay una disminución de a_w en el producto. Un ejemplo de un producto salado es el bacalao y de productos curados se encuentran los jamones españoles.

5. ASPECTOS BÁSICOS DE LAS BACTERIAS HALÓFILAS

Hay diversos microorganismos que toleran ambientes con altas presiones osmóticas y disminución de a_w . En este trabajo se tratará lo relacionado con las bacterias.

Una bacteria es una célula procariota, en la figura 14 se presenta un ejemplo en el que se señala su estructura básica. La presencia de flagelos y la composición de la pared celular son características que sirven para clasificar e identificar a las bacterias (Madigan, *et al.*, 2006). En la figura 15 se presentan los dos tipos de pared celular que pueden presentar las bacterias: Gram positivo y Gram negativo.

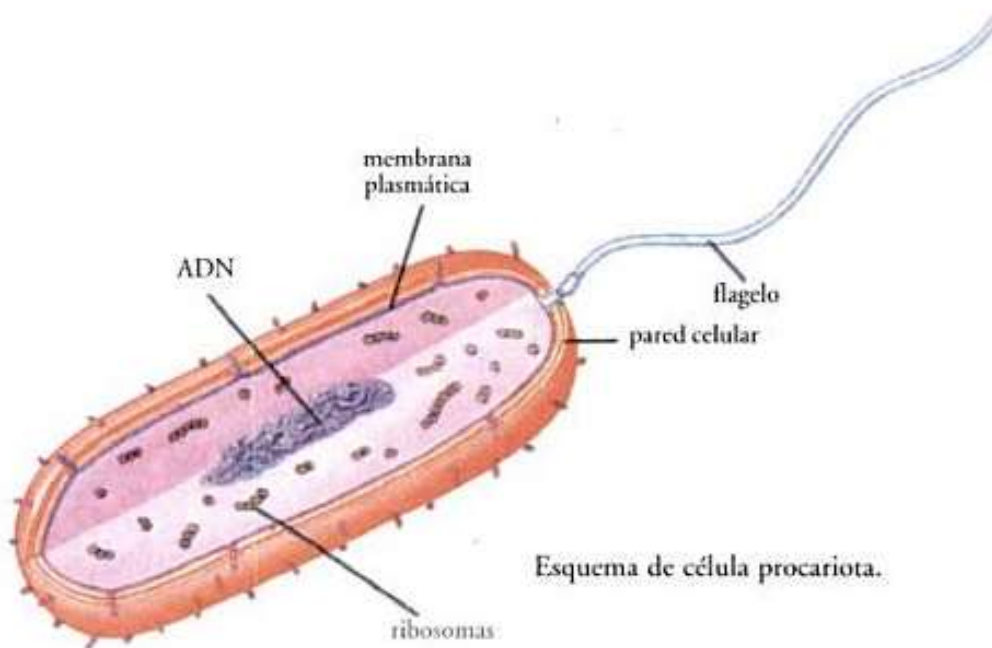
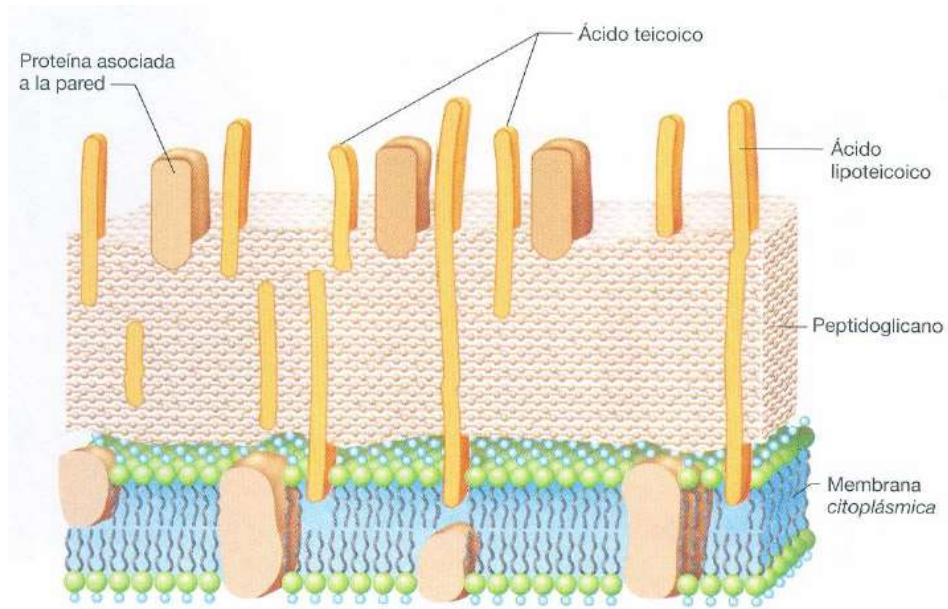
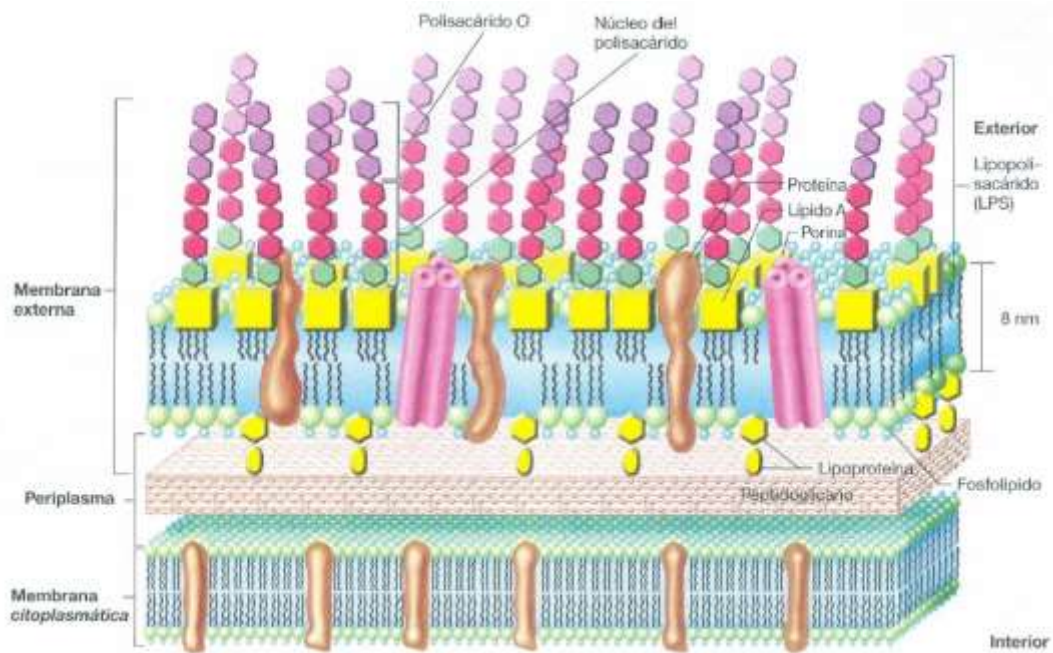


Figura 14. Estructura de células procariotas (Madigan, *et al.*, 2006).



a) Gram positivo



b) Gram negativo

Figura 15. Tipos y composición de pared celular de bacterias. a) Gram positivo,

b) Gram negativo (Madigan, et al., 2006).

5.1 Factores que influyen en el desarrollo de los microorganismos

Los diversos factores que influyen en el desarrollo de bacterias son el oxígeno, el pH, la temperatura y la presión osmótica.

Esto se debe a que cada bacteria se desarrolla a determinadas atmósferas las cuales pueden ser en ausencia o presencia de oxígeno; en cuanto a otros factores se puede ver favorecido a cierto rango de temperatura y pH. El factor de mayor relevancia para las bacterias halófilas es la presión osmótica, de la cual a continuación se habla más ampliamente.

5.1.1 Efectos de la presión osmótica

Dentro del grupo de microorganismos que soportan cambios en su presión osmótica y concentraciones altas de solutos se encuentran 3 grupos principales: osmófilos, xerófilos y halófilos.

5.1.1.1 Osmófilos

Estos microorganismos se caracterizan por desarrollarse en ambientes con presión osmótica alta, lo cual puede ser por la adición de cualquier tipo de soluto. Dentro de este grupo se encuentran principalmente las levaduras. (Castillo y Andino, 2010). Sin embargo se han encontrado bacterias capaces de desarrollarse en estas condiciones. Algunos ejemplos son *Staphylococcus* y *Leuconostoc*.

5.1.1.2 Xerófilos

Son aquellos que tienen la capacidad de crecer a valores de a_w menores de 0.85, soportando ambientes secos. En esta clasificación se encuentran bacterias, mohos y levaduras (Castillo y Andino, 2010 ; Ramírez, *et al.*, 2006). Algunas bacterias que conforman este grupo son *Metallogenium* y *Pedomicrobium* (Ramírez, *et al.*, 2006).

5.1.1.3 Halófilos

Este grupo se diferencia por la necesidad de cloruro de sodio en el ambiente para su desarrollo, el cual se conforma principalmente por bacterias y levaduras (Castillo y Andino, 2010).

Los microorganismos halófilos se clasifican de acuerdo al porcentaje de NaCl en el que pueden desarrollarse (figura 16 y 17), como halotolerantes, halófilos obligados y halófilos extremos.

Este último grupo es el de interés para el presente trabajo, por lo que a continuación se hará una descripción más amplia de sus características.

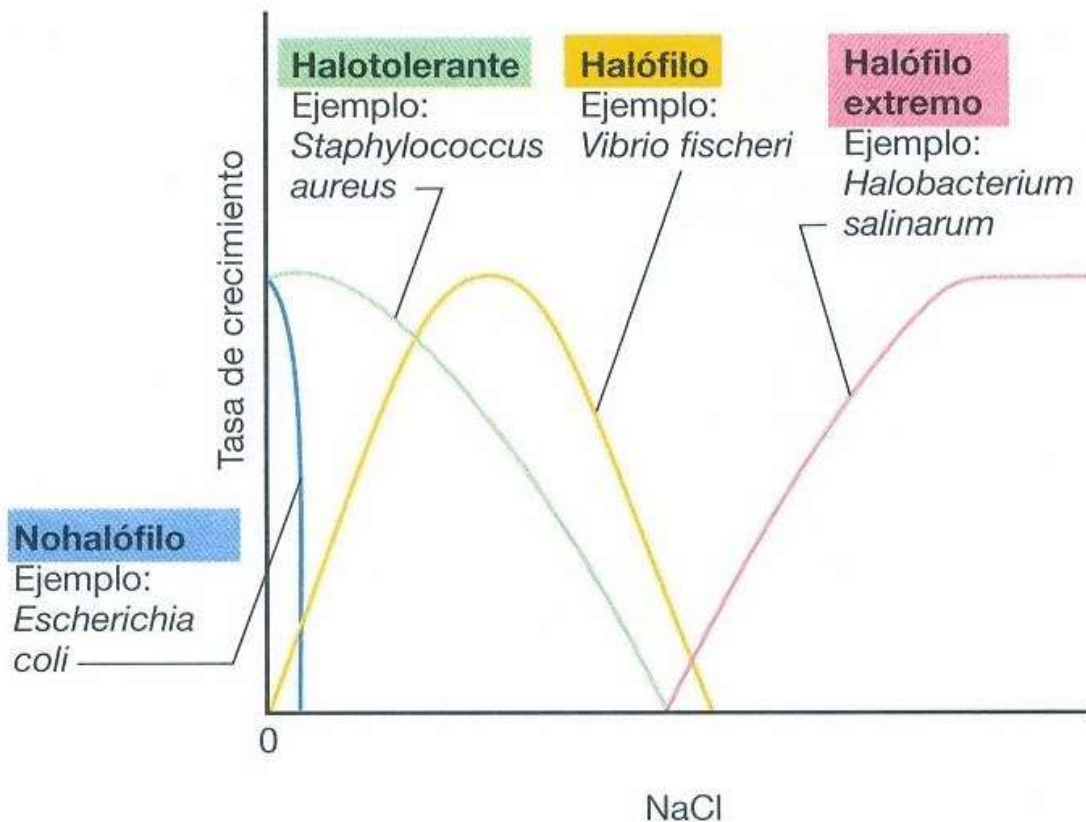


Figura 16. Gráfica de clasificación de microorganismos halófilos (Madigan, et al., 2006).

HALÓFILAS

Facultativa o halotolerante	Obligado	Extremo
<ul style="list-style-type: none"> • Soluciones con o sin NaCl • 0% a 6% NaCl • Ejemplo: <ul style="list-style-type: none"> • <i>Staphylococcus</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Necesidad de NaCl • 6% a 15% NaCl • Ejemplos: <ul style="list-style-type: none"> • <i>Micrococcus halodenitrificans</i> • <i>Vibrio</i> • <i>Pediococcus halophilus</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Soluciones saturadas de NaCl • 15% a 30% NaCl • Ejemplos: <ul style="list-style-type: none"> • <i>Halobacterium</i> • <i>Halococcus</i>

Figura 17. Clasificación de microorganismos halófilos

(Madigan, et al., 2006 ; Stainer, 1996).

En la Tabla 7 se presenta una clasificación de microorganismos halófilos que se encontró en el artículo *Microorganismos extremófilos. Actinomicetos halófilos en México* realizado por Ninfa Ramírez, José Serrano y Horacio Sandoval (Ramírez, et al., 2006), en la cual se dan concentraciones a las cuales se desarrollan éstos.

Tabla 7. Clasificación de microorganismos halófilos (Ramírez, et al., 2006).

Grupo	Concentración de NaCl
Halófilos extremos	Arriba de 20%
Halófilos moderados	10% - 20%
Halófilos débiles	0.5% - 10%
Halotolerantes	Toleran salinidad

Como se puede observar, los porcentajes de sal que se utilizan para su clasificación presentan una variación de un autor a otro, ya que en el caso de la clasificación de Ramírez, *et al.* (2006) divide los halófilos obligados en débiles y moderados.

Estos microorganismos al requerir de determinadas concentraciones de sal para su crecimiento, da como resultado la inhibición de otras bacterias incapaces de soportar altas cantidades de solutos.

5.2 *Mecanismos de resistencia a altas concentraciones de sal*

Las bacterias halófilas requieren de la presencia de iones monovalentes, para tener la estabilidad necesaria en su membrana y poder desarrollarse en estos medios (Madigan, *et al.*, 2006). Se han descrito dos tipos de mecanismos por los cuales los microorganismos se logran adaptar a las condiciones de estrés osmótico; los cuales, de manera general, se basan en la acumulación de diversos compuestos (iónicos y no iónicos) en el citoplasma para de este modo equilibrar la presión osmótica del medio externo; dando como resultado la adaptación de las proteínas y compuestos celulares.

El uso de dos diferentes tipos de compuestos da origen a dos mecanismos llamados *salt-in* y *salt-out*. El primer caso, *salt-in*, se define por la acumulación de iones inorgánicos como el K^+ y el Cl^- . Mientras que para el segundo caso, *salt-out*, se acumulan compuestos orgánicos que tengan un bajo peso molecular también llamados solutos compatibles, entre los que se encuentran las azúcares y los aminoácidos. El tipo de mecanismo a utilizar depende del microorganismo. El *salt-in* es utilizado por bacterias halófilas moderadas u obligadas; mientras que el mecanismo *salt-out* lo pueden usar las bacterias halófilas como las no halófilas (Ramírez, *et al.*, 2006).

Un mecanismo que sirve para conservar los alimentos debido a cambios de presión osmótica que conllevan la muerte celular es la plasmólisis; en la cual pasa el líquido a través de la membrana de la bacteria pasando de la solución menos

concentrada a la de mayor concentración hasta llegar a un equilibrio. En la figura 18 se ejemplifica el fenómeno.

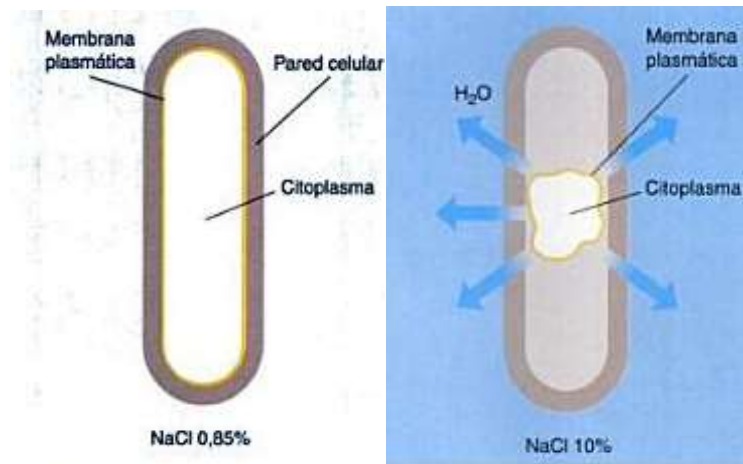


Figura 18. Célula en una solución al 0.85% de NaCl y al 10% de NaCl (Tortora, et al., 2007).

Además, también son esenciales los tipos de transporte a través de la membrana, los cuales se presentan en la Tabla 8.

Tabla 8. Mecanismos de transporte de iones (Alberts, et al. 2008)

PROTEÍNA TRANSPORTADORA	LOCALIZACIÓN	FUNCIÓN
Intercambiador de Na ⁺ e H ⁺	Membrana plasmática de células animales	Egreso activo de iones H ⁺ , regulación de pH
Bomba de Na ⁺ y K ⁺	Membrana plasmática de la mayor parte de células animales.	Egreso activo de Na ⁺ e ingreso de K ⁺
Bomba de H ⁺	Membrana de células vegetales, hongos y algunas bacterias.	Egreso activo de H ⁺ hacia el exterior de la célula.

Como se puede ver en la Tabla 8 y la figura 19, hay diferentes tipos de proteínas transportadoras. Para ejemplificar esto se puede observar que el intercambiador

de Na^+ e H^+ y la bomba Na^+ y K^+ es de tipo antiportador y la bomba de hidrógeno es a través de una proteína uniportadora.

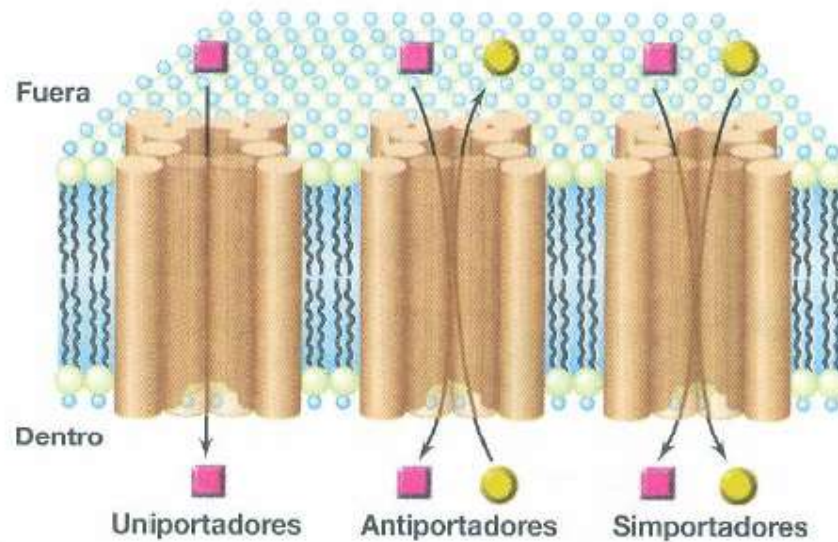


Figura 19. Esquema de proteínas transportadoras (Madigan, et al., 2006).

6. TÉCNICAS MOLECULARES DE IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS

Una opción para identificar las bacterias aisladas es la aplicación de diferentes técnicas moleculares entre las que se encuentran las mencionadas en la Tabla 9.

Tabla 9. Técnicas moleculares de identificación de bacterias aisladas.

Técnica	Referencia
PCR – DGGE	Abriouel, et al., 2011
PCR – RFLP	Kimura, et al., 2001
PCR- Secuenciación por SEQMAN	Kim M – S., et al., 2010
PCR – TGGE	Cocolin, et al., 2000

La técnica de PCR (Reacción en cadena de la polimerasa) consiste en la replicación del material genético extraído de las células a partir del uso de cebadores y una ADN polimerasa. Las 3 principales etapas de la reacción de PCR son desnaturalización, unión o apareamiento y extensión o síntesis.

En la etapa de desnaturalización se calienta el ADN con una mezcla compuesta de Taq polimerasa, ión magnesio, dNTP's y los cebadores a una temperatura de 95°C para la separación de las dos cadenas. Para el apareamiento de las cadenas con los cebadores hay una disminución de temperatura hasta 40°C a 50°C para que los cebadores se unan con las cadenas de ADN por la formación de puentes de hidrógeno. Finalmente, en la síntesis se aumenta la temperatura a 72°C y la Taq polimerasa actúa como catalizador para la adición de nucleótidos complementarios al ADN molde (Mc Murry, 2008; Somma y Querci, 2007). En la figura 20 se observa un esquema de la reacción de PCR.

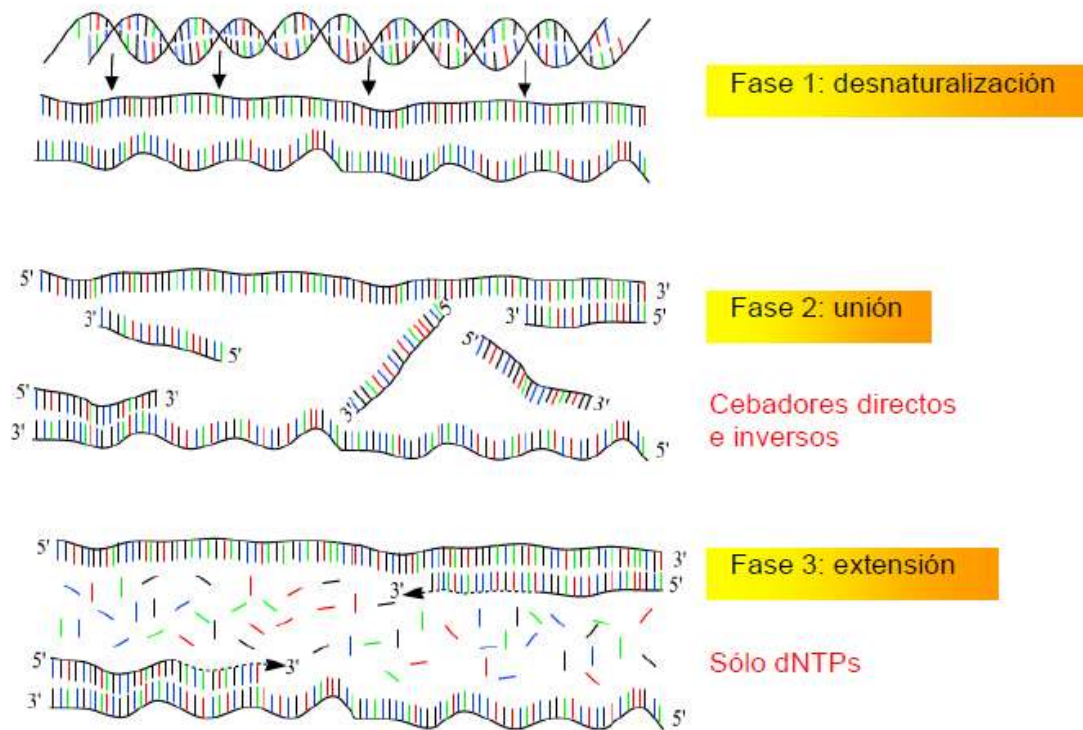
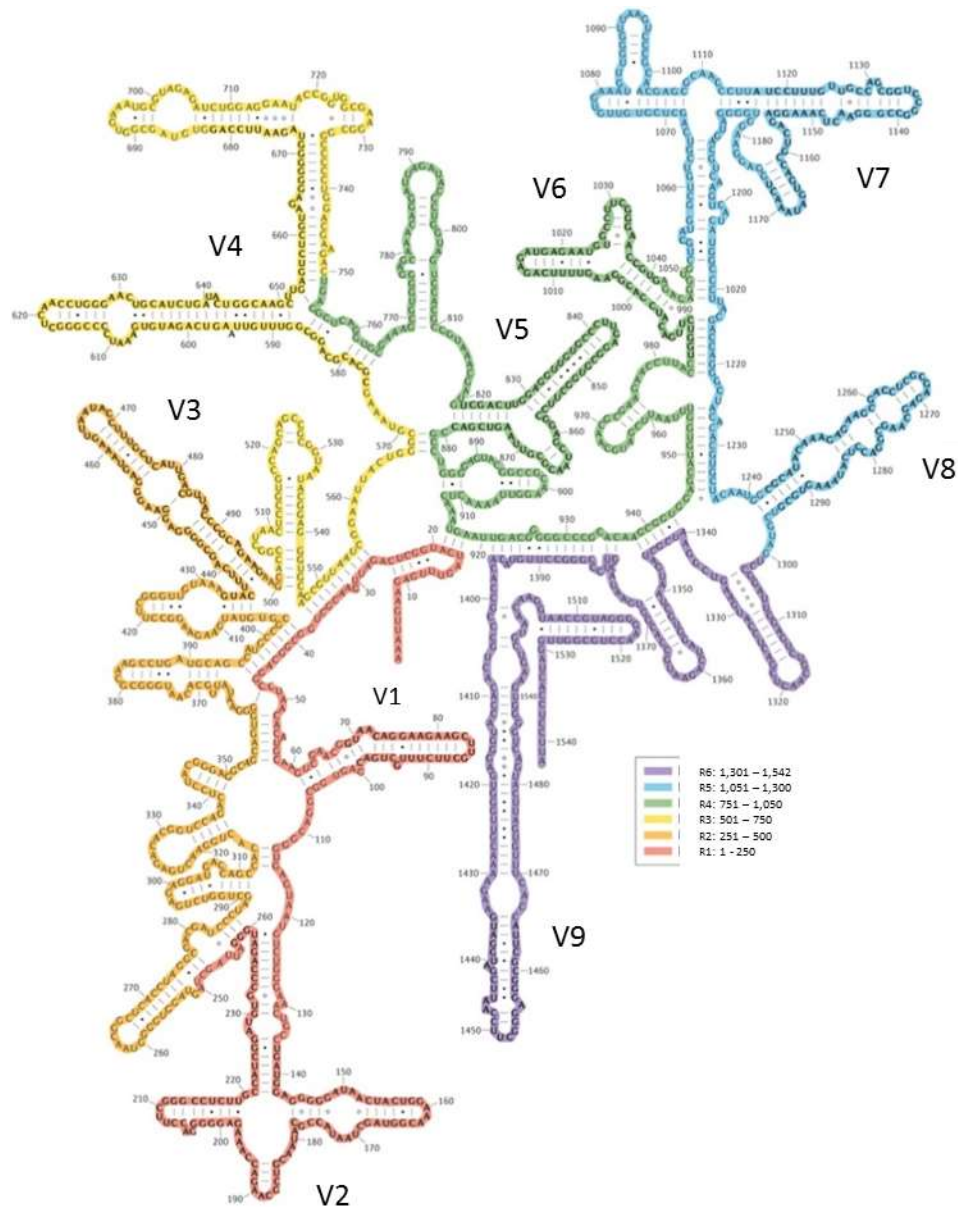


Figura 20. Esquema de la reacción de PCR (Somma y Querci, 2007).

Para la identificación de microorganismos se utiliza la región 16S del RNA ribosomal debido a que contiene regiones más conservadas a lo largo de la evolución de los microorganismos, por lo que las variables que se presentan sirven para discriminar entre especies del mismo género (Beaz, *et al.*, 2012). En la figura 21 se muestra una representación gráfica de las regiones del gen 16S.



Nature Reviews | Microbiology

Figura 21. Regiones del gen 16 S (Rodicio y Mendoza, 2004 ; Yarza, *et al.*, 2014).

En cuanto a los productos obtenidos de la reacción de PCR estos son analizados por diferentes técnicas, como lo son DGGE, TGGE y RFLP.

En la técnica de DGGE uno de los cebadores utilizados debe contar con una grapa de guanina – citosina (GC), la cual tiene una longitud de 30 a 50 nucleótidos para que, de esta manera, se evite la separación total de la cadena de ADN duplicada (Cocolin, *et al.*, 2000; Muyzer y Smalla, 1998).

La electroforesis en gel con gradiente desnaturalizante, DGGE por sus siglas en inglés, se utiliza para separar ácidos nucleicos en cadena doble con tamaños similares, pero secuencias diferentes. Para su realización se preparan geles de acrilamida utilizando como sustancias desnaturalizantes urea y formamida, que se manejan a dos concentraciones diferentes para formar el gradiente. Las concentraciones a utilizar dependerán del rango en que se puedan observar las bandas claramente separadas (Palacios y Chassin-Noria, 2010).

El fundamento de esta técnica se basa en la temperatura a la que el 50% de las moléculas de ADN están unidas por puentes de hidrógeno, éste es conocido como T_m . Por lo que el patrón de desnaturalización depende de la secuencia de bases nitrogenadas por las que se compone la doble cadena. La velocidad de migración en los fragmentos desnaturalizados es menor en comparación de la velocidad de migración la doble cadena (Palacios y Chassin-Noria, 2010).

Existen dos tipos de geles (figura 22):

- Perpendicular
- Paralelo

El perpendicular sirve para determinar el gradiente óptimo para la separación de las bandas y el paralelo se usa cuando ya se conocen las concentraciones de las sustancias desnaturalizantes (Muyzer y Smalla, 1998) y se van a separar las bandas de interés. Posteriormente estas bandas se pueden secuenciar para conocer la identidad de los individuos que están en la comunidad determinada.

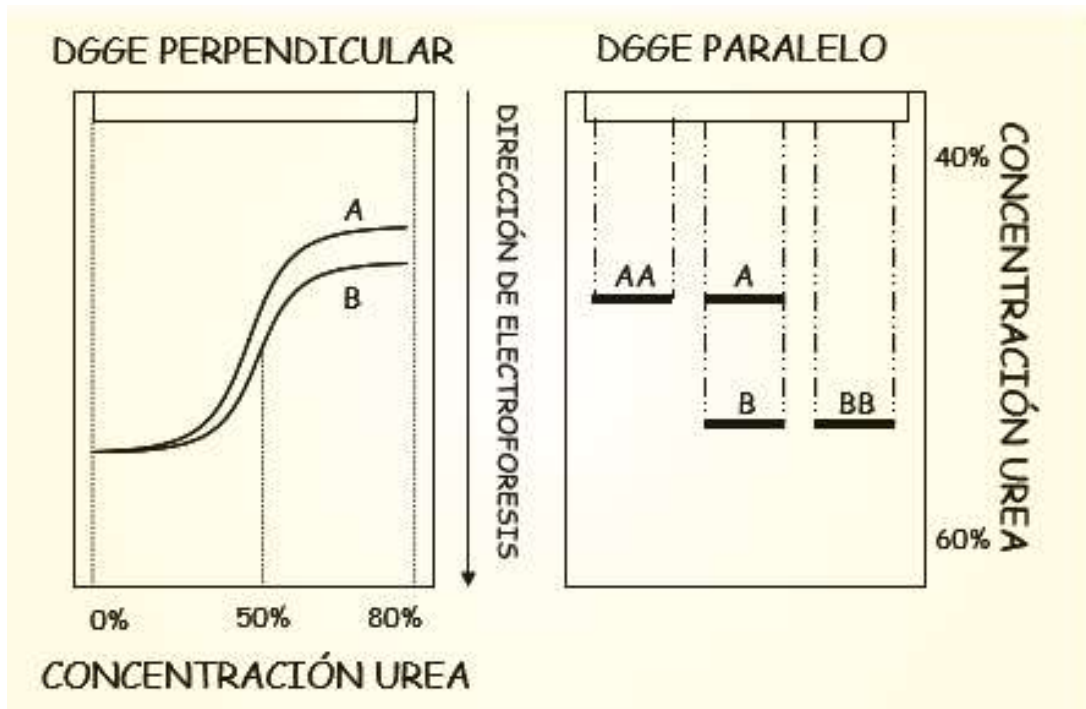


Figura 22. Tipos de geles de la técnica DGGE (Palacios y Chassin-Noria, 2010).

La técnica de TGGE es similar al DGGE, con la diferencia de que el factor constante es la concentración de desnaturalizantes y varía la temperatura a lo largo del experimento. Por lo que se basa en la disminución de la movilidad electroforética de los fragmentos de ADN en comparación con la cadena doble en el gel de poliacrilamida (Cocolin, *et al.*, 2000).

En cuanto al RFLP (Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción) tiene como fundamento la presencia de sitios de restricción en el ADN cromosomal que son identificados por endonucleasas, las cuales son enzimas de origen bacteriano que reconocen e hidrolizan determinadas secuencias de nucleótidos del ADN. Dichos fragmentos tienen diferentes longitudes dependientes de los sitios de reconocimiento de las endonucleasas, lo cual implica la presencia del polimorfismo en las secuencias por la ausencia o presencia de los sitios de restricción (Reece y Hobbins, 2010).

La finalidad es detectar diferencias específicas en las secuencias de nucleótidos del ADN. La primera parte para la realización de esta técnica es el PCR, del cual se obtienen los productos que son sometidos a las endonucleasas de restricción. Posteriormente, para visualizar las bandas que obtenidas se pueden preparar geles de agarosa o poliacrilamida y teñirlos por las metodologías de las tinciones de bromuro de etidio o de plata, respectivamente (Campbell y Reece, 2007; Palacios y Chassin-Noria, 2010). Finalmente se comparan los patrones de restricción con las cepas de referencia.

Por último, la secuenciación por SEQMAN consiste en la secuenciación el genoma completo de un microorganismo. Posteriormente, dichas secuencias se ensamblan “de novo” o tomando como base una referencia a través de la comparación por métodos bioinformáticos contra bases de datos. También se pueden comparar secuencias más pequeñas, como la del gen ribosomal 16S a través del algoritmo BLAST (Basic Local Alignment Search Tool). El BLAST es uno de los recursos informáticos del *National Center of Biotechnology Information* (NCBI). La secuenciación es una actividad complementaria a las técnicas mencionadas anteriormente para la identificación de microorganismos de acuerdo al porcentaje de similitud de la secuencia de bases nucleotídicas de la cadena amplificada (Dorado G., 2015).

7. MICROBIOLOGÍA DEL AGUA EN LAS ZONAS PRODUCTORAS DE SAL.

Varios científicos han realizado investigaciones en diversas zonas salinas con el fin de conocer los microorganismos que habitan estos ecosistemas extremos, así como la presencia de bacterias en las especies animales marinas que habitan ahí.

Las áreas hipersalinas se ubican en ambientes calientes y secos. En dichas zonas la concentración de cloruro de sodio pueden ser de 2 M hasta 5 M (Ramírez, *et al.*, 2006). Como dato general se sabe que el agua de mar tiene de 3.2% a 3.8% de cloruro de sodio, con un valor de a_w de 0.980 (Madigan, *et al.*, 2006 ; Ishikawa, *et al.* 2003).

7.1 Microorganismos del mar y zonas salinas

En cuanto a los estudios realizados sobre los microorganismos presentes en algunas zonas salinas que se han investigado, se han encontrado los que se presentan en la Tabla 10.

Tabla 10. Microorganismos presentes en agua de mar y zonas salinas.

Microorganismo	Origen	Ubicación	Referencia
<i>Bacillus licheniformis</i> <i>Proteus</i> sp. <i>Pseudomonas</i> <i>Halococcus</i> sp. <i>Rhodococcus</i> <i>Enterobacter</i> <i>Acinetobacter</i> <i>Kocuria marina</i>	Agua salada de estanque de condensación	India	Sarafin, <i>et al.</i> , 2014
<i>Bacillus</i> sp.	Agua salada de región salina	India	Sarafin, <i>et al.</i> , 2014
<i>Virgibacillus</i> sp.			Sarafin, <i>et al.</i> , 2014 Yoon J.-H., <i>et al.</i> , 2002
<i>Lentibacillus salicampi</i> <i>Salinobacillus</i> <i>Gracilibacillus</i> <i>Halobacillus</i>	Campo de sal (Mar Amarillo)	Korea	Yoon J.-H., <i>et al.</i> , 2002
<i>Marinilactibacillus psychrotolerans</i>	Restos de organismos marinos.	Japón	Ishikawa, <i>et al.</i> , 2003
<i>Marinilactibacillus</i>	Ecosistemas acuáticos y restos de organismos marinos		Ishikawa, <i>et al.</i> , 2007
<i>Halolactibacillus</i>			Ishikawa, <i>et al.</i> , 2005
<i>Alkalibacterium</i>			Ishikawa, <i>et al.</i> , 2009

Los medios de cultivo utilizados para el aislamiento de estas bacterias se presentan en la Tabla 11 con sus componentes principales y la cantidad de sal agregada.

Tabla 11. Medios de cultivo para aislamiento de bacterias halófilas.

Medio	Composición (por litro de medio preparado)	Referencia
Agar nutritivo	5, 10 y 15% NaCl 3 g de extracto de carne, 5 g de peptona, 15 g de agar.	Sarafin, <i>et al.</i> , 2014
Caldo Marino (Zobell)	pH 7.6 5 g de digerido péptico de tejido animal, 1.0 g de extracto de levadura, 0.1 g de citrato férrico, 19.45 g de NaCl, 8.8 g de MgCl ₂ , 3.24 g de Na ₂ SO ₄ , 1.8 g de CaCl ₂ , 0.55 g de KCl, 0.16 g de NaHCO ₃ , 0.080 g KBr, 0.034 g de SrCl ₂ , 0.022 g de H ₃ BO ₃ , 0.004 g de silicato de sodio, 0.0024 g de NaF, 0.0016 g de NH ₄ NO ₃ , 0.008 g de Na ₂ HPO ₄ .	Sarafin, <i>et al.</i> , 2014
Agar Marino (Zobell)	pH 7.6, 8.0 5.0 g de peptona, 1.0 g de extracto de levadura, 0.1 g de citrato férrico, 19.45 g de NaCl, 8.8 g de MgCl ₂ , 3.24 g de Na ₂ SO ₄ , 1.8 g de CaCl ₂ , 0.55 g de KCl, 0.16 g de NaHCO ₃ , 0.08 g de KBr, 0.034 g de SrCl ₂ , 0.022 g de H ₃ BO ₃ , 0.004 g de silicato de sodio, 0.0024 g de NaF, 0.0016 g de NH ₄ NO ₃ , 0.008 g de Na ₂ HPO ₄ , 15 g de agar.	Sarafin, <i>et al.</i> , 2014 Jung, <i>et al.</i> , 2010 Kim M.-S., <i>et al.</i> , 2010 Yoon, <i>et al.</i> , 2002
GYPB (Glucosa levadura peptona y extracto de carne)	pH 10.0 13 g de agar y 70 g de NaCl, 5 g de extracto de levadura, 5 g de extracto de carne, 5 g de peptona Universal M66, 10 g de glucosa, buffer (0.5 g K ₂ HPO ₄ , 8.4 g NaHCO ₃ , 2 g CaCO ₃ , 1 g NH ₄ SO ₄ , 12 mg MgSO ₄ 7H ₂ O, 10 mg MnSO ₄ H ₂ O, 10 mg FeSO ₄ 7H ₂ O)	Ishikawa, <i>et al.</i> , 2003 Ishikawa, <i>et al.</i> , 2007

Tabla 11 (cont.). Medios de cultivo para aislamiento de bacterias halófilas.

Medio	Composición (por litro de medio preparado)	Referencia
XYP (Xilosa levadura y peptona)	5 g de peptona, 5 g de extracto de levadura, 1.0 g de K ₂ HPO ₄ , 0.2 g de MgSO ₄ 7H ₂ O, 1 g de xilosa, 15 g de agar.	Mwirichia, <i>et al.</i> , 2010
TS (caldo)	3.5% NaCl Bacto agar y carbonato.	Mwirichia, <i>et al.</i> , 2010
MRS	18 g de medio peptona, 4 g de extracto levadura, 20 g de glucosa, 1.0 ml de Tween 80, 2.0 g de K ₂ HPO ₄ , 2.0 g de fosfato dipotásico, 3.0 g de CH ₃ COONa, 0.2 g de MgSO ₄ 7H ₂ O, 0.034 g de MgSO ₄ , 12.0 g de agar.	Abriouel, <i>et al.</i> , 2011 Delgado, 2013 Kimura, <i>et al.</i> , 2001 Yu, <i>et al.</i> , 2012
TSA	pH 6 - 7 15 g de digerido pancreático de caseína, 5.0 g de digerido pancreático de harina de soya, 5.0 g de NaCl, 15 g de agar.	Abriouel, <i>et al.</i> , 2011
Medio para halobacterias	5.0 g de extracto de levadura, 5.0 g de Casamino ácidos, 1.0 g glutamato de sodio, 2.0 g de KCl, 3.0 g de citrato trisodico, 20.0 g de MgSO ₄ 7H ₂ O, 200.0 g NaCl, 36.0 mg de FeCl ₂ 4H ₂ O, 0.36 mg de MnCl ₂ 4H ₂ O, 20.0 g de agar.	Jung, <i>et al.</i> , 2010
GYPFSK (Glucosa levadura peptona extracto de pescado)	pH 7.5 10 g de glucosa, 5 g de extracto de levadura, 5 g de polipeptona, 5 g de extracto de Bonito*, 50 ml salsa de soya, 10 g de K ₂ HPO ₄ , 1 g de tioglicolato de sodio, 5 g de CaCO ₃ , 10 mg ciclohexamida.	Ishikawa, <i>et al.</i> , 2007
GYPF (Glucosa levadura peptona pescado)	pH 8.5 – 9.5 10 g de glucosa, 5 g de extracto de levadura, 5 g de polipeptona, 5 g de extracto de Bonito, 1 g de K ₂ HPO ₄ , 25 g de NaCl, 1 g de tioglicolato de sodio, 12 g de NaCO ₃ , 3 g de NaHCO ₃ .	Ishikawa, <i>et al.</i> , 2007

Tabla 11 (cont.). Medios de cultivo para aislamiento de bacterias halófilas.

Medio	Composición (por litro de medio preparado)	Referencia
CRBM (Cheese Ripening Bacteria Media)	<p>pH 7.3</p> <p>1.5% a 2% de D-L lactato de sodio con o sin glucosa al 0.5%, 1% de triptopeptona de caseína con o sin extracto de levadura (0.7%), 0.1% de Tween 80, 0% a 7% de NaCl, soluciones buffer 50 mmol/L de Tris, 50 mmol/L de maleato Tris, 50 y 200 mmol/L de CaCO₃, 15 y 29 mmol/L de K₂HPO₄, 15 mmol/L de K₂HPO₄ con 0.2% glicerofosfato de sodio, 23 mmol/L de K₂HPO₄ con 0.25% de glicerofosfato de sodio, complejo de vitaminas de Kao y Michayluk al 1% (antes de su uso), MgSO₄ 7H₂O al 0.2% y 0.5%, 0.5 g a 2 g de CaCl₂ 2H₂O por cada 100g o 0.5 g a 0.75 g de CaCO₃ por cada 100g, colina al 0.01%.</p> <p>Para selectividad del medio base (mg/L): 9 y 18 mg de natamicina, 40 y 60 mg de ácido nalidixico, cloruro de litio al 0.5% y 1.5%.</p>	Denis, <i>et al.</i> , 2001
BCP	<p>pH 7.0</p> <p>5.0 g de peptona, 3.0 g de extracto de carne, 10.0 g de lactosa, 0.025 g de púrpura de bromocresol y 15.0 g de agar</p>	Yu, <i>et al.</i> , 2012
Agar Reddy's	<p>5.0 g de digerido péptico de tejido animal, 5.0 g digerido papaínico de harina de soya, 5.0 g extracto de levadura, 5.0 g de extracto de carne, 1.5 g de sacarosa, 1.5 g de clorhidrato de L-Arginina, 0.002 g de púrpura de bromo cresol, 10.0 g de celulosa carboximetil de sodio, 10.0 g de citrato de sodio, 15.0 g de agar</p>	Smid, <i>et al.</i> , 2014
TSSY	<p>pH 8.0</p> <p>1.7% de peptona tripticasa, 0.3% peptona fitona, 0.1% de levadura, 3.0% NaCl, 0.2% agar.</p>	Satomi, <i>et al.</i> , 2004

*Bonito. Pez del Pacífico.

** Complejo de vitaminas de Kao y Michayluk. No se describe su composición.

Los medios de la Tabla 11 se utilizaron en diversos estudios para el aislamiento de bacterias halófilas de diferentes tipos de muestras. Se puede observar que hay medios de preparación sencilla hasta medios complejos; esto se debe a la gran cantidad de componentes que tienen, como es el caso del CRBM (Cheese Rippening Bacteria Media).

La complejidad de los medios de cultivo a utilizar se debe a la misma diversidad de compuestos del medio natural en el que se desarrollan las bacterias halófilas. Algunos medios como el TSA y el MRS fueron adaptados con la adición de sal para ayudar al crecimiento de bacterias halófilas. Mientras que para los medios como GYPF y GYPFSK, dentro de los compuestos a resaltar, se encuentra el extracto de Bonito o de pescado como una fuente de nitrógeno; el cual se encuentra en el agua de mar como desechos del ecosistema.

Las condiciones de cultivo utilizadas por cada investigador para las bacterias identificadas en las zonas salinas se mencionan en la Tabla 12.

Tabla 12. Condiciones de cultivo de bacterias identificadas en zonas salinas.

Microorganismo	Condiciones (°C y días)	Referencia
Virgibacillus sp. Lentibacillus salicampi Salinobacillus Gracilibacillus Halobacillus	30°C , 7 días	Yoon, <i>et. al.</i> , 2002
Marinilactibacillus psychrotolerans	Caldo 30°C, 3 días Agar 30°C, 2 días	Ishikawa, <i>et al.</i> , 2003
Alkalibacterium	GYPF (Anaerobiosis) 1. 30°C, 3 días 2. 30°C, 2 días GYPFSK 1. 25°C, 21 días 2. 25°C, 15 días	Ishikawa, <i>et. al.</i> , 2007
Halolactibacillus	GYPB Caldo 1. 30°C, 3 días 2. 30°C, 2 días (anaerobiosis)	Ishikawa, <i>et. al.</i> , 2005

*Todas las condiciones son aerobias, a menos que se especifique lo contrario.

Se puede observar que las condiciones para su cultivo de manera general son a 30°C modificando la atmósfera y los días necesarios para su desarrollo.

8. PRODUCTOS ALIMENTICIOS FERMENTADOS DE ORIGEN VEGETAL

A continuación se describirán algunos productos vegetales fermentados y almacenados en salmueras, sus características y proceso.

8.1 Aceitunas verdes

Éste es un producto fermentado a partir de aceitunas que se caracterizan por tener un sabor amargo. En el artículo de Abriouel y colaboradores del 2011, acerca de la diversidad microbiológica de este producto, se describe de manera breve el proceso de elaboración, el cual se presenta a continuación en la figura 23.

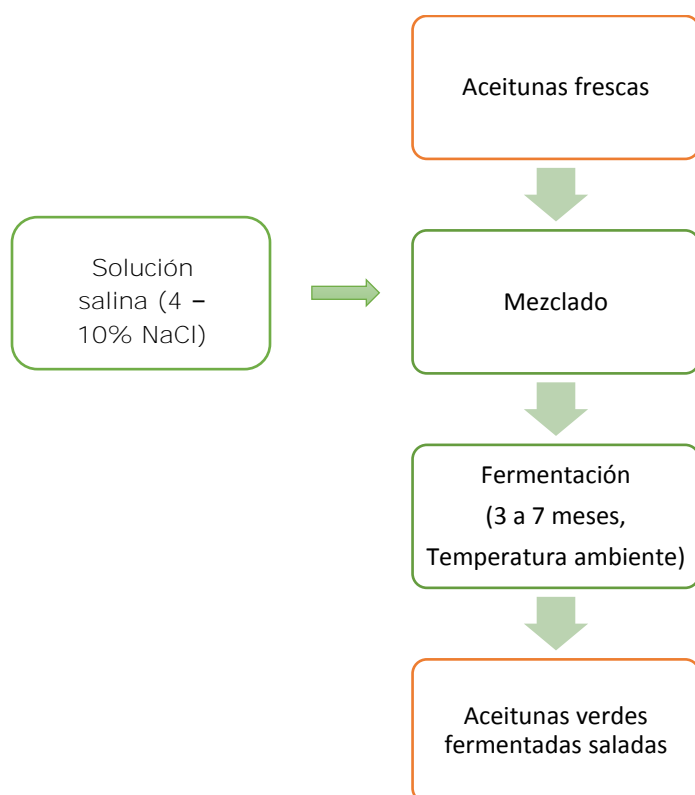


Figura 23. Diagrama de proceso de aceitunas verdes fermentadas (Abriouel, et al., 2011).

A partir del producto final realizaron la inoculación de diferentes medios para el aislamiento (30°C por 5 días en los medios de cultivo MRS y TSA) de bacterias mesófilas aerobias, levaduras, mohos y bacterias ácido lácticas. Posteriormente se hizo un análisis utilizando la técnica de PCR y DGGE para la región V3 del ADNr 16S (Abriouel, *et al.*, 2011). La composición de los medios mencionados se presenta en la Tabla 11.

En cuanto a los microorganismos identificados en las aceitunas fermentadas se encuentran *Pseudomonas spp.*, *Gordonia spp.*, *Pantoea agglomerans*, *Enterobacter sp.*, *Weissella sp.*, *Thalassomonas agarivorans*, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus coryniformis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus vaccinoferus*, *Lactobacillus sibiricus*, *Lactobacillus sp.* y *Pediococcus sp.*

8.2 Encurtido de vegetales fermentado tradicional

Es un producto hecho a base de vegetales fermentados y ligeramente salados que se hace de manera artesanal en la provincia de Sichuan en China. En la figura 24 se presenta el proceso de elaboración del producto.

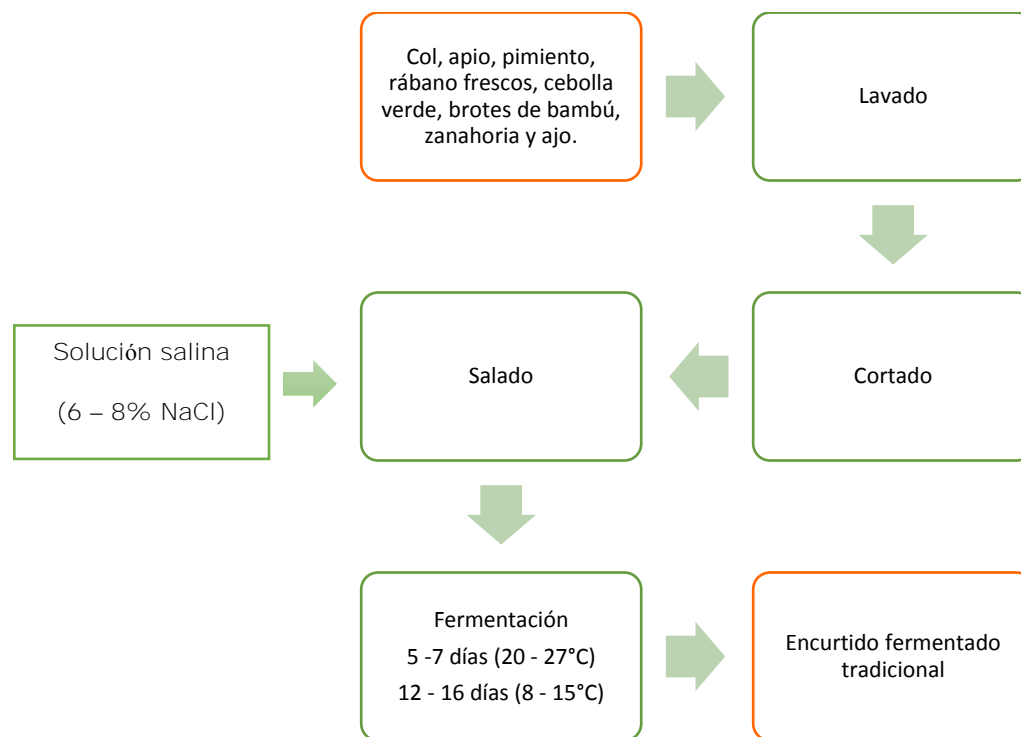


Figura 24. Diagrama de proceso de encurtidos de vegetales fermentados (Yu, *et al.*, 2012).

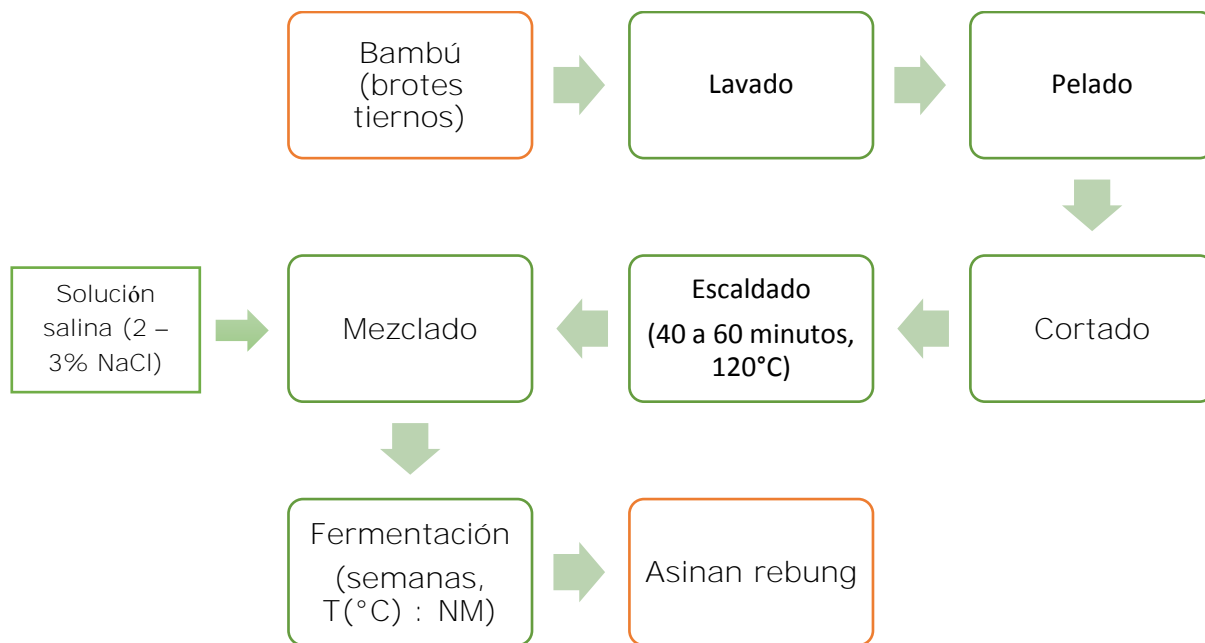
Como se puede observar en el diagrama de proceso, el tiempo de fermentación depende de la temperatura a la cual se lleve a cabo el proceso, debido a que el desarrollo de los microorganismos encargados de la fermentación del producto dependerá de la temperatura a la que se elabore el encurtido.

Se concluyó con la identificación de las siguientes bacterias: *Enterococcus thailandicus*, *Lactobacillus alimentarius*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus spicheri*, *Leuconostoc lactis* y *Pediococcus ethanolidurans*.

Los métodos utilizados para su identificación fueron independientes de cultivo.

8.3 Asinan rebung

Es un producto elaborado a partir de bambú en Indonesia. En la figura 25 se muestra el diagrama de proceso para su elaboración.



NM: Dato no mencionado.

Figura 25. Diagrama de proceso de Asinan rebung (Endo, et al., 2014, Morales, et al., 2013).

En el artículo de título “*Fermentations of East and Southeast Asia*” publicado en el presente año se reporta la presencia de *Lactobacillus plantarum* (Endo, *et al.*, 2014).

En este caso no se menciona el método utilizado para su identificación.

8.4 Suan – tsai

El suan- tsai es un producto fermentado preparado a partir de hojas de mostaza, las cuales son deshidratadas al sol en presencia de sal y posteriormente se deja fermentar por un tiempo de 2 a 3 meses. En la figura 26 se presenta el diagrama de proceso para la fabricación del producto (Endo, *et al.*, 2014).

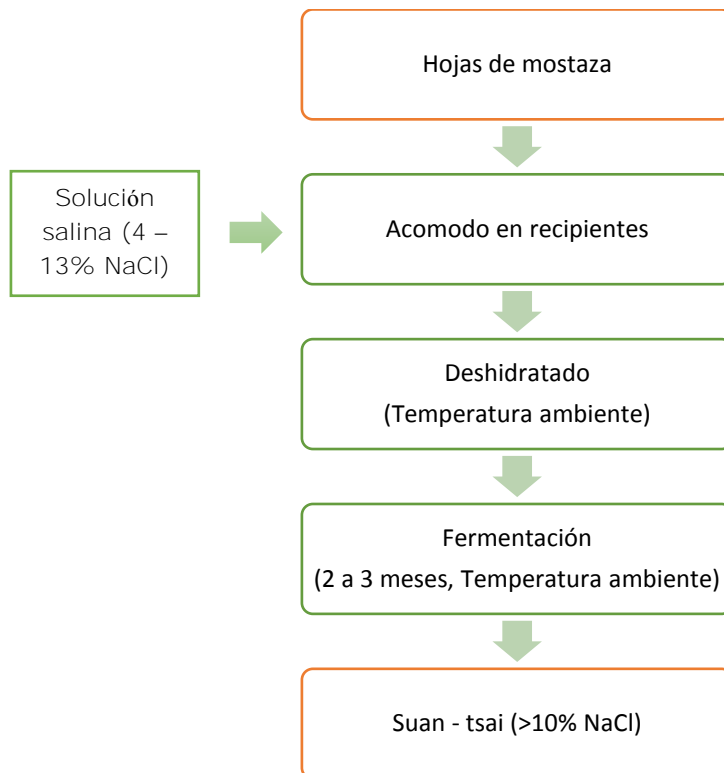
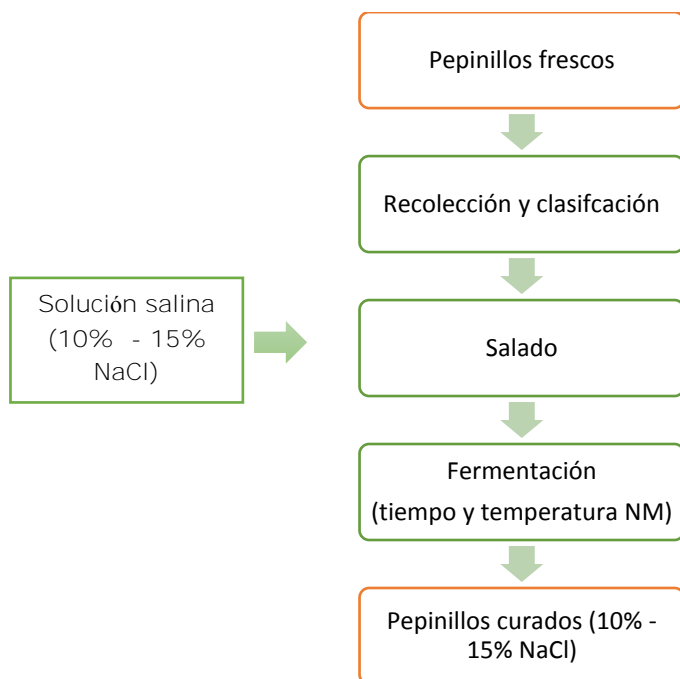


Figura 26. Diagrama de proceso de Suan – tsai (Endo, *et al.*, 2014).

Después de realizar el aislamiento e identificación de los cultivos obtenidos del Suan – tsai se concluyó la presencia de bacterias halotolerantes y halofílicas como *Pediococcus pentosaceus* y *Tetragenococcus halophilus* (Endo, *et al.*, 2014).

8.5 Pepinillos curados

Es un producto fermentado al cual se le agrega una solución salina de 10% hasta 15% NaCl. A continuación, en la figura 27, se presenta el diagrama de proceso de los pepinillos curados.



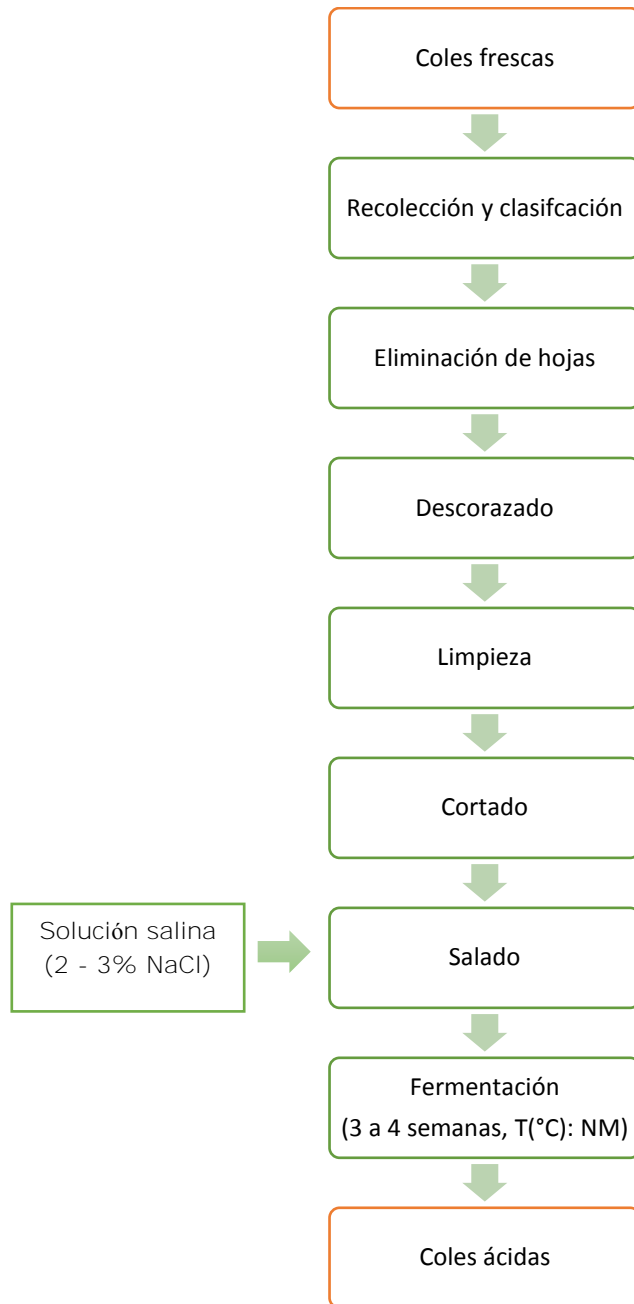
NM: Dato no mencionado.

Figura 27. Diagrama de proceso de pepinillos curados (Fernández, 1990).

En el artículo de Fernández (1990) se mencionan como microorganismos predominantes en este producto a *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis* y *Pediococcus cerevisiae*.

8.6 Coles ácidas

Las coles ácidas son un producto fermentado cuyas materias primas son la col y, como aditivo, la sal. En la figura 28 se muestra el proceso de elaboración de este producto.



*NM: Datos no mencionados.

Figura 28. Diagrama de proceso de coles ácidas (Fernández, 1990).

En cuanto a la identificación de bacterias presentes en el producto final se encuentran *Leuconostoc mesenteroides*, *Streptococcus faecalis*, *Lactobacillus brevis*, *Pediococcus cerevisiae* y *Lactobacillus platarum* (Fernández, 1990).

8.7 Microorganismos en productos vegetales fermentados

En la Tabla 13 se presenta un resumen de los microorganismos que se lograron aislar e identificar de los productos vegetales fermentados antes mencionados.

Tabla 13. Bacterias aisladas de productos vegetales fermentados.

Microorganismo	Producto alimenticio	Referencia
<i>Pseudomonas</i> spp. <i>Gordonia</i> spp. <i>Pantoea aglomerans</i> <i>Enterobacter</i> sp. <i>Weissela</i> sp. <i>Thalassomonas</i> <i>agarivorans</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Lactobacillus coryniformis</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus pentosus</i> <i>Lactobacillus</i> <i>vaccinostercus</i> <i>Lactobacillus suebicus</i> <i>Lactobacillus</i> sp. <i>Pediococcus</i> sp.	Aceitunas verdes	Abriouel, <i>et al.</i> , 2011.
<i>Enterococcus thailandicus</i> <i>Lactobacillus alimentarius</i> <i>Pediococcus</i> <i>ethanolidurans</i> <i>Lactobacillus brevis</i> <i>Lactobacillus paracasei</i> <i>Lactobacillus plantarum</i>	Encurtidos de vegetales fermentados	Yu, <i>et al.</i> , 2012.

Tabla 13 (cont.). Bacterias aisladas de productos vegetales fermentados.

Microorganismo	Producto alimenticio	Referencia
<i>Lactobacillus pentosus</i> <i>Lactobacillus sakei</i> <i>Lactobacillus spicheri</i> <i>Leuconostoc lactis</i>	Encurtidos de vegetales fermentados	Yu, et al., 2012.
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Asinan – rebung	Endo, et al., 2014.
<i>Tetragenococcus halophilus</i> <i>Pediococcus pentosaceus</i>	Suan – tsai	
<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus brevis</i> <i>Pediococcus cerevisiae</i>	Pepinillos curados	Fernández, 1990.
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> <i>Streptococcus faecalis</i> <i>Lactobacillus brevis</i> <i>Pediococcus cerevisiae</i> <i>Lactobacillus plantarum</i>	Coles ácidas	

En cuanto a las condiciones de aislamiento, éstas se muestran en la Tabla 14.

Tabla 14. Condiciones de cultivo de bacterias identificadas en productos vegetales fermentados.

Microorganismo	Condiciones (°C y tiempo)	Referencia
<p><i>Pseudomonas</i> spp. <i>Gordonia</i> spp. <i>Pantoea aglomerans</i> <i>Enterobacter</i> sp. <i>Weissella</i> sp. <i>Thalassomonas agarivorans</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Lactobacillus coryniformis</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus pentosus</i> <i>Lactobacillus vaccinostercus</i> <i>Lactobacillus suebicus</i> <i>Lactobacillus</i> sp. <i>Pediococcus</i> sp.</p>	<p>Medio MRS y TSA 30°C, 5 días</p>	<p>Abriouel, <i>et al.</i>, 2011.</p>
<p><i>Enterococcus thailandicus</i> <i>Lactobacillus alimentarius</i> <i>Pediococcus ethanolidurans</i> <i>Lactobacillus brevis</i> <i>Lactobacillus paracasei</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus pentosus</i> <i>Lactobacillus sakei</i> <i>Lactobacillus spicheri</i> <i>Leuconostoc lactis</i></p>	<p>Medio BCP: 30°C, 2 días Anaerobiosis Medio MRS: 10°C, 15°C, 45°C y 50°C, 5 días 2.0% a 10.0% NaCl, 30°C, 3 días</p>	<p>Yu, <i>et al.</i>, 2012.</p>

Tabla 14 (cont.). Condiciones de cultivo de bacterias identificadas en productos vegetales fermentados.

Microorganismo	Condiciones (°C y tiempo)	Referencia
<i>Lactobacillus plantarum</i>	NM	Endo, et al., 2014.
<i>Tetragenococcus halophilus</i> <i>Pediococcus pentosaceus</i>	NM	
<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus brevis</i> <i>Pediococcus cerevisiae</i>	NM	Fernández, 1990.
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> <i>Streptococcus faecalis</i> <i>Lactobacillus brevis</i> <i>Pediococcus cerevisiae</i> <i>Lactobacillus plantarum</i>	NM	

*NM: Dato no mencionado.

Los medios BCP, TSA y MRS fueron utilizados para el aislamiento del encurtido de vegetales y las aceitunas verdes, respectivamente.

8.8 Técnicas moleculares de identificación

Para hacer la identificación de las bacterias aisladas de los diferentes productos se utilizaron las técnicas de secuenciación de gen 16S del rRNA, PCR – DGGE y ensayos de PCR múltiple, que se describen en la sección 6 del presente trabajo.

9. PRODUCTOS DE ORIGEN ANIMAL

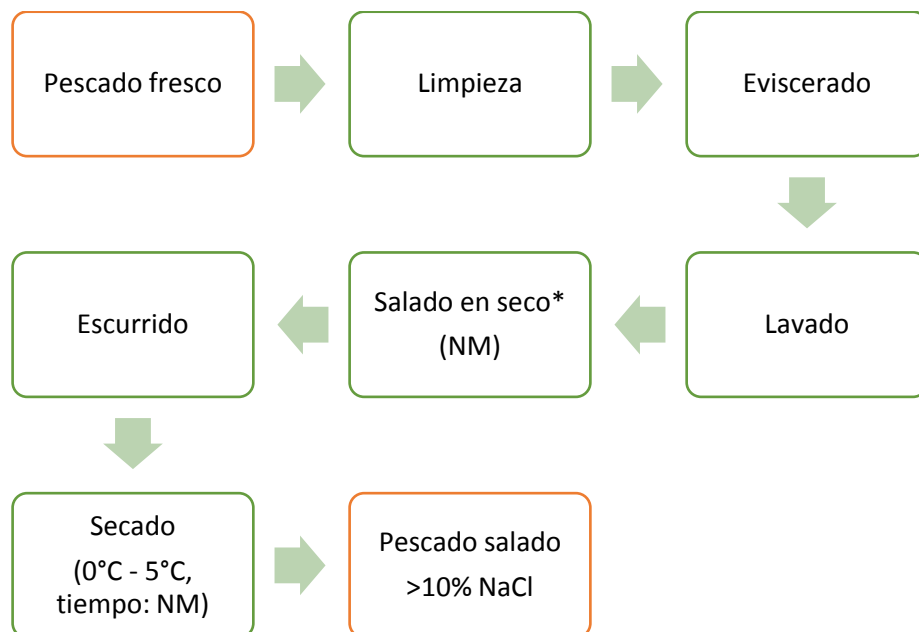
A continuación se presentarán algunos productos fermentados, salados y/o ahumados; sus características y un diagrama con el proceso para su elaboración.

9.1. Pescado salado

En este producto una de las materias primas es sal gruesa o de grano, la cual puede ser una de las fuentes de bacterias halófilas, además de las bacterias propias del pescado, se presentan en la Tabla 10.

En la figura 29 se describe el proceso para la elaboración de pescado salado, en el cual se observa que la sal es agregada directamente al pescado para, posteriormente, pasar por una etapa de secado y obtener como producto final el pescado salado seco.

Durante la etapa de secado se puede dar el desarrollo de las bacterias halófilas que fueron inoculadas por medio de la operación de salado y de la microbiota del pescado, así como la disminución de bacterias no halotolerantes.



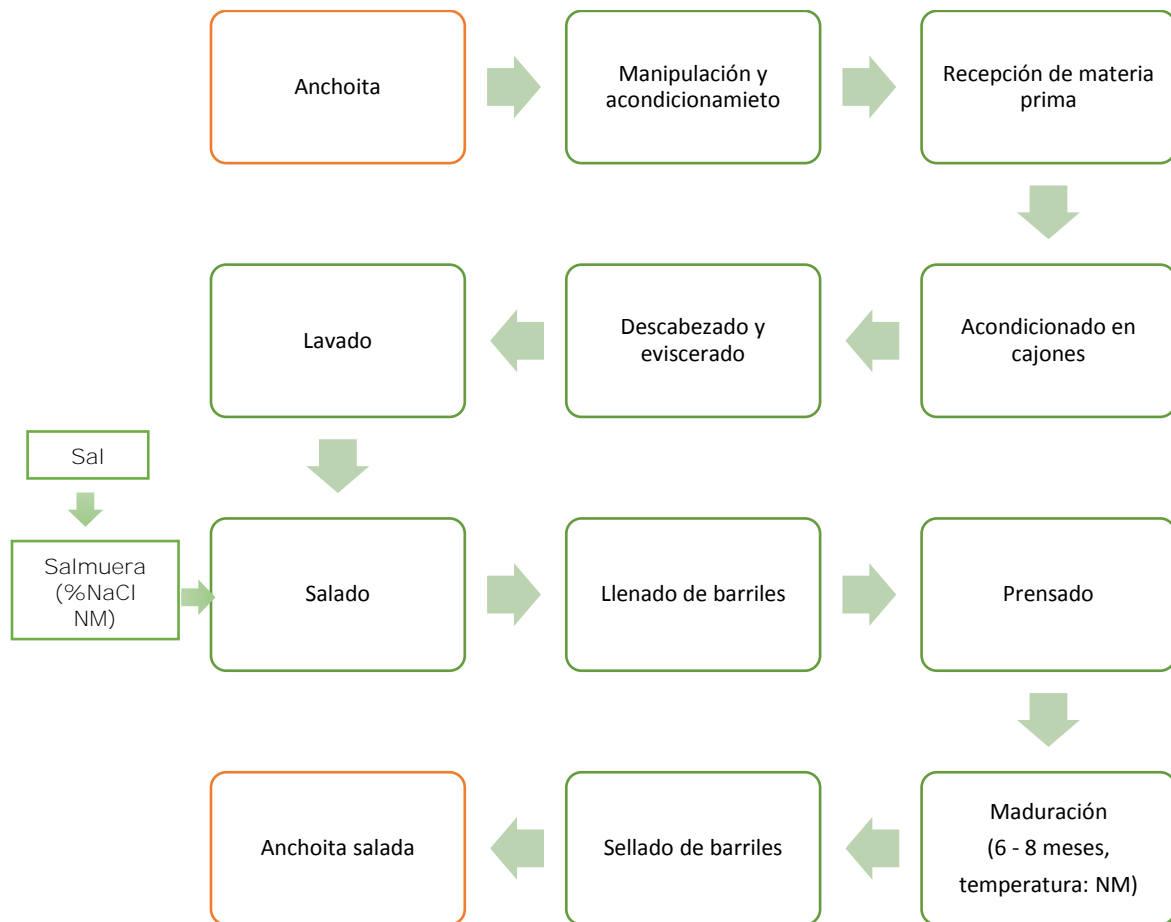
*NM: Cantidad de sal (Dato no mencionado).

Figura 29. Diagrama de proceso del pescado salado (FAO, 2009; INAES, 1998).

Referente a los microorganismos que están presentes en el pescado salado, se encuentran *Pseudomonas salinaria*, *Micrococcus spp.*, *Pediococcus halophylus* y *Sarcina litoralis* (Graü, et al., 2003).

9.2. Anchoita salada

Este producto se caracteriza por ser salado y madurado, el cual se comercializa en España e Italia. La finalidad del estudio realizado por Félix y colaboradores (2006) fue observar si hay efectos negativos en cuanto a la vida de anaquel de este producto como cambios de color y aroma. En dicho artículo se describe el proceso de producción, que se representa en la figura 30.



NM: Dato no mencionado.

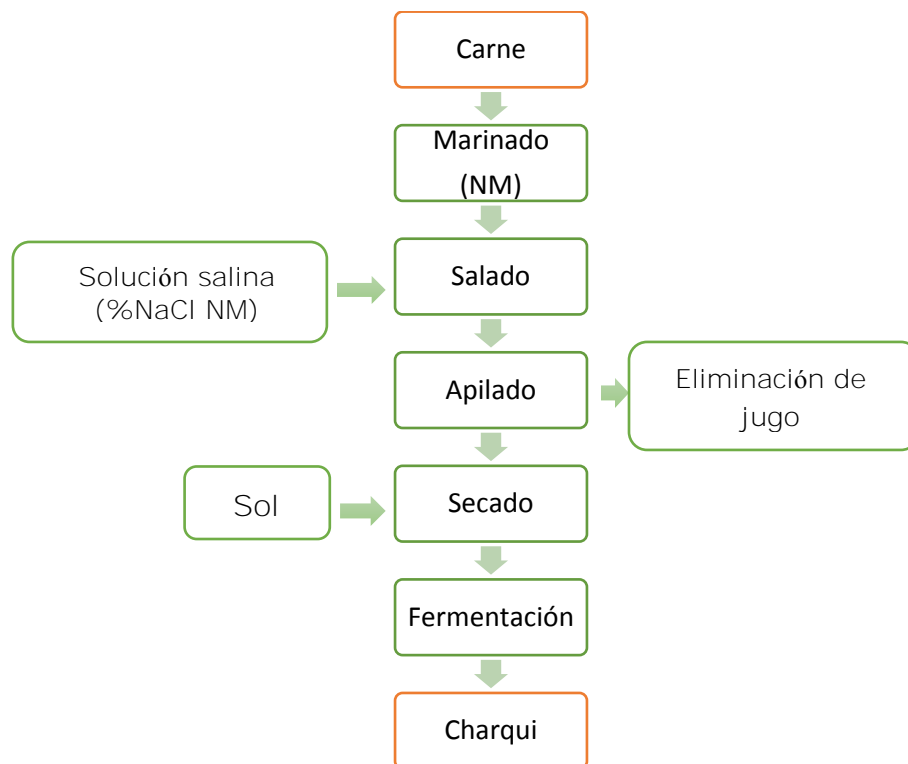
Figura 30. Diagrama de proceso de anchoita salada (Félix, et al., 2006).

En la operación de salado se utiliza sal de grano. En cuanto a la etapa de maduración tiene una duración de 6 a 8 meses, en la cual pueden desarrollarse diversos microorganismos capaces de crecer en estas condiciones.

La bacteria que se ha aislado e identificado es *Halococcus* sp. y *Halobacterium* spp., esta fue identificada por pruebas físico químicas como movilidad, oxidasa, ureasa, utilización de nitrato, fermentación de hidratos de carbono, hidrólisis de gelatina y descarboxilación de aminoácidos. Apartir de esto se revisó la presencia de actividad lipolítica y proteolítica.

9.3 Charqui (Carne seca fermentada)

Por otra parte, se realizó un estudio para verificar la presencia de bacterias halófilas dañinas en carne seca fermentada. Dicho producto es de origen brasileño y se le conoce como charqui. A continuación se describe el proceso de producción artesanal de este producto en el figura 31 (Biscola, *et al.*, 2013).



NM: Datos no mencionados

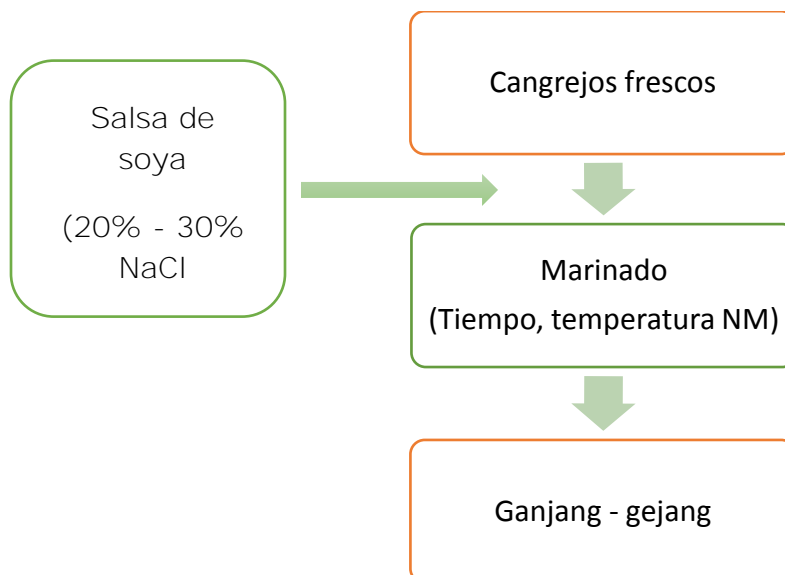
Figura 31. Diagrama de proceso del charqui (Biscola, *et al.*, 2013).

Para su aislamiento se usó el medio TSA adicionado con 3% y 10% de NaCl, a las condiciones de incubación 37°C por 72 horas. Además, se usó el medio de cultivo MRS a 30°C por 48 horas. En cuanto a su identificación se manejó la técnica de PCR. Las secuencias obtenidas se compararon con la base de datos Gen Bank (Biscola, *et al.*, 2013).

Referente a los microorganismos presentes en el charqui se encuentran: *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus pasteurii* y *Lactococcus lactis* (Biscola, *et al.*, 2013).

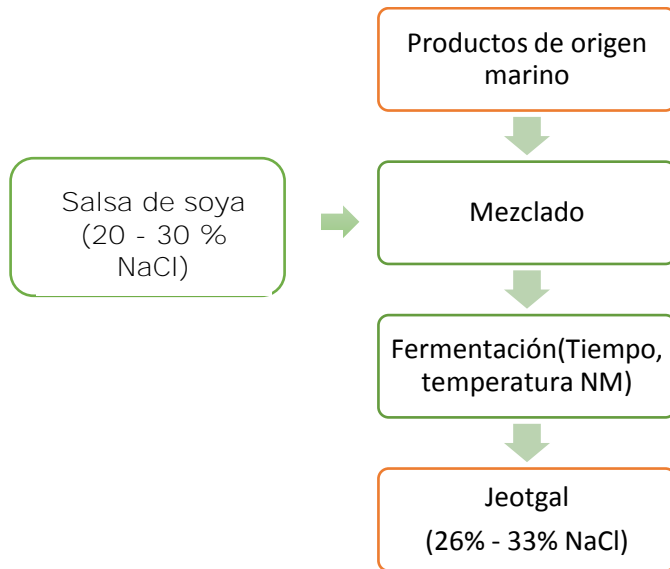
9.4 Jeotgal y “Ganjang – gejang”

Otros de los productos en los que se han encontrado microorganismos de este tipo son los ostiones fermentados “jeotgal” y cangrejos en salsa de soya, también llamada “ganjang-gejang” (Jung, *et al.*, 2010 (a)). A continuación en las figuras 32 y 33 se puede ver el diagrama de proceso de ambos productos.



NM: Dato no mencionado.

Figura 32. Diagrama de proceso de “ganjang – gejang” (Jung, *et al.*, 2010 (a)).



NM: Dato no mencionado.

Figura 33. Diagrama de proceso de los ostiones fermentados "jeotgal" (Jung, et al., 2010 (b); Lee, et al., 2012; Guan, et al., 2011).

Para ambos productos la fuente de bacterias halófilas es la salsa de soya, la cual tiene entre sus ingredientes sal.

En cuanto al Jeotgal, la concentración final de sal en el producto puede ser de 26% a 33% de sal (Kim, 2010).

Los microorganismos identificados en el jeotgal son *Lentibacillus jeotgali*, *Bacillus jeotgali*, *Cobetia crustatorum*, *Salimicrobium* sp. y *Halomonas alimentaria*. Mientras que en el "gajang – gejang" se ha identificado a *Salinococcus carnicancri*.

9.5 Salsa de pescado

En cuanto a la salsa de pescado se realizó un estudio en el que se encontró la presencia de varias bacterias halófilas. En la figura 34 se presenta el proceso por el cual se obtiene este producto.

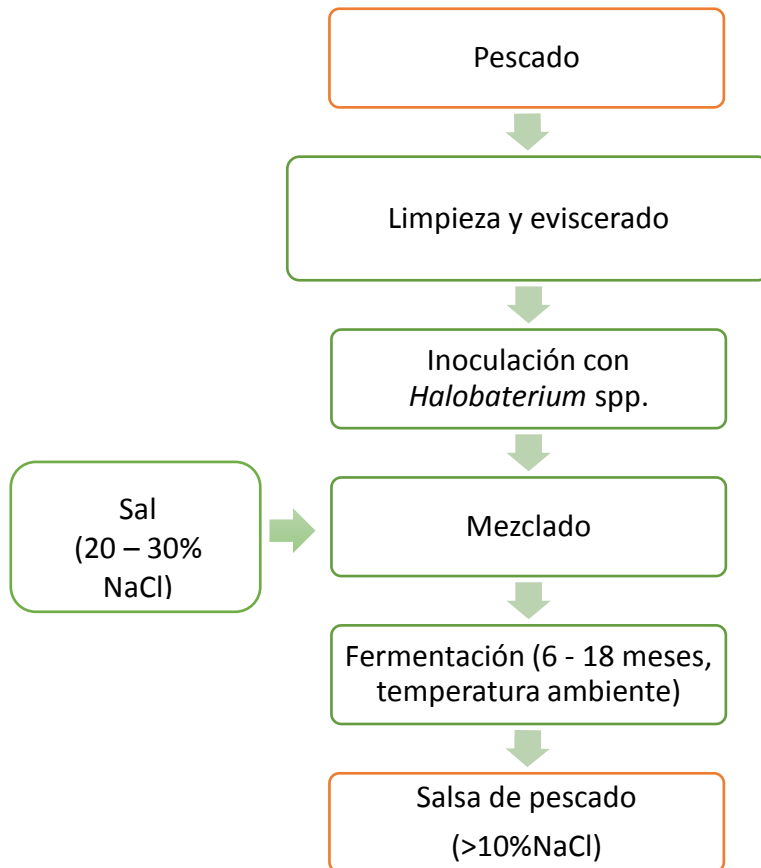


Figura 34. Diagrama de proceso de la salsa de pescado (Akolkar, et al., 2010; Kimura, et al., 2001)

Un punto a resaltar en este producto es el alto porcentaje de sal utilizado, lo cual limita la cantidad de bacterias que pueden desarrollarse en él.

En cuanto a las bacterias identificadas en la salsa de pescado están *Halobacterium salinarium* y *Bacillus subtilis*. Cabe mencionar que como cultivo iniciador se utilizó *Halobacterium spp.* (Akolkar, et al., 2010). Otros de los microorganismos identificados son *Tetragenococcus halophilus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Lentibacillus salinarium*, *Virgibacillus halodenitrificans* y *Staphylococcus cohnii* (Fukui, et al., 2012; Montriwong, et al., 2012).

Se puede observar que gran parte de los estudios que se han realizado de estas bacterias son en productos de origen asiático, debido a que muchos de éstos son productos salados fermentados.

9.6 Salsa kusaya

Es una salmuera fermentada que se utiliza para la producción de pescado seco en Japón. Se presenta en la figura 35 su proceso de elaboración (Satomi, *et al.*, 2004).

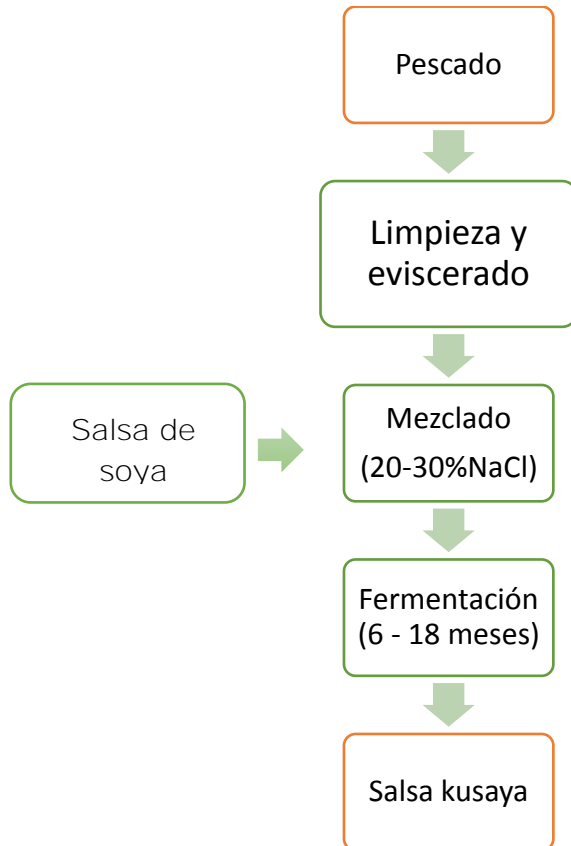


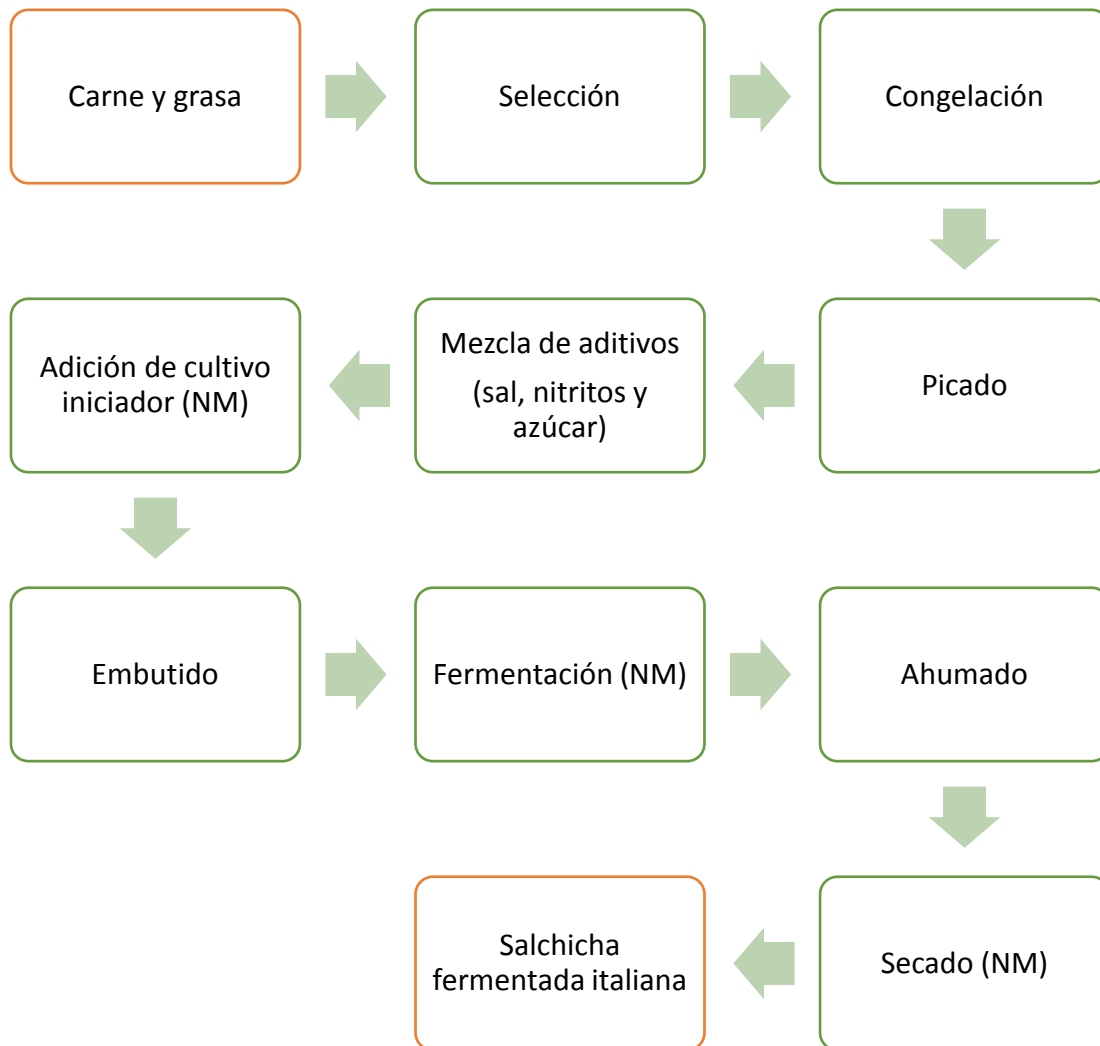
Figura 35. Diagrama de proceso de salsa kusaya (Satomi, *et al.*, 2004; Satomi, *et al.*, 1997)

Con este estudio se aisló e identificó a la bacteria helicoidal halofílica *Marinospirillum insulare* sp. Para su aislamiento se usó el medio semi sólido TSSY a condiciones de incubación de 25°C por 3 días (Satomi, *et al.*, 2004).

9.7 Salchichas fermentadas italianas

Es un producto fermentado hecho a partir de carne y grasa al cual se le agregan cultivo iniciadores para su fermentación. Es un embutido que puede tener una

humedad final de entre 50% y 75%. En la figura 36 se puede ver el diagrama de elaboración de este producto.



NM: Dato no mencionado.

Figura 36. Diagrama de proceso de la salchicha fermentada italiana (Hernández, et al., 2003).

El medio de aislamiento para obtener las cepas que participan en la fermentación fue agar MRS, las placas fueron incubadas a 30°C por 72 horas, posteriormente se inocularon en cajas con agar MRS para su crecimiento a 30°C por 24 a 48 horas en anaerobiosis. La técnica utilizada para esto fue PCR – TGGE (Cocolin, *et al.*, 2000).

Las bacterias identificadas de las salchichas italianas fermentadas fueron *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus alimentarius* y *Lactobacillus curvatus*.

9.8 Microorganismos en productos de origen animal

Los microorganismos que se han encontrado en los productos antes mencionados se encuentran en la Tabla 15.

Tabla 15. Bacterias presentes en productos de origen animal.

Microorganismo	Producto alimenticio	Referencia
<i>Pseudomonas salinaria</i> <i>Micrococcus</i> spp. <i>Pediococcus halophylus</i> <i>Sarcina litoralis</i>	Pescado salado	Graü, <i>et al.</i> , 2003
<i>Halococcus</i> sp. <i>Halobacterium</i> spp.	Anchoita salada	Félix, <i>et al.</i> , 2006
<i>Staphylococcus xylosus</i> <i>Staphylococcus pasteurii</i> <i>Lactococcus lactis</i>	Charqui	Biscola, <i>et al.</i> , 2013
<i>Lentibacillus jeotgali</i> <i>Bacillus jeotgali</i> <i>Cobetia crustatorum</i> <i>Halomonas alimentaria</i> <i>Salimicrobium</i> sp. <i>Staphylococcus</i> spp. <i>Kocuria</i>	Jeotgal	Jung, <i>et al.</i> , 2010 (b) Lee, <i>et al.</i> , 2012 Guan, <i>et al.</i> , 2011

Tabla 15 (cont.). Bacterias presentes en productos de origen animal.

Microorganismo	Producto alimenticio	Referencia
<i>Salinococcus carniancri</i>	Gajang – gejang	Jung, <i>et al.</i> , 2010 (a)
<i>Halobacterium salinarium</i> <i>Bacillus subtilis</i>	Salsa de pescado	Akolkar, <i>et al.</i> , 2010
<i>Tetragenococcus muriaticus</i>		Kimura, <i>et al.</i> , 2001
<i>Tetragenococcus halophilus</i> <i>Staphylococcus saprophyticus</i> <i>Lentibacillus salinarium</i> <i>Staphylococcus cohnii</i>		Fukui, <i>et al.</i> , 2012
<i>Virgibacillus halodenitrificans</i>		Montriwong, <i>et al.</i> , 2012
<i>Marinospirillum insulare</i> sp.		Salsa kusaya
<i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus sakei</i> <i>Lactobacillus alimentarius</i> <i>Lactobacillus curvatus</i>	Salchichas fermentadas italianas	Cocolin, <i>et al.</i> , 2000

Las condiciones para el cultivo y aislamiento de las bacterias mencionadas anteriormente se describen en la Tabla 16.

Tabla 16. Condiciones de cultivo para bacterias identificadas en productos de origen animal.

Microorganismo	Condiciones (°C y tiempo)	Referencia
<i>Pseudomonas salinaria</i> <i>Micrococcus</i> spp. <i>Pediococcus halophylus</i> <i>Sarcina litoralis</i>	20°C, 5 días	Graü, et al., 2003
<i>Halococcus</i> sp. <i>Halobacterium</i> spp.	37°C, 12 – 14 días	Félix, et al., 2006
<i>Staphylococcus xylosum</i> <i>Staphylococcus pasteurii</i> <i>Lactococcus lactis</i>	37°C, 72 horas	Biscola, et al., 2013
<i>Lentibacillus jeotgali</i> <i>Bacillus jeotgali</i> <i>Cobetia crustatorum</i> <i>Halomonas alimentaria</i>	30°C, NM	Jung, et al., 2010 (a)
<i>Salinococcus carnicancri</i>	30°C, NM	Jung, et al., 2010 (b)
<i>Halobacterium salinarium</i> <i>Bacillus subtilis</i>	37°C, 96 horas	Akolkar, et al., 2010.
<i>Tetragenococcus muriaticus</i>	30°C, 10 días	Kimura, et al., 2001
<i>Marinospirillum insulare</i> sp.	25°C, 6 días	Satomi, et al., 2004.

Tabla 16 (cont.). Condiciones de cultivo para bacterias identificadas en productos de origen animal.

Microorganismo	Condiciones (°C y tiempo)	Referencia
<i>Tetragenococcus halophilus</i> <i>Staphylococcus saprophyticus</i> <i>Lentibacillus salinarium</i> <i>Staphylococcus cohnii</i>	20°C, 2 semanas	Fukui, et al., 2012
<i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus sakei</i> <i>Lactobacillus alimentarius</i> <i>Lactobacillus curvatus</i>	30°C por 72 horas	Cocolin, et al., 2000

NM: Dato no mencionado.

Para las bacterias que fueron identificadas molecularmente se utilizaron diferentes técnicas, entre las que se encuentran las mencionadas en la Tabla 17.

Tabla 17. Técnicas moleculares de identificación de bacterias aisladas.

Técnica	Referencia
PCR - RFLP	Kimura, et al., 2001
PCR – Secuenciación por SEQMAN del gen 16S	Kim, et al., 2010
PCR - TGGE	Cocolin, et al., 2000
PCR – Secuenciación cromosomal	Biscola, et al., 2013 Jung, et al., 2010 (a) Jung, et al., 2010 (b) Satomi, et al., 2004.
PCR - DGGE	Fukui, et al., 2012

10. PRODUCTOS LÁCTEOS

10.1 HALAB en quesos

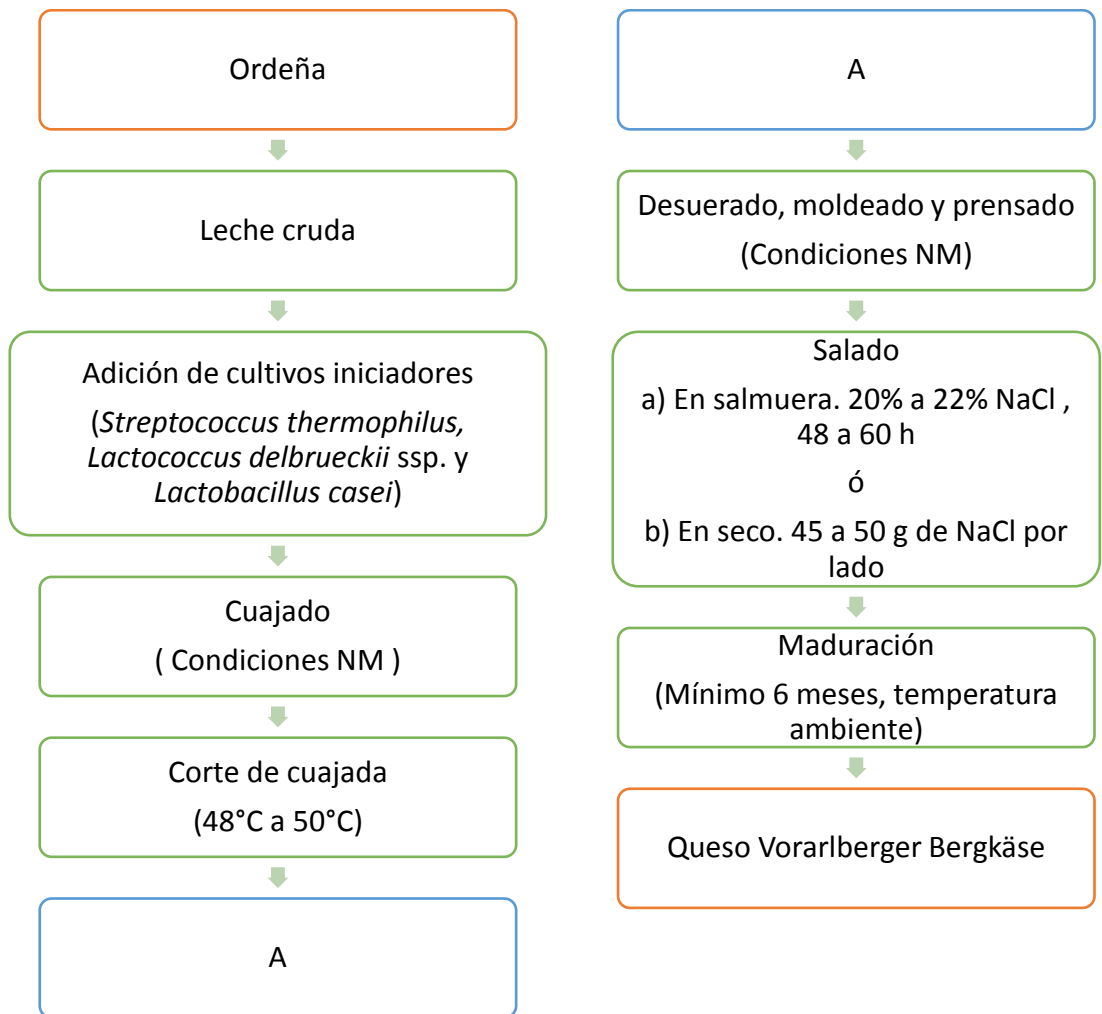
En diversos artículos referentes a quesos y las bacterias halófilas se describe un grupo de bacterias que se desarrollan comúnmente en éstos; a las cuales se les conoce como HALAB, Halophilic and Alkaliphilic Lactic Acid Bacteria por sus siglas en inglés (Ishikawa, *et al.*, 2007). Las bacterias que entran en esta clasificación son productoras de ácido láctico, además de ser capaces de crecer en presencia de sal.

Uno de los investigadores que se ha dedicado a la identificación de dichas bacterias es Ishikawa, quien ha publicado diversos artículos sobre este tema. Una de sus investigaciones la realizó en diversos quesos (de origen francés, italiano y alemán) para saber si había presencia de bacterias HALAB. Encontrando a bacterias de los géneros *Marinilactibacillus* y *Halolactibacillus*. Una de sus conclusiones fue que las HALAB son de origen marino (Ishikawa, *et al.*, 2007).

La importancia de la presencia de los microorganismos durante la elaboración de queso es la producción de compuestos responsables de los aromas. Entre las bacterias se encuentran *Leuconostoc lactis*, *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus fermentum* y *Lactobacillus helveticus*.

10.2 Queso Vorarlberger Bergkäse (VB)

El queso Vorarlberger Bergkäse se clasifica como un queso duro producido a partir de leche cruda de origen austriaco. En la figura 37 se presenta el proceso para su elaboración. En el estudio realizado por Schornsteiner, *et al.*, (2014) se utilizaron técnicas independientes de cultivo para su identificación como amplificación del gen 16S rRNA y PCR para la posterior secuenciación de los productos.



NM: Dato no mencionado.

Figura 37. Diagrama de proceso de queso Vorarlberger Bergkäse (Schornsteiner, et al., 2014).

Las bacterias identificadas fueron *Halomonas boliviensis*, *Brevibacterium aurantiacum* y *Staphylococcus equorum*.

10.3 Queso Gouda

Producto de origen holandés que se describe en la norma Codex Standard 266-1966 como un queso semiduro a firme madurado, de color blanco, amarillo claro o amarillo y textura firme, de corteza seca que puede contar con un revestimiento de

parafina así como agujeros en la pasta (Codex Stan 266 – 1966). En la figura 38 se observa el diagrama de proceso para su elaboración.

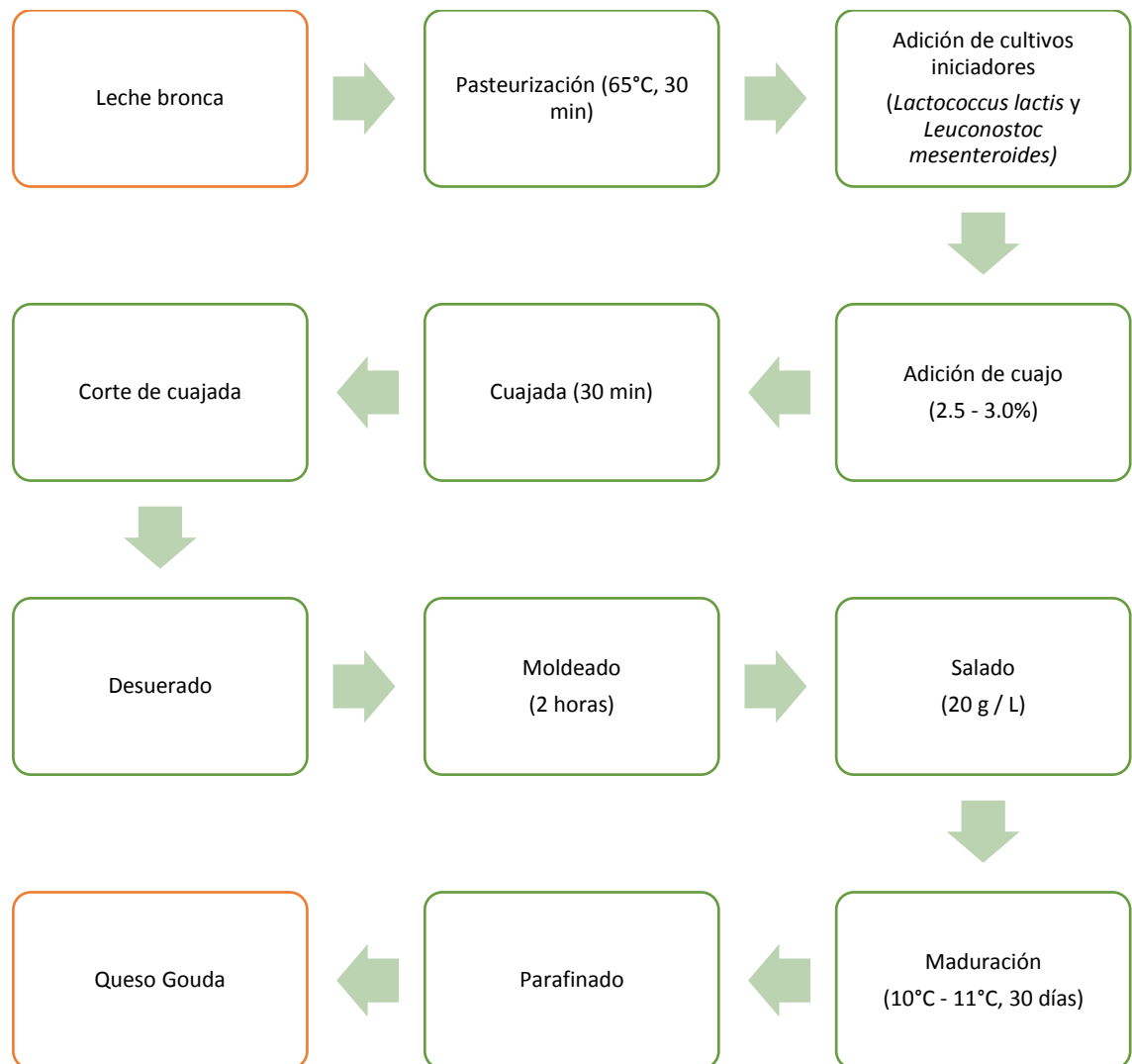


Figura 38. Diagrama de proceso de elaboración de queso Gouda (Román, et al., 2000).

Después de la etapa de pasteurización se añaden los cultivos iniciadores, los cuales pueden ser *Lactococcus lactis* y *Leuconostoc mesenteroides*. Utilizando el medio Reddy's, la técnica de huella digital AFLP, así como el análisis de la presencia de enzimas proteolíticas y la fermentación de citrato se encontraron 7 linajes diferentes de *Lactococcus lactis* los cuales se enlistan en la Tabla 18 (Smid, et al., 2014).

La formación de los agujeros en el queso se deben a la producción de dióxido de carbono por *Leuconostoc mesenteroides* (Smid, *et al.*, 2014).

10.4 Queso Cotija

Este queso se caracteriza por ser un producto mexicano artesanal madurado, salado, de consistencia semidura a dura y no cocido, hecho a partir de leche bronca; es decir, sin pasar por ningún proceso de pasteurización (NMX-F-735-COFOCALEC-2011). La zona de producción de este queso como “Región de origen” es la sierra de Jalisco y Michoacán (Figura 39), que incluye los municipios de Santa María del Oro, norte de Jilotlán de los Dolores, oriente de Tamazula, sur de Valle de Juárez y de Quitupan en Jalisco; mientras que del estado de Michoacán son suroeste de Los Reyes, Peribán y Tancántaro, sur de Tocumbo y Cotija y norte de Buena Vista Tomatlán. Una de las características de este producto es que su elaboración es mayoritariamente en el periodo de julio a octubre, que se caracterizan por ser meses de lluvia (Álvarez, *et al.*, 2005).



Figura 39. Zona productora de queso Cotija Denominación de Origen (Álvarez, *et al.*, 2005).

Se describe el proceso para su elaboración en la figura 40, teniendo en cuenta las operaciones básicas para su producción. Al ser un producto madurado se debe considerar un tiempo mínimo de 3 meses a temperatura ambiente, esto de acuerdo con la información obtenida a partir de los mismos productores de la sierra de Jalmich (Álvarez, *et al.*, 2005).



Figura 40. Diagrama de proceso de queso Cotija (Álvarez, *et al.*, 2005; García, 2011; Salto, 2013 y NMX – F – 735 – COFOCALEC - 2011).

Una de las características del queso Cotija es el uso de la sal que se produce en la salinas de Cuyutlán, Colima. Este ingrediente específico también es decisivo para que se le considere con reconocimiento de “Región de Origen”.

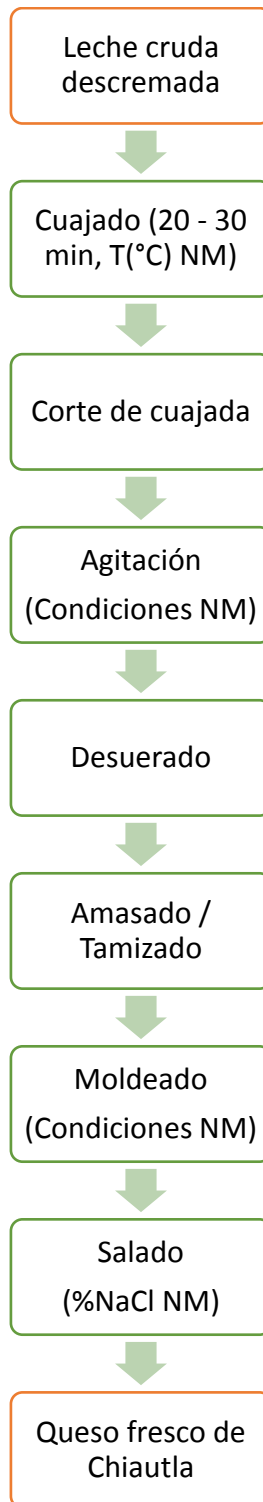
En investigaciones realizadas en el grupo de trabajo de la Dra. Quirasco se ha identificado la presencia de diversos microorganismos de los géneros *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Vagococcus*, *Marinilactibacillus*, *Lactococcus*, *Paenibacillus*, *Virgibacillus*, *Psychrobacter*, *Kocuria*, *Acinetobacter*, *Brachybacterium*, *Enterobacter*, *Brevibacterium*, *Aerococcus* y *Streptococcus* (Salto, 2013; García, 2006; Hernández, 2007; Bravo, 2008; Zúñiga, 2009; Estrada, 2009; Cortés, 2009; Gómez, 2010; García, 2011; Casillas, 2013 y Robles, 2014).

En algunos casos se realizó el aislamiento e identificación molecular, mientras que en otros sólo se aplicaron técnicas independientes de cultivo. Debido a los diversos medios utilizados para el aislamiento, éstos se mencionaran en la Tabla 19 con las condiciones de cultivo.

10.5 Queso fresco de Chiautla, Puebla

Entre las características de este producto elaborado en el estado de Puebla se encuentran el uso de leche cruda descremada, producido mayoritariamente en épocas de lluvia, la cual se caracteriza por mayor producción de leche con una menor cantidad de sólidos totales que conlleva a utilizar un volumen mayor de leche para la producción de este queso (Cervantes, *et al.*, 2008). Además, se cataloga como un queso fresco, por lo tanto no pasa por ninguna etapa de maduración.

El proceso para su producción se muestra en la figura 41. En el libro “*Los quesos mexicanos genuinos. Patrimonio cultural que debe rescatarse*” se menciona el uso de “sal de San Pedro” (Cervantes, *et al.*, 2008), la cual se desconoce su origen.



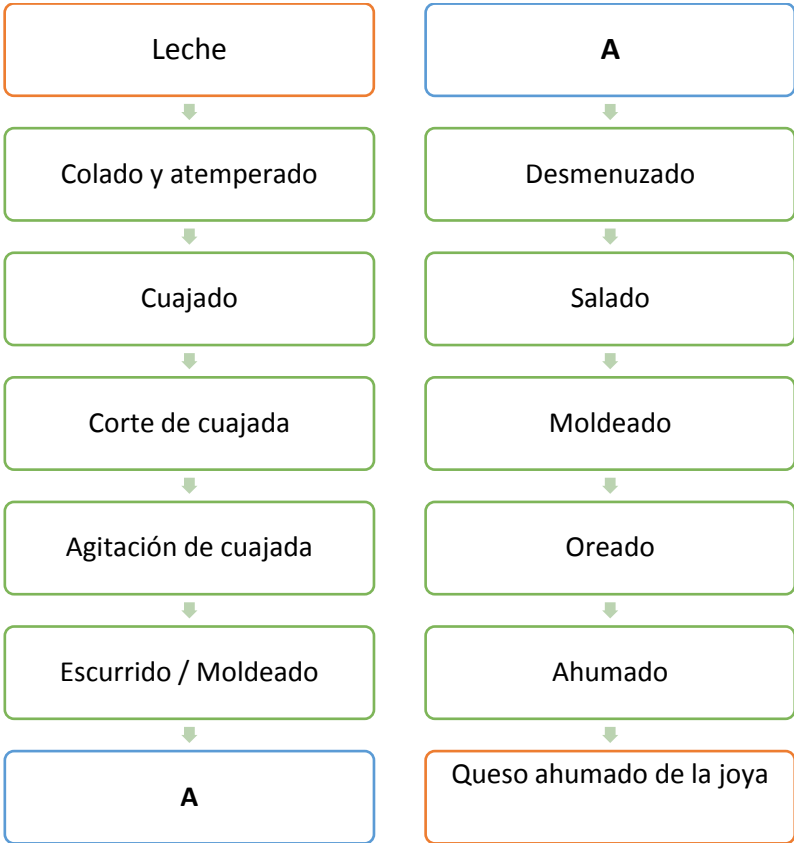
NM: Dato no mencionado.

Figura 41. Diagrama de proceso de queso fresco de Chiautla, Puebla. (Cervantes, et al., 2008)

En cuanto al aislamiento e identificación de las bacterias presentes en este queso no se encontraron artículos publicados. Por lo que se desconoce la microbiota del queso fresco de Chiautla.

10.6 Queso ahumado de La Joya

Este queso es originario del estado de Veracruz en las localidades de La Joya y Las Vigas. Entre sus características físicas se encuentran que es de pasta amarilla marfil, semidura, prensada, tajable, madurado y ahumado (Cervantes, *et al.*, 2008). Las operaciones básicas para su elaboración se presentan en la figura 42.



NOTA: En este caso no se describen las condiciones ambientales en las que se elabora el producto.

Figura 42. Diagrama de proceso de queso ahumado de la joya (Cervantes, et al., 2008).

Al igual que el queso de Chiautla, en el queso ahumado de La Joya no se han hecho estudios sobre su población microbiana. Por lo que se discutirá en el siguiente capítulo acerca de los posibles microorganismos presentes de acuerdo con la información con la que se cuenta. Por lo tanto, no se muestra información de éstos en las tablas de esta sección.

10.7 Microorganismos en productos lácteos salados

A continuación se presenta la Tabla 18 con las bacterias identificadas en los diferentes productos lácteos descritos anteriormente.

Tabla 18. Bacterias halófilas aisladas de productos lácteos.

Microorganismo	Producto alimenticio	Referencia
<i>Halomonas boliviensis</i> <i>Brevibacterium auratiacum</i> <i>Staphylococcus equorum</i>	Queso Vorarlberger Bergkäse	Schornsteiner, <i>et al.</i> , 2014
<i>Halolactibacillus</i>	Queso de origen francés, italiano y alemán.	Ishikawa, <i>et al.</i> , 2005 Ishikawa, <i>et al.</i> , 2003
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> subsp. <i>Lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>	Queso gouda	Smid, <i>et al.</i> , 2014
<i>Staphylococcus xylosum</i> <i>Staphylococcus piscifermentans</i> <i>Staphylococcus condimentii</i>	Queso Cotija	García, 2006.

Tabla 18 (cont.). Bacterias halófilas aisladas de productos lácteos.

Microorganismo	Producto alimenticio	Referencia
<i>Staphylococcus carnosus</i> <i>Staphylococcus saprophyticus</i> <i>Staphylococcus simulans</i> <i>Bacillus pumilus</i>	Queso Cotija	García, 2006.
<i>Staphylococcus sciuri</i> <i>Staphylococcus lentus</i> <i>Staphylococcus fleuretti / xylosus</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus licheniformis</i> <i>Bacillus pumilus</i> <i>Bacillus megaterium / flexus</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Enterococcus faecium</i>		Hernández, 2007
<i>Lactobacillus pentosus</i> <i>Enterococcus faecium</i> <i>Enterococcus faecalis</i>		Bravo, 2008.
<i>Enterococcus faecium</i> <i>Marinilactibacillus</i> sp. <i>Vagococcus</i> sp.		Zuñiga, 2009
<i>Staphylococcus aureus</i>		Estrada, 2009
<i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus paracasei</i>		Cortés, 2009.

Tabla 18 (cont.). Bacterias halófilas aisladas de productos lácteos.

Microorganismo	Producto alimenticio	Referencia
<i>Enterococcus asini</i> <i>Enterococcus termitis</i> <i>Vagococcus carniphilus</i> <i>Lactobacillus sakei</i>	Queso Cotija	Gómez, 2010.
<i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus sp.</i> <i>Paenibacillus polymixa</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Staphylococcus pasteurii</i> <i>Psychrobacter alimentarius</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Enterococcus gallinarum</i> <i>Bacillus pumilus</i> <i>Psychrobacter sp.</i> <i>Marinilactibacillus psychrotolerans</i> <i>Psychrobacter piscidermis</i>		García, 2011
<i>Enterococcus faecium</i> <i>Staphylococcus equorum</i> <i>Staphylococcus suis</i> <i>Bacillus sp.</i> <i>Bacillus vietnamensis</i> <i>Vagococcus sp.</i> <i>Virgibacillus pantothenicus</i> <i>Streptococcus infantarius</i>		Casillas, 2013

Tabla 18 (cont.). Bacterias halófilas aisladas de productos lácteos.

Microorganismo	Producto alimenticio	Referencia
<p><i>Enterococcus</i> sp. <i>Enterococcus faecium</i> <i>Bacillus pumilus</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Staphylococcus xylosus</i> <i>Staphylococcus saprophyticus</i> <i>Kocuria rhizophila</i> <i>Staphylococcus</i> sp. <i>Staphylococcus warneri</i> <i>Acinetobacter lwoffii</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Klebsiella rhizophila</i> <i>Brachybacterium</i> sp. <i>Brachybacterium paraconglomeratum</i> <i>Kocuria marina</i> <i>Staphylococcus equorum</i> <i>Enterobacter</i> sp. <i>Brevibacterium epidermitis</i> <i>Brevibacterium</i> sp. <i>Bacillus marisflavis</i> <i>Bacillus</i> sp. <i>Bacillus flexus</i> <i>Aerococcus viridans</i> <i>Staphylococcus cohnii</i></p>	<p>Queso Cotija</p>	<p>Robles, 2014</p>

Las condiciones para el cultivo y aislamiento de las bacterias identificadas por técnicas dependientes de cultivo se presentan en la Tabla 19.

Tabla 19. Condiciones de cultivo para bacterias identificadas en productos lácteos.

Microorganismo	Condiciones de cultivo (°C y tiempo)	Referencia
<i>Halolactibacillus</i>	GYPF GYPB 30°C, 2 – 3 días	Ishikawa, <i>et al.</i> , 2005 Ishikawa, <i>et al.</i> , 2003
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> subsp. <i>Lacti</i> biovar. <i>diacetylactis</i>	NM	Smid, <i>et al.</i> , 2014
<i>Staphylococcus xylosus</i> <i>Staphylococcus piscifermentans</i> <i>Staphylococcus condimentii</i> <i>Staphylococcus carnosus</i> <i>Staphylococcus saprophyticus</i> <i>Staphylococcus simulans</i> <i>Bacillus pumilus</i>	Agar cuenta en placa Agar tributirina 37°C, 48 h	García, 2006.
<i>Staphylococcus sciuri</i> <i>Staphylococcus lentus</i> <i>Staphylococcus fleuretti</i> / <i>xylosus</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus licheniformis</i> <i>Bacillus pumilus</i> <i>Bacillus megaterium</i> / <i>flexus</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Enterococcus faecium</i>	Agar caldo caseinato	Hernández, 2007.
<i>Lactobacillus pentosus</i> <i>Enterococcus faecium</i> <i>Enterococcus faecalis</i>	Medio MRS Anaerobiosis, 30°C, 5 días Microaerobiosis, 30°C, 3 días	Bravo, 2008.

Tabla 19 (cont.). Condiciones de cultivo para bacterias identificadas en productos lácteos.

Microorganismo	Condiciones de cultivo (°C y tiempo)	Referencia
<p><i>Enterococcus faecium</i> <i>Marinilactibacillus</i> sp. <i>Vagococcus</i> sp.</p>	<p>Medio KAA 37°C, 24 h MRS 30°C, 3 días</p>	<p>Zuñiga, 2009.</p>
<p><i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus</i> sp. <i>Paenibacillus polymixa</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Staphylococcus pasteurii</i> <i>Psychrobacter alimentarius</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Enterococcus gallinarum</i> <i>Bacillus pumilus</i> <i>Psychrobacter</i> sp. <i>Marinilactibacillus psychrotolerans</i> <i>Psychrobacter piscidermis</i></p>	<p>Agar tributirina</p>	<p>García, 2011.</p>
<p><i>Enterococcus</i> sp. <i>Enterococcus faecium</i> <i>Bacillus pumilus</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Staphylococcus xylosum</i> <i>Staphylococcus saprophyticus</i> <i>Kocuria rhizophila</i> <i>Staphylococcus</i> sp. <i>Staphylococcus warneri</i> <i>Acinetobacter lwoffii</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Klebsiella oxytoca</i></p>	<p>Agar Tributirina Agar leche descremada 37°C, 48 h</p>	<p>Robles, 2014.</p>

Tabla 19 (cont.). Condiciones de cultivo para bacterias identificadas en productos lácteos.

Microorganismo	Condiciones de cultivo (°C y tiempo)	Referencia
<i>Klebsiella rhizophila</i> <i>Brachybacterium</i> sp. <i>Brachybacterium paraconglomeratum</i> <i>Kocuria marina</i> <i>Staphylococcus equorum</i> <i>Enterobacter</i> sp. <i>Brevibacterium epidermitis</i> <i>Brevibacterium</i> sp. <i>Bacillus marisflavis</i> <i>Bacillus</i> sp. <i>Bacillus flexus</i> <i>Aerococcus viridans</i> <i>Staphylococcus cohnii</i>	Agar Tributirina Agar leche descremada 37°C, 48 h	Robles, 2014.

NM: Dato no mencionado

Los medios de cultivo utilizados para el aislamiento de bacterias que se desarrollan en quesos son GYPF, GYPFSK, GYPB, TGYA, CRBM, MRS, agar Reddy's, entre otros; la composición de estos medios se presenta en la Tabla 11.

DISCUSIÓN DE INFORMACIÓN

En cuanto a los microorganismos que se mencionan a lo largo del trabajo, a continuación se presentarán sus características morfológicas con la finalidad de ver cuáles son las semejanzas y diferencias entre bacterias halófilas obligadas y tolerantes.

Marinilactibacillus, es una bacteria con forma de bacilo corto, gram positivo, móvil por flagelos peritricos, no esporulada y en las pruebas de catalasa y oxidasa resulta negativo, por lo que crece en anaerobiosis. Es halotolerante, por crecer a concentraciones que van de 0 – 17 o 20.5% NaCl, la temperatura óptima va de 37°C a 40°C. Los géneros que conforman esta especie son *M. psychrotolerans* y *M. piezotolerans*, la primera se desarrolla a concentraciones de sal de 2.0 – 3.75% (Escobar, 2012; Ishikawa, *et al.*, 2003).

Virgibacillus es una bacteria en forma de bacilo, gram positivo, catalasa positivo, aerobia. Tiene crecimiento en el rango de 2% a 23% de NaCl. La especie *Virgibacillus alimentarius* tiene una forma de bacilo, gram positivo, móvil y puede formar endoesporas. Los rangos de porcentaje de sal, pH y temperatura son 0 a 30% NaCl, 7.0 a 11.0 y de 4 a 40°C, respectivamente. Sus condiciones óptimas de crecimiento 9% a 10% de NaCl, pH de 10.0 y una temperatura de 37°C (Kim, *et al.* 2011).

Vagococcus es una bacteria en forma de cocos, gram positivos, catalasa negativo, pueden ser móviles o no. Clasificada como anaerobia facultativa y productora de acidez. En cuanto a sus temperaturas de crecimiento es capaz de desarrollarse a 10°C pero no a 45°C. Se clasifican como halotolerantes por su crecimiento a un rango de 0% a 6.5% de NaCl dependiendo la especie (Escobar, 2012).

Enterococcus, son cocos, gram positivos, catalasa negativo, no esporulados, anaerobios facultativos y algunas especies son móviles. Pueden desarrollarse a

6.5% de NaCl, la temperatura de crecimiento va de 10°C a 45°C y valores de pH de 4.0 a 9.6. Son productores de ácido láctico y tienen actividad proteolítica. Producen compuestos volátiles como etanol, acetato, acetona, acetaldehído, acetoína y diacetilo. En este género se incluyen más de 20 especies, se encuentran con más frecuencia en alimentos son *E. faecalis*, *E. faecium* y *E. durans* (Zúñiga, 2009; Escobar, 2012; Olvera, 2013; Robles, 2014).

Staphylococcus es una bacteria en forma de coco, gram positivo, catalasa positivo, sin esporas; es productora de ácido a partir de lactosa. Puede desarrollarse en presencia o ausencia de sal (0% a 20% NaCl), por lo que es halotolerante, referente a la necesidad de oxígeno es anaerobia facultativa, las especies de este género son mesofílicas (7 a 48°C) con temperatura óptima de 35°C a 37°C. Dentro de este género se encuentra *S. aureus* y *S. saprophyticus* que se encuentran en la piel, animales y medio ambiente (Salto, 2013; Escobar, 2012). Las especies que se encuentran frecuentemente en productos fermentados son *S. equorum*, *S. xylosus*, *S. saprophyticus* y *S. cohnii* (Robles, 2014).

Marinospirillum es una bacteria helicoidal rígida, gram negativo, no esporulada y móvil por la presencia de flagelos peritricos; para las pruebas de catalasa y oxidasa es positiva por lo que es aerobia. El género *M. insulare* se desarrolla en concentraciones de 0.5% a 10% NaCl, con un porcentaje de sal óptimo de 2% a 3%. En cuanto a temperatura, va de 4°C a una máxima de 37°C, con temperaturas óptimas de 25°C a 30°C (Satomi, *et al.*, 2004).

Enterobacter es un grupo de bacterias entéricas con forma de bacilos cortos, gram negativo, anaerobia facultativa y móvil. La temperatura óptima de crecimiento es de 35°C. Es una bacteria halotolerante, su presencia es señal de contaminación de productos alimenticios. Una de las especies patógenas es *Enterobacter aerogenes* (Madigan, *et al.*, 2006; Robles, 2014).

Bacillus es una bacteria gram positiva en forma de bacilo, catalasa positivo y dependiendo la especie son aerobios o anaerobios facultativos, algunas especies son halotolerantes. Pueden formar endoesporas. Entre las especies que

conforman a este grupo se encuentra *Bacillus cereus* y *B. anthracis* que son patógenas para el humano y animales (Escobar G., 2012; Robles T., 2014). Además algunas especies son productoras de enzimas, algunos ejemplos son *B. marisflavi*, *B. flexus* y *B. pumilus* (Robles, 2014).

Pseudomonas son bacterias en forma de bacilo, gram negativo, catalasa positivo, anaerobio facultativa, mesófilas, sin formación de esporas y móviles por flagelos polares. Algunas especies causantes de infecciones son *Pseudomonas aeruginosa* y *P. fluorescens* (Madigan, et al., 2006; Romero, 2007).

Acinetobacter tiene forma de coco, gram negativo, catalasa positiva y oxidasa negativo. Este grupo está conformado por 7 especies, de las cuales *A. lwoffii* se encuentra en la microbiota natural de la piel (Robles, 2014; Madigan, et al., 2006).

Klebsiella es una bacteria entérica en forma de cocobacilo, gram negativo, catalasa positiva, no móvil. Dentro de las especies patógenas de este género se encuentra *K. pneumoniae* (Madigan, et al., 2006; Robles, 2014).

Aerococcus son cocos, gram positivo, microaerófilos, catalasa negativo, con capacidad de crecer a concentraciones de NaCl de hasta 6.5%, por lo que es halotolerante. Se puede aislar del medio ambiente por lo que está presente en el agua, alimentos, aire y suelo (Winn, et al., 2008; Robles, 2014).

Brachybacterium son cocos, gram positivo, catalasa positivo, la mayoría de las especies son aerobias. El rango de temperatura y pH para su crecimiento es de 4 a 42°C y valores de 6 a 9, respectivamente. Además soportan concentraciones de NaCl de hasta 15% (Robles, 2014).

Kocuria es una bacteria en forma de coco, gram positivo, aerobios y catalasa positiva. La especie *K. rhizophila* tiene como condiciones óptimas un pH de 5.7 a 7.7 en presencia de sal al 10% (Robles, 2014). Mientras que la especie *K. marina* es capaz de crecer en medios con concentraciones mayores a 15% de NaCl a temperaturas de 4 hasta 43°C. Para las pruebas catalasa y oxidasa es positiva y

negativa, respectivamente (Kim, *et al*, 2004). Por las concentraciones de sal se clasifica como halotolerante.

Lentibacillus es una bacteria en forma de bacilos de gram variable, formadora de endoesporas, la movilidad depende de la especie, catalasa y oxidasa positivo por lo que es aerobia (Yoon, *et al.*, 2002). Algunos ejemplos de las especies que conforman este grupo son *L. salis*, *L. jeotgali* y *L. salicampi*. En primer lugar *Lentibacillus jeotgali* es gram positivo, no móvil y crece a concentraciones de sal que van de 3% hasta 20%. De acuerdo a la clasificación de bacterias halófilas de Ramírez N. se considera halófila moderada. Los rangos de pH y temperatura a los cuales se desarrolla son 6.0 a 8.0 y 10°C a 45°C, respectivamente. Sus condiciones óptimas de crecimiento son de 10% a 15% NaCl, 37°C y pH de 8.0 (Jung, *et al.* 2010). Mientras que *Lentibacillus salicampi* es de gram variable. Los rangos para su cultivo son temperaturas de 10°C hasta 40°C y en cuanto a la concentración de sal debe haber sal en el medio pero no debe ser mayor a 23%. Las condiciones óptimas para su crecimiento son 30°C, a pH de 6.0 a 8.0 y concentraciones de NaCl de 4% a 8% (Yoon, *et al.*, 2002). En cuanto a *L. salis*, es gram positivo, las condiciones para su cultivo son 20°C a 45°C, pH de 7.0 a 9.2 y porcentajes de 5% a 15% de NaCl; mientras que las condiciones óptimas son 37°C, pH de 8.0 y 10% de NaCl (Lee, *et al.*, 2008). Por lo tanto son halófilos obligados.

Salinicoccus carniancri se caracteriza por ser cocos, gram positivos, inmóviles, no esporulados, catalasa y oxidasa negativos. Es una bacteria halotolerante, por su capacidad de desarrollarse en presencia de concentraciones de NaCl que van de 0% hasta 20%. La temperatura y pH al que pueden crecer es de 4 a 45°C y 6.0 a 11.0, respectivamente. Las condiciones para su crecimiento óptimo son 12% NaCl, 30°C a 37°C y pH cercano a la neutralidad (7.0 a 8.0) (Jung, *et al.*, 2010).

Gracilibacillus es una bacteria en forma de bacilo, gram positiva, móvil, para las pruebas de catalasa y oxidasa es positivo. La especie *G. halotolerans* es halotolerante (0% a 20% de NaCl), aerobia estricta. Crece a temperaturas de 6

hasta 50°C y rango de pH de 5 a 10. Las condiciones óptimas para su aislamiento son 47°C con un pH de 7.5 (Waino, *et al.*, 1999).

Halobacillus es un bacilo, gram positivo, móvil, formadora de esporas, halófila moderada y es aerobia estricta, por lo que para las pruebas de catalasa y oxidasa es positiva. Un ejemplo de este grupo es *Halobacillus halophilus* (Spring, *et al.*, 1996).

Halolactibacillus son bacilos rectos, gram positivos, no esporulados y móviles. Para las pruebas de catalasa y oxidasa son negativos. Se clasifica como una bacteria altamente halotolerante. Su cultivo se puede hacer en los rangos de 0% a 25.5% NaCl, pH de 6.0 a 10.0 y temperaturas que van de entre 5 – 10°C hasta 45°C. Cabe mencionar que sus condiciones óptimas son 2% a 3% NaCl, pH de 8.0 a 9.5 y 30°C a 40°C. Un ejemplo de este grupo es *Halolactibacillus halophilus*, esta especie se desarrolla a concentraciones de NaCl de 0% a 24.0%, con un valor óptimo de 2.0 – 3.0%, y temperatura óptima de 30°C a 37°C, además se clasifica como una bacteria ácido láctica (Ishikawa, *et al.*, 2007).

Alkaliphilus halophilus es una bacteria anaerobia estricta y halófila moderada teniendo un rango de 0.5% a 15% NaCl (óptima de 7.5% NaCl), en forma de bacilos cortos, gram positivos, tienen movilidad debido a la presencia de flagelos y son formadoras de esporas. Crece óptimamente a 32°C, pero tiene un rango que va de los 15°C hasta los 42°C y en valores de pH de 5.5 a 9.0, teniendo un valor óptimo de 8.0 (Wu, *et al.*, 2010).

Lactobacillus son bacterias en forma de bacilos rectos, capaces de crecer a pH ácido, catalasa negativa, generalmente no son móviles. Las especies que se desarrollan en alimentos pueden ser microaerófilas o anaerobias estrictas. Se caracterizan por no ser patógenas y ser utilizadas como cultivos iniciadores (Escobar, 2012; Winn, *et al.*, 2008). Algunos ejemplos de especies y sus usos son *L. delbruekii* usado comúnmente para la producción de yogur, *L. acidiphilus* para la leche ácida y encurtidos (Madigan, *et al.*, 2006).

Pediococcus son bacterias en forma de cocos, gram positivos, anaerobios facultativos y catalasa negativos. Este género se compone de 7 especies (Winn, *et al.*, 2008). Se caracterizan por estar en la clasificación de bacterias HALAB.

Leuconostoc, es una bacteria gram positiva en forma de cocos, no esporulados, no móviles. Son de importancia industrial por su uso en productos lácteos, conservas y vinos (Winn, *et al.*, 2008).

Lactococcus, es una bacteria aerobia productora de ácido láctico capaces de crecer a 10°C pero no a 45°C. Son gram positivas, no esporuladas, (Bedolla e IPN, 2004; Winn, *et al.*, 2008). La especie *Lactococcus lactis* son bacterias móviles presentes como microbiota natural de la leche, mientras que *Lactococcus garviae* se describe como una especie patógena que se encuentra en la piel de animales y plantas (García, 2011).

Proteus es una bacteria gram negativa con forma de bacilo no esporulado, con alta movilidad y son anaerobios facultativos. Es causante de infecciones urinarias (Madigan, *et al.*, 2006)

Micrococcus es una bacteria gram positiva, sin movilidad, no esporulada crece grupo de tétradas o racimos, necesita de oxígeno para su crecimiento (Madigan, *et al.*, 2006).

Sarcina, bacteria gram positiva, no esporulada, inmóvil con resistencia al ácido y anaerobios estrictos. Una de las características es la presencia celulosa en su pared celular. Son capaces de crecer a pH menor a 2. Los ambientes de los que se han aislado bacterias de este género son suelo, barro, heces y contenidos estomacales (Madigan, *et al.*, 2006).

Gordonia es una bacteria gram positiva, en forma de coco-bacilos, aerobios, catalasa positivos. Hay especies de este grupo que pueden causar infecciones en humanos con problemas de inmunodepresión (Forbes, *et al.*, 2009).

Rhodococcus es una bacteria en forma de cocos, gram positivo, aerobios, con resultado positivo para la enzima catalasa, no móviles. Algunas especies son causantes de infecciones en humanos inmunodeprimidos (Forbes, *et al.*, 2009, Gütler, *et al.*, 2010). La fuente de aislamiento más común es el suelo. Este género está conformado por 31 especies (Gütler, *et al.*, 2010).

Pantoea es una enterobacteria con forma de bacilos, que crece en presencia de oxígeno (Cruz, *et al.*, 2007) y a temperaturas de 20°C a 36°C (Dworkin, *et al.*, 2006). Se caracteriza por ser un patógeno en plantas, la cual se ha aislado de plantas, semillas, humanos y suelo. Algunos ejemplos son *Pantoea agglomerans* y *Pantoea terrea* (Winn, *et al.*, 2008).

Tetragenococcus es una bacteria en forma de cocos, gram positivo que se clasifica como HALAB. En este género se encuentran las especies *T. halophilus* y *T. muriaticus*, las cuales han sido aisladas de salsas fermentadas, pescado y salsa de soya (Uchida, *et al.* 2014). Pueden crecer a concentraciones de hasta 25% de cloruro de sodio. La especie *T. muriaticus* no es móvil. Sus condiciones de cultivo son 1 a 25% NaCl, 15°C a 40°C y pH de 5.0 a 9.6, de acuerdo a la necesidad de oxígeno es aerobio facultativo; mientras que las condiciones óptimas son 7 a 10% NaCl, pH de 7.5 a 8.0 y temperatura de 25°C a 30°C (Satomi, *et al.*, 1997). Para la especie *T. halophilus* las condiciones óptimas son 3 a 7% de sal, a valores de pH bajos (Kobayashi, *et al.*, 2004).

Salimicrobium son bacterias gram positivas en forma de cocos o bacilos, aerobios estrictos, no móviles, para las pruebas catalasa y oxidasa es positivo. Los rangos de condiciones para su crecimiento son 3-25% NaCl, pH entre 5.0 – 10.0 y temperaturas de 10°C hasta 40°C. Mientras que para su cultivo óptimo requiere concentraciones de 7.5% a 12.5% de sal con pH de 7.5 a temperatura de 37°C. Por las concentraciones a las que se desarrolla se le considera halófila moderada (de la Haba, *et al.*, 2011). Algunas especies son *S. album*, *S. halophilum*, *S. luteum* y *S. jeotgali* (Yoon, *et al.*, 2007; Choi, *et al.*, 2014).

Alkalibacillus, microorganismo gram positivo con forma de bacilos cortos o largos, es móvil y tiene la característica de formar esporas. Las condiciones para su cultivo son concentraciones de 5% a 30% NaCl, pH de 6.0 a 9.0 y temperatura de 25°C a 55°C. Algunas especies son *A. halophilus*, *A. salilacus*, *A. filiformis* y *A. haloalkaliphilus*. La especie *A. halophilus* tiene un crecimiento óptimo a concentraciones de cloruro de sodio que van de 10% a 20% en valores de pH cercanos a la neutralidad (7.0 a 8.0) y una temperatura de entre 30°C y 45°C (Tian, *et al.*, 2007).

Cobetia es una bacteria en forma de bacilos cortos, gram negativo, cuenta con flagelos por lo cual es móvil. Se desarrolla en condiciones aerobias. Es ligeramente halófila. La especie *Cobetia crustatorum* tiene como condiciones óptimas de crecimiento una temperatura de 25°C, pH de 5.0 a 6.0 y 6.5% NaCl (Kim, *et al.*, 2010).

Escherichia coli, esta bacteria se encuentra en el grupo de las enterobacterias. Son bacilos gram negativos, no esporulados, móviles, anaerobios facultativos, para las pruebas de catalasa y oxidasa son positivos y negativos, respectivamente. Se caracterizan por ser halotolerantes ya que pueden crecer a concentraciones de 6% de sal. Existen 5 cepas de *E. coli*, que pueden producir diarrea en el consumidor (Mejía, 2013).

Paenibacillus es una bacteria en forma de bacilos formadora de esporas, gram positiva, aerobia (Forbes, *et al.*, 2009) y catalasa positivo (Madigan, *et al.*, 2006).

Streptococcus tiene una morfología de cocos, gram positivos, anaerobios aerotolerantes. Algunas especies son tolerantes a la sal. A pesar de ser una bacteria patógena se utiliza para la producción de ácido y enzimas como coagulasas, lipasas y proteasas; así como algunas toxinas (Madigan, *et al.*, 2006).

Weissella es un coco, gram positivo, no móvil ni formador de esporas. La especie *W. thailandensis* crece a temperaturas de 25°C a 37°C, pH de 8.0 y concentraciones de 10% de NaCl (Tanasupawat, *et al.*, 2000).

Thalassomonas es una bacteria en forma de bacilo, gram negativo, aerobio, móvil y positivo para las pruebas de catalasa y oxidasa. Es capaz de crecer en presencia de NaCl (Hosoya, *et al.*, 2009).

Halomonas, grupo de bacterias en forma de bacilo curvo, gram negativo, no esporulado, con crecimiento a atmósfera anaerobia, son halófilas moderadas. Algunas especies son *Halomonas alkaliphila*, *H. boliviensis*, *H. halophila*, *H. halodenitrificans* y *H. salina* (de la Haba, *et al.*, 2011; Kanekar, 2012).

Brevibacterium son bacterias en forma de bacilos, gram positivo, aerobios, catalasa positivo y se desarrolla a pH menor de 6. La temperatura óptima es de 20°C a 25°C a concentraciones de 15% de sal (Robles, 2014).

Psychrobacter es un cocobacilo, gram negativo, aerobio, inmóvil, no pigmentado, no esporulado, catalasa y oxidasa positivo. Muchas especies de este género son capaces de crecer a 5°C y tienen una temperatura óptima de 20°C, pero no pueden desarrollarse en rangos de 35°C a 37°C (Juni, *et al.*, 1986). Son halotolerantes debido a que algunas especies soportan concentraciones de hasta 1.7 M de NaCl (Bakermans, *et al.*, 2006).

Halococcus son cocos de gram variable, no móviles, aerobios (Hensyl, 2000), el rango de sal para su crecimiento es de 8 a 30% por lo que se considera halófila, Las condiciones óptimas son 20% de NaCl, 45°C y pH de 9.5 a 10 (Kanekar, *et al.*, 2012).

Salinibacillus, es un género que agrupa bacilos, gram positivos, móviles y aerobios obligados. Para las pruebas de catalasa y oxidasa son positivo y variable, respectivamente. Se clasifican como halófilos moderados, debido a que necesitan la presencia de sal en el medio para su crecimiento. Algunas especies de este género son *Salinibacillus aidingensis* (5 - 20 % de NaCl, 28°C a 49°C, pH óptimo de 6.5 a 7.5) (Ren, *et al.*, 2005).

Alkalibacterium es una bacteria halófila aerobia, con morfología de bacilo, gram positivo, móvil por flagelos peritricos y no esporulado. La especie *Alkalibacterium*

psychrotolerans es negativo para las pruebas de catalasa y oxidasa, las condiciones para su crecimiento son pH de 9 – 12, una concentración de NaCl de 0 a 12% y temperaturas desde 5°C hasta 45°C. Cabe mencionar que las condiciones óptimas son pH de 9.5 a 10.5, 2 – 12% NaCl y 34°C (Yumoto, *et al.*, 2004). Otra especie de este grupo es *A. thalassium* es aerotolerante y halotolerante, las condiciones para su desarrollo son concentraciones de 0 a 11% de NaCl, pH de 7.0 a 11.0 y temperaturas entre 10°C y 42.5°C; sus condiciones óptimas son 1.0 a 2.5% de NaCl, pH de 9.0 y 37°C (Ishikawa, *et al.*, 2009).

Vibrio, este género se conforma por bacterias gram negativas, en forma de bacilos cortos, cuentan con flagelos y para la prueba de oxidasa resulta positivo. Se desarrolla en presencia como en ausencia de oxígeno. Debido a que crece a concentraciones de 1% a 3% de cloruro de sodio se clasifica como halófila moderada. Dentro de este género se encuentran tres bacterias patógenas para el humano, las cuales son *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus* (Castillo y Andino, 2010).

La segunda parte de discusión sobre la información, se centra en los quesos fresco de Chiautla y el ahumado de La Joya. La razón de haber elegido estos quesos entre la gran variedad de quesos mexicanos que existen fue el proceso de elaboración y en el caso del queso fresco de Chiautla el uso de la “sal de San Pedro”.

En primer lugar se tratará lo referente al queso fresco de Chiautla. Para su producción se utiliza la llamada “sal de San Pedro”, este punto es importante ya que se encontró que en la zona de elaboración del queso se utiliza exclusivamente dicha sal, lo cual dio a la tarea de investigar su lugar de extracción. Al hacer esta búsqueda no se encontró investigación alguna sobre la “sal de San Pedro”. Este último punto es un aspecto de importancia para la investigación de la diversidad microbiológica del queso.

En la descripción del proceso de elaboración del producto se menciona que dicha sal es de grano, por lo que no pasa por un proceso de refinación, llevándonos a la

posibilidad de presencia de bacterias halófilas en la sal y, consecuentemente, en el queso fresco. Como se observa en la Figura 43, en la que se representan las diferentes operaciones unitarias para su elaboración, la salazón del queso se realiza después del moldeado con sal de grano directamente sobre el queso, además no se lleva a cabo ningún calentamiento del queso que pueda destruir a las bacterias inoculadas a partir de la sal.

Mientras que para el queso ahumado de La Joya, se usa sal de grano directo sobre el queso para después pasar a la etapa de ahumado, en la cual no hay una temperatura lo suficientemente alta para eliminar las bacterias inoculadas a partir de la sal.

En cuanto a los medios de cultivo que se podrían utilizar para el aislamiento de las bacterias que se encuentren presentes en estos productos recomendaría los utilizados para productos lácteos (Tabla 22) por la similitud de características de los productos.

Para la “sal de San Pedro” se pueden utilizar los medios GYPSF, agar marino (Zobell) y el GYPB. Esto se podría decidir por la facilidad para conseguir los compuestos de cada medio, así como la complejidad de preparación del mismo tomando en cuenta el tiempo que se asignará para su realización.

En cuanto a los métodos independientes de cultivo, se puede realizar PCR – DGGE complementando con la secuenciación de la región 16S para así lograr una mejor identificación de la microbiota presente en los productos.

La poca presencia de investigación en esta área puede deberse a la falta de conocimiento sobre la importancia de los productos, en los cuales se podrían realizar estudios para certificar su calidad y de este modo apoyar a los productores en la difusión comercial de sus productos, como es el caso del queso Cotija.

Referente a los microorganismos presentes en los diferentes productos, se puede ver que en los productos de origen vegetal se observa mayoritariamente la presencia de *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Enterobacter*, *Pediococcus*,

Tetragenococcus, *Leuconostoc* y *Kocuria*. Para el caso de los productos de origen animal como la carne y marinos se encontraron los géneros *Lentibacillus*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Micrococcus*, *Pediococcus*, *Sarcina*, *Halomonas*, *Tetragenococcus* y *Salinococcus*. Mientras que en los productos lácteos se han identificado *Halomonas*, *Staphylococcus*, *Brevibacterium*, *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Kocuria*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Vagococcus* y *Marinilactibacillus*.

Se puede notar que los microorganismos presentes en los 3 diferentes grupos de productos que se investigaron son *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Lactococcus*, *Tetragenococcus* y *Enterococcus*.

Al hacer una comparación de las bacterias que se han identificado en zonas salinas como productos alimenticios se encuentran los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Kocuria*, *Lentibacillus* y *Marinilactibacillus*.

En cuanto a la clasificación de las diversas bacterias identificadas en estos productos es importante mencionar que la mayoría de estas son halotolerantes, mientras que una menor proporción de bacterias son halófilas extremas debido a que este grupo está conformado principalmente por arqueas.

Entre las bacterias aisladas e identificadas en los diversos artículos revisados se encontraron algunas bacterias que incluyen especies dañinas para el humano como el caso de *Vibrio*, *Enterobacter*, *E. coli* y *Staphylococcus*. Otras causan daños en personas con problemas de inmunodepresión, por ejemplo, algunas especies de los géneros *Gordonia* y *Rhodococcus*.

En cuanto a la aplicación y efectos de las bacterias en los alimentos descritos se puede ver que para el caso de la anchoíta salada se vio que las bacterias encontradas, *Halococcus* sp. y *Halobacterium* spp., tienen actividad lipolítica y proteolítica lo cual puede influir en las propiedades sensoriales del producto como aroma, color y textura. Referente al género *Lactibacillus*, las especies *L. casei*, *L.*

paracasei y *L. plantarum* tienen actividad lipolítica menor que *Micrococcus* y *Pediococcus* (Reinheimer y Zalazar, 2006).

Tomando en cuenta que la presencia de microorganismos lipolíticos influye en las características sensoriales, a menor cantidad de estas bacterias se obtendrán productos suaves; a medida que aumente la presencia de bacterias lipolíticas las propiedades sensoriales cambiarán dando como resultado productos de sabor y aroma más fuerte (Reinheimer y Zalazar, 2006).

El género *Leuconostoc* que se encontró en las coles ácidas, el encurtido de vegetales tradicionales y en el queso Gouda tiene actividad proteolítica, la cual en el caso del queso influye en el aroma y la formación de orificios en su superficie. Además cabe mencionar que esta bacteria es resistente a cambios de presión osmótica por presencia de cualquier tipo de soluto.

La producción de aromas dependen de dos metabolismos, uno es apartir de los hidratos de carbono que tienen como producto los aldehídos y cetonas y otro es el metabolismo de lípidos que da como resultado glicerol y los ácidos grasos que correspondan.

Además, dentro de las aplicaciones de las bacterias halófilas se encuentran la producción de enzimas las cuales son más resistentes a cambios en la presión osmótica debido a la resistencia a altas concentraciones de sal.

Finalmente, para el aislamiento de los microorganismos presentes en las diferentes muestras se puede observar que para su cultivo se utilizan diferentes condiciones de temperatura y tiempo, así como diversos medios en los cuales es importante tomar en cuenta las condiciones ambientales y nutricionales de su biota natural.

CONCLUSIONES

La sal es una fuente de microorganismos que pueden participar en el proceso de fermentación de los productos madurados.

Un factor de vital importancia para la selección de la microbiota que se desarrollará en el producto es la concentración de sal, que a su vez determina el a_w del medio donde se encuentre la microbiota a analizar.

Es relevante mencionar que no se encontró información acerca de productos origen mexicano, como los quesos Chiautla y ahumado de La Joya, en artículos de revistas científicas por lo que es una oportunidad de investigación para realizar una identificación de la población microbiana.

No todas las bacterias halófilas y halotolerantes presentes en alimentos son benéficas, ya que pueden provocar cambios indeseables en las características sensoriales del producto y pueden ser causantes de daño en la salud del consumidor.

Para aislar bacterias halófilas de productos alimenticios, muestras de suelo y agua se debe considerar la complejidad del medio en el que se desarrollan naturalmente. Particularmente, los micronutrientes que pudieran requerir, así como las condiciones de cultivo: pH, temperatura, a_w y oxígeno.

En cuanto a las bacterias que se encuentran con más frecuencia en los alimentos salados están los géneros *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Tetragenococcus*, *Staphylococcus* y *Bacillus*.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Abriouel, H., Benomar, N., Lucas, R. y Gálvez, A., 2011. Culture – independent study of microbial populations in brines during fermentation of naturally – fermented Aloreña green table olives. *International Journal of Food Microbiology*, 144, pp. 487 – 496.
2. Akolkar, A., Durai, D. y Desai, A., 2010. *Halobacterium* sp. SP1 (1) as a starter culture for accelerating fish sauce fermentation. *Journal of Applied Microbiology*, 109, pp. 44 – 53.
3. Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. y Walter, P., 2008. *Molecular biology of the cell*. 5ª edición. EE.UU.: Garland Science.
4. Álvarez, R., Barragán, E. y Chombo, P., 2005. Reglas de uso marca colectiva queso Cotija región de origen. Asociación Regional de productores de Queso Cotija.
5. AMISAC, 2015. Asociación Mexicana de la Industria Salinera A. C. *La industria salinera en México*. [En línea] Disponible en: http://www.amisac.org.mx/index_archivos/7.htm [Último acceso al 15 de mayo de 2015].
6. Andrews, A., 1998. El comercio maya prehispánico de la sal. *En*: J. Reyes ed. *La sal de México II*. México: Secretaría de Cultura de Colima, Capítulo 1.
7. Asencio, A., 2013. Permanent salt evaporation ponds in semi-arid mediterranean region as model systems to study primary production process under hypersaline conditions. *Estuarine, coastal and shelf science*, 124, pp. 24 – 33.
8. Avilés, B., 2014. Aislamiento e identificación de bacterias halófilas a partir de sal de grano. Tesis de licenciatura. UNAM: México.
9. Bakermans, C., Ayala del Río, H., Ponder, M., Vishnivetskaya, T., Gilichinsky, D., Thomashow, M., y Tiedje, J., 2006. *Psychrobacter*

- cryohalolentis* sp. nov. and *Psychrobacter arcticus* sp. nov., isolated from Siberian permafrost. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56, pp. 1285 – 1291.
10. Beaz, R., Romalde, J. y Prado, S., 2012. Identificación de bacterias del género *Vibrio* asociadas al cultivo de almeja. Caracterización y patogénesis. *Red de revistas científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*, 36, 1 – 2.
 11. Bedolla S. e IPN, 2004. *Introducción a la tecnología de alimentos*. 2ª edición. México: Limusa.
 12. Biscola, V., Todorov, S., Capuano, V., Abriouel, H., Gálvez, A. y Franco, B., 2013. Isolation and characterization of a nisin-like bacteriocin produced by a *Lactococcus lactis* strain isolated from charqui, a Brazilian fermented, salted and dried meat product. *Meat Science*, 93, pp. 607 – 613.
 13. Bravo, A., 2008. Estudio de las poblaciones microbianas de interés biotecnológico aisladas de queso Cotija. Tesis de Licenciatura. UNAM, México.
 14. Campbell. N. y Reece, J., 2007. *Biología*. 7ª edición. Madrid: Médica Panamericana.
 15. Casillas, J., 2013. Caracterización molecular de la microbiota bacteriana del queso Cotija elaborado en diversas regiones de México. Tesis de Maestría. UNAM, México.
 16. Castellón, B., 2007. *Un grano de sal: aportaciones etnoarqueológicas al estudio histórico de una industria ancestral*. [En línea] Disponible en: <http://www.journals.unam.mx/index.php/anhist/article/view/31577> [Último acceso el 15 de mayo de 2015].
 17. Castillo, Y. y Andino, F., 2010. Aspectos generales de los microorganismos. En: Y. Castillo, F. Andino eds. *Curso de microbiología de los alimentos. Un enfoque práctico para la inocuidad de los alimentos*. Capítulo 2.
 18. Cervantes, F., Villegas, A. y Espinoza, A., 2008. *Los quesos mexicanos genuinos. Patrimonio cultural que debe rescatarse*. Mexico: Mundi – Prensa

19. Choi, E.-J., Jin, H.-M., Kim, K.-H. y Jeon, C.-O., 2014. *Salimicrobium jeotgali* sp. Nov., isolated from salted, fermented food. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64/11, pp.
20. Cocolin, L., Manzano, M., Cantoni, C. y Comi, G., 2000. Development of a rapid method for the identification of *Lactobacillus spp.* isolated from naturally fermented Italian sausages using a polymerase chain reaction – temperatura gradient gel electrophoresis. *Letters in Applied Microbiology*, 30, pp. 126 – 129.
21. Coordinación General de Minería, 2013. *Perfil de mercado de la sal*. Secretaría de Economía. Dirección General de Desarrollo Minero.
22. Cortés A., 2009. Aplicación de la reacción en cadena de la polimerasa en la búsqueda de bacterias ácido lácticas en queso artesanal mexicano. Tesis de Licenciatura. UNAM, México.
23. Cruz, A., Cazacu, A. y Allen, C., 2007. *Pantoea agglomerans*, a plant pathogen causing human disease. *Journal of Clinical Microbiology*, 45/6, pp. 1989 – 1992.
24. De la Haba, R., Sánchez-Porro, C., Márquez, M. y Ventosa, A., Taxonomy of halophiles. En: K. Horikoshi, G. Antranikian, A. Bull, F. Robb y K. Stetter. Eds. *Extremophiles Handbook*. Sevilla: Springer, pp. 255 – 283.
25. De la Haba, R., Yilmaz, P., Sánchez-Porro, C., Birbir, M. y Ventosa, A., 2011. *Salimicrobium salexigens* sp. nov., a moderately halophilic bacterium from salted hides. *Systematic and Applied Microbiology*, 34/6, pp. 435 – 439.
26. Delgado, E., 2013. Producción de compuestos antibacterianos por bacterias ácido lácticas aisladas del queso Cotija. Tesis de Licenciatura. UNAM, México.
27. Denis, C., Gueguen, M., Henry, E. y Levert, D., 2001. New media for the numeration of cheese surface bacteria. *Lait*, 81/3, pp. 365 – 379.
28. Dorado, G., 2015. *50. Bioinformática: bases de datos y software de análisis*. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Córdoba. [En línea] Disponible en: <http://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol->

<mol/pdfs/50%20BIOINFORM%C3%81TICA.pdf> [Último acceso el 5 de Agosto de 2015]

29. Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Scheifer, K.-H. y Stackebrandt, E., 2006. *The Prokaryotes. A hand book on the Biology of bacteria: Proteobacteria: Gamma Subclass*. 3ª edición. Singapur: Springer.
30. Endo, A., Irisawa, T., Dicks, L. y Tanasupawat, S., 2014. Fermentations of East and Southeast of Asia. *Encyclopedia of Food Microbiology*, 1, pp. 846 – 851.
31. Escobar, G., 2012. Estudio de la distribución espacial de la microbiota bacteriana en queso Cotija por la técnica de FISH. Tesis de Maestría. UNAM, México.
32. Estrada, C., 2009. Análisis microbiológico de queso Cotija. Identificación de microorganismos patógenos mediante técnica de PCR punto final. Tesis de Licenciatura. UNAM, México.
33. Félix, M., Ramírez, E. y Yeannes, M. I., 2006. Bacterias halófilas extremas deteriorantes en anchoíta salada. *Revista de Ciencias Agrarias y Tecnología de Alimentos*, 24.
34. Fennema, O., 2000. *Química de los alimentos*. 2ª edición. Zaragoza : ACRIBIA.
35. Fernández M., 1990. Frutos y vegetales aderezados. *Revista de grasas y aceites*, 42, pp. 74 – 83.
36. FONAES, 2015. Fondo Nacional para el Apoyo a las Empresas en Solidaridad. Secretaría de Economía. *Extracción y envasado de la sal*. [En línea] Disponible en: http://www.fonaes.gob.mx/doctos/pdf/guia_empresarial/sal.pdf. [Último acceso al 15 de mayo de 2015].
37. Forbes, B., Sahn, Daniel. y Weissfled, A., 2009. Bailey and Scott. *Diagnóstico Microbiológico*. 12ª edición. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana.
38. Fukui, Y., Yoshida, M., Shozen, K.- C., Funatsu, Y., Tanako, T., Oikawa, H., Yano, Y. y Satomi, M., 2012 Bacterial communities in fish sauce mash using

- culture – dependent and –independent methods. *Journal of General and Applied Microbiology*, 58, pp. 273 – 281.
39. García, B., 2011. Detección de microorganismos lipolíticos durante las etapas de elaboración de un queso artesanal, mediante técnicas moleculares. Tesis de Maestría. UNAM, México.
 40. Gómez, B., 2010. Identificación de bacterias halófilas presentes en queso Cotija por métodos independientes de cultivo. Tesis de Licenciatura. UNAM, México.
 41. Graü, C., Elguezabal, L., Vallenilla, O. y Zerpa, A., 2003. Evaluación de la flora microbiana halófila contaminante del pescado seco – salado elaborado en el estado Sucre. *Revista Científica, FCV – LUZ*, 13 / 4, pp. 319 – 325.
 42. Guan, L., Cho, K. y Lee, J.- H., 2011. Analysis of the cultivable bacterial community in jeotgal , a korean salted and fermented seafood, and identification of its dominant bacteria. *Food microbiology*. 28, pp. 101 – 113.
 43. Gutler, V. y Seviour, R., 2010. Systematics of members of the genus *Rhodococcus*. **En:** A. Steinbuchel ed., *Microbiology monographs. Biology of Rhodococcus*. New York: Springer, pp. 1 – 28.
 44. Hensyl, W., 2000. Bergey´s Manual of Determinative Bacteriology. 9ª edición. E.U.A: Lippincott Williams & Wilkins.
 45. Hernández, A., Alfaro, I. y Arrieta, R., 2003. Microbiología industrial. (s/i):EUNED, pp. 93 – 94
 46. Hernández, I., 2012. Detección de *Salmonella* spp. En queso Cotija artesanal madurado por PCR en tiempo real. Tesis de Licenciatura. UNAM. México.
 47. Hernández, N., 2007. Identificación de bacterias proteolíticas aisladas de queso Cotija, un estudio microbiológico y fisicoquímico. Tesis de Licenciatura. UNAM, México.
 48. Holt, R. y Turner J., 1973. Las bases políticas de la economía. Madrid: Euramerica.
 49. Hosoya, S., Adachi, K. y Kasai, H., 2009. *Thalassomonas actiniarum* sp. nov. and *Thalassomonas haliotis* sp. nov., isolated from marine animals.

International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 59, pp. 686 - 690

50. INAES, 1998. Instituto Nacional de la Economía Social, 1998. Sal. Secretaría de Economía.
51. INAES, 2015. Instituto Nacional de la Economía Social. Secado y salado de marisco. Secretaría de Economía.
52. Ishikawa, M., Kodama K., Yasudai, H., Okamoto-Kainuma, A., Koizumi, K. y Yamasato, K., 2007. *Presence of halophilic and alkaliphilic lactic acid bacteria in various cheeses. Letters in Applied Microbiology*, 44, pp. 308 – 313.
53. Ishikawa, M., Nakajima, K., Kanamori, H., Itamiya, Y., Furukawa, S., Yamamoto, Y. y Yamasato, K., 2005. *Halolactibacillus halphilus* gen. Nov., sp. Nov. and *Halolactibacillus miurensis* sp. Nov., halophilic and alkaliphilic marine lactic acid bacteria constituting a phylogenetic lineage in *Bacillus* rRNA group 1. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55, pp. 2427 – 2439.
54. Ishikawa, M., Nakajima, K., Yanagi, M., Yamamoto, Y. y Yamasato, K., 2003. *Marinilactibacillus psychrotolerans* gen. Nov., sp. Nov., a halophilic and alkaliphilic marine lactic acid bacteria isolated from marine organisms in temperate and subtropical areas of Japan. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53, pp. 711 – 720.
55. Ishikawa, M., Tanasupawat, S., Nakajima, K., Kanamori, H., Ishisaki, S., Kodama, K., Okamoto-Kainuma, A., Koizumi, Y., Yamamoto, Y. y Yamasato, K., 2009. *Alkalibacterium thalassium* sp. Nov., *Alkalibacterium pelagium* sp. Nov., *Alkalibacterium putridalgicola* sp. Nov. And *Alkalibacterium kapii* sp. Nov., slightly halophilic and alkaliphilic marine lactic acid bacteria isolated from marine organisms and salted foods collected in Japan and Thailand. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59, pp. 1215 – 1226.
56. Jung, M.- J., Kim, M.- S., Roh, S., Shin, K.- S. y Bae, J.-W., 2010 (a). *Salinicoccus carniancri* sp. nov., a halophilic bacterium isolated from a

- Korean fermented seafood. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60, 653 – 658.
57. Jung, M.-J, Roh, S., Kim, M.-S. y Bae, J.-W., 2010 (b). *Lentibacillus jetogali* sp. Nov., a halophilic bacterium isolated from traditional Korean fermented food. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60, pp. 1017 – 1022. (b)
58. Juni, E. y Heym G., 1986. *Psychrobacter immobilis* gen. nov. sp.: Genospecies composed of gram negative, aerobic, oxidase – positive coccobacilli. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 36 / 3, pp. 388 – 391.
59. Kanekar, P., Kanekar, S., Kelkar, A. y Dhakephalkar P., 2012. Halophiles – Taxonomy, diversity, physiology and applications. En: T. Satyanarayama, B. Johri, A. Prakash eds. *Microorganisms in environmental management. Microbes and Environment*. New York: Springer, pp. 1 – 29.
60. Kim, J., Jung, M.-J., Roh, S., Nam, Y.- D., Shin, K.- S. y Bae, J.-W., 2011. *Virgibacillus alimentarius* sp. nov., isolated from a traditional korean food. *International Journal of Food Microbiology*, 61, pp. 2851 – 2855.
61. Kim, M.-S., Roh, S. y Bae, J.-W., 2010. *Cobetia crustatorum* sp. Nov., a novel slightly halphilic bacterium isolated from traditional fermented seafood in Korea. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60, pp. 620 – 626.
62. Kim, S.-B., Nedashkovskaya, O., Mikhailov, V., Han, S.- K., Kim, K.- O., Rhee, M.- S. y Bae, K.- S., 2004. *Kocuria marina* sp. nov., a novel actinobacterium isolated from marine sediment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54/5, pp. 1617 – 1620.
63. Kimura, B., Konagaya, Y. y Fujii, T., 2001. Histamine formation by *Tetragenococcus muriaticus*, a halophilic lactic acid bacterium isolated from fish sauce. *International Journal of Food Microbiology*, 70, pp. 71 – 77.
64. Kobashi, T., Kajiwara, M., Wahyuni, M., Hamada-Sato, N., Imada, C. y Watanabe, E., 2004. Effect of culture conditions on lactic acid production of

- Tetragenococcus* species. *Journal of Applied Microbiology*, 96, pp. 1215 – 1221.
65. Kobayashi, T., Kajiwara, M., Wahyuni, M., Hamada-Sato, N., Imada, C. y Watanabe, E., 2004. Effect of culture conditions on lactic acid production of *Tetragenococcus* species. *Journal of Applied Microbiology*, 96, pp. 1215 – 1221.
66. Lee, S., Jung, J. y Jeon, C.- O., 2012. Draft genome sequence of *Salimicrobium* sp. strain MJ3, isolated from Myulchi-Jeot, korean fermented seafood. *Journal of Bacteriology*, 194/23, pp. 6695.
67. Lee, J.-C., Li, W.-J., Xu, L.-H., Jiang, C.-L. y Kim, C.-J., 2008. *Lentibacillus salis* sp. Nov., a moderately halophilic bacterium isolated from a salt lake. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58, pp. 1838 – 1843.
68. Lenntech, 2015. Water treatment solutions [En línea] Disponible en: <http://www.lenntech.es/procesos> [Último acceso el 17 de mayo de 2015]
69. Madigan, M., Martinko, J. y Parker, J., 2006. *Brock, Biology of microorganisms*. 11ª edición. EE.UU.: Pearson Education.
70. Marti, Miriam. Historia general. La marcha de la sal de Gandhi. [En línea] Disponible en: <http://historiageneral.com/2013/03/11/la-marcha-de-la-sal-de-gandhi/> [Último acceso el 26 de mayo de 2015].
71. Mc Murry, J., 2008. *Química orgánica*. 7ª edición. México: CENGAGE – Learning.
72. Mejía, H., 2013. Detección de cepas patogénicas de *Escherichia coli* en queso Cotija artesanal madurado producido en la región de origen, mediante la técnica de PCR tiempo real. Tesis de Licenciatura. UNAM, México.
73. Montriwong, A., Kaewphuak, S., Rodtong, S., Roytrakul, S. y Yongsawatdigul, J., 2012. Novel fibronolytic enzymes from *Virgibacillus halodenitrificans* SK1-3-7 isolated from fish sauce fermentation. *Process biochemistry*, 47, pp. 2379 – 2387.

74. Morales, L., Pérez, E. y Rojas, J., 2013. Exportación de brotes tiernos de bambú en conserva a Shanghai, China. Tesis. Universidad Veracruzana. México.
75. Muyzer, G. y Smalla, K., 1998. Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 73/1, pp. 127 - 141.
76. Mwirichia, R., Muigai, A., Tindall, B., Boga, H. y Stackebrandt, E., 2010. Isolation and characterisation of bacteria from the haloalkaline Lake Elmententia, Kenya. *Extremophiles*, 14, pp. 339 – 348.
77. Olvera, M., 2013. Evaluación de la inocuidad de *Enterococcus spp.* aislados del queso Cotija. Tesis de Maestría. UNAM, México.
78. Palacios, D. y Chassin-Noria, O., 2010. Simulación de la capacidad de DGGE y PCR- RFLP para detectar variación genética en secuencias de ADN. *Biológicas*, 12/1, pp. 33 – 39.
79. Pogacic, T., Maillard, M.- B., Leclerc, A., Hervé, C., Chuat, V., Yee, A., Valence, F. y Thierry, A., 2015. A methodological approach to screen diverse cheese-related bacteria for their ability to produce aroma compounds. *Food microbiology*, 46, pp. 145 – 153.
80. Ramírez, N., Serrano, J. y Sandoval, H., 2006. Microorganismos extremófilos. Actinomicetos halófilos en México. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 37/3, pp. 56 – 71.
81. Reece, A. y Hobbins, J., 2010. *Obstetricia clínica*. 3ª edición. Buenos Aires: Médica Panamericana.
82. Reinheimer, J. y Zalazar C., 2006. *Avances en microbiología, bioquímica y tecnología de quesos*. s/n edición. Santa Fe: Universidad Nacional del Litoral.
83. Ren, P.-G. y Zhou, P.- J., 2005. *Salinibacillus aidingensis* gen. Nov., sp. nov. and *Salinibacillus kushneri* sp. Nov., moderately halophilic bacteria isolated from a neutral saline lake in Xin – Jiang, China. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55, pp. 949 – 953.

84. Robles, T., 2014. Identificación molecular de microorganismos aislados del queso Cotija y de sus materias primas. Tesis de Licenciatura. UNAM, México.
85. Rodicio, M. y Mendoza, M., 2004. Identificación bacteriana mediante secuenciación del ARNr 16S: Fundamento, metodología y aplicaciones en microbiología clínica. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*. 22/4, pp. 238 – 245.
86. Román, S., Guerrero, L. y Ferrer, S., 2000. Influencia de la calidad de la leche y la estacionalidad sobre el rendimiento del queso gouda. *Revista Científica, FCV – LUZ*, 10 / 5, pp. 399 – 404.
87. Romero, R., 2007. Microbiología y parasitología humana. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias. 3ª edición. México: Médica Panamericana.
88. Sal La Fina, 2011. Nuestro proceso. [En línea] Disponible en: <http://www.lafina.com.mx/Proceso> [Último acceso al 15 de mayo de 2015].
89. Salto, I., 2013. Identificación y cuantificación de *Staphylococcus aureus* en queso Cotija artesanal madurado. Tesis de Licenciatura. UNAM, México.
90. Sarafin, Y., Selva, M., Velmurugan, S., Michaelbabu, M. y Citarasu, T., 2014. Kocuria marina BS-15 a biosurfactant producing halophilic bacteria isolated from solar salt works in India. *Saudi Journal of Biological Sciences*, pp. 1 – 9.
91. Satomi, M., Kimura, B., Hayashi, M., Okuzumi, M. y Fujii, T., 2004. *Marinospirillum insulare* sp. Nov., a novel halophilic helical bacterium isolated from kusaya gravy. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54, pp. 163 – 167.
92. Satomi, M., Kimura, B., Mizoi, M., Sato, T. y Fujii, T., 1997. *Tetragenococcus muriaticus* sp. nov., a new moderately halophilic lactic acid bacterium isolated from fermented squid liver sauce. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 47/3, pp. 832 – 836.
93. Schornsteiner, E., Mann, E., Bereuter, O., Wagner, M. y Schmitz-Esser, S., 2014. Cultivation – independent analysis of microbial communities on

- Austrian raw milk hard cheese rinds. *International Journal of Food Microbiology*, 180, pp. 88 – 97.
94. Smid, E., Erkus, O., Spus, M., Wolkers-Rooijackers, J., Alexeeva, S. y Kleerebezem, M., 2014. Functional implications of the microbial community structure of undefined mesophilic starter cultures. *Microbial cell factories*, 13/1, pp. 1 – 9.
95. Somma, M. y Querci, M., 2007. Análisis de la presencia de organismos genéticamente modificado en muestras de alimentos. Sesión No. 6. Reacción en cadena de la Polimerasa. Institute for health and consumer protection. European Comission.
96. Spring, S., Ludwig, W., Marquez, M.C., Ventosa, A. y Schleifer, K.-H., 1996. *Halobacillus* gen. Nov., with descriptions of *Halobacillus litoralis* sp. nov. and *Halobacillus trueperi* sp. nov., and transfer of *Sporosarcina halophila* to *Halobacillus halophilus*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 46, pp. 492 – 496.
97. Stainer, R., Ingraham, J., Wheelis, M. y Painter, P., 1996. *Microbiología*. 2ª edición. España: Reverté.
98. Tanasupawat, S., Shida, O., Okada, S. y Komagata, K., 2000. *Lactobacillus acidipiscis* sp. Nov. And *Weissella thailandensis* sp. Nov., isolated from fermented fish in Thailand. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50, pp. 1479 – 1485.
99. Tian, X.-P., Dastager, S.G., Lee, J.-C., Tang, S.-K., Zhang, Y.-Q., Park, D.-J., Kim, C.-J. y Li, W.-J., 2007. *Alkalibacillus halophilus* sp. Nov., a new halophilic species isolated from hypersaline soil in Xin – Jiang province, China. *Systematic and Applied Microbiology*, 30, pp. 268 – 272.
100. Tortora, G., Funke, B. y Case, C., 2007. *Introducción a la microbiología*. 9ª edición. Buenos Aires: Médica Panamericana.
101. Uchida, M., Miyoshi, T., Yoshida, G., Niwa, K., Mori, M. y Wakabayashi, H., 2014. Isolation and characterization of halophilic lactic acid bacteria acting as a starter culture for sauce fermentation of the red

- alga Nori (*Porphyra yezoensis*). *Journal of Applied Microbiology*, 116/6, pp. 1506 – 1520.
102. Waino, M., Tindall, B.J., Schumann, P. y Ingvorsen, K., 1999. *Gracilibacillus* gen. Nov., with description of *Gracilibacillus halotolerans* gen. nov., sp. nov.; transfer of *Bacillus dipsosauri* to *Gracilibacillus dipsosauri* comb. Nov., and *Bacillus salexigens* of the genus *Salibacillus* gen. nov., as *Salibacillus salexigens* comb. Nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Bacteriology*, 49/2, pp. 821 – 831.
103. William, E., 2003. La sal de la tierra. Michoacán: El Colegio de Michoacán. Secretaría de Cultura del Estado de Jalisco. pp. 171 – 173.
104. Winn, Allen, Janda, Koneman, Procop, Schreckenberger y Woods, 2008. Koneman. Diagnóstico microbiológico. 6^a. Argentina: Médica Panamericana.
105. Wu, X.-Y., Shi, K.-L., Xu, X.-W., Wu, M., Oren, A. y Zhu, X.-F., 2010. *Alkaliphilus halophilus* sp. nov., a strictly anaerobic and halophilic bacterium isolated from a saline lake, and emended description of the genus *Alkaliphilus*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60, pp. 2898 – 2902.
106. Yarza, P., Yilmaz, P., Pruesse, E., Glockner, FO., Ludwig, W., Schleifer, KH., Whitman, WB., Euzéby, J., Amann, R. y Roselló – Móra, R., 2014. Uniting the classification of culture and unculture bacteria and archaea using 16S rRNA gene sequences. *Nature reviews Microbiology*, 12/9, pp. 635 – 645.
107. Yoon, J.-H., Kang, K.-H. y Park, Y.-H., 2002. *Lentibacillus salicampi* gen. nov., sp. Nov., a moderately halophilic bacterium isolated from salt field in Korea. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52, pp. 2043 – 2048.
108. Yoon, J.-H., Kang, K.-H. y Park, Y.-H., 2003. *Psychrobacter jeotgali* sp. nov., isolated from jeotgal, a traditional Korean fermented seafood. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53, pp. 449 – 454.

109. Yoon, J.-H., Kang, S.-Y. y Oh, T.-K., 2007. Reclassification of *Marinococcus* Hao et al. 1985 as *Salimicrobium album* gen. Nov., comb. Nov. And *Bacillus halophilus* Ventosa 1990 as *Salimicrobium halophilum* comb. Nov. And description of *Salimicrobium luteum* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57, pp. 2406 - 2411
110. Yu, J., Gao, W., Qing, M., Sun, Z., Wang, W., Liu, W., Pan, L., Sun, T., Wang, H., Bai, N. y Zhang, H., 2012. Identification and characterization of lactic acid bacteria isolated from traditional pickles in Sichuan, China. *Journal of General and Applied Microbiology*, 58, pp. 163 – 172.
111. Yumoto, I., Hirota, K., Nodasaka, Y., Yokota, Y., Hoshino, T. y Nakajima, K., 2004. *Alkalibacterium psychrotolerans* sp. Nov., a psychrotolerant obligate alkaliphile that reduces an indigo dye. *Internatinal Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54, pp. 2379 – 2383.
112. Zúñiga, A., 2009. Descripción e identificación de la comunidad bacteriana presente en el Cotija por métodos moleculares. Tesis de Maestría. UNAM, México.

NORMAS

1. Codex Stan 266 – 1966. Codex Standart for Gouda. [En línea] (Actualizado al 2013). Disponible en: www.codexalimentarius.org/input/download/standards/.../CXS_266s.pdf (Último acceso el 14 de julio de 2015)
2. Committee on Codex Specifications, 1981. Monographs. Sodium chloride. En: Committee on Codex Specifications. Food chemical codex. Washington: National Academy Press, pp. 282 – 283.
3. FAO. 2006. *Codex STAN 150-1985. Norma del Codex para la sal de calidad alimentaria*. [En línea](Actualizado al 2006) Disponible en: <http://www.afasal.com/docs/Codex%20Alimentario.pdf> [Último acceso el 15 de mayo de 2015).

4. FAO, 2009. *Código de prácticas para el pescado y los productos pesqueros*. Codex Alimentarius. Roma.
5. Codex alimentarius, 2009. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 2009. *Codex alimentarius. Código de prácticas para el pescado y los productos pesqueros*. [En línea] (Actualizado al 2008). Disponible en: ftp://ftp.fao.org/codex/publications/Booklets/Practice_code_fish/Practice_code_fish_2009_ES.pdf [Último acceso al 15 de mayo de 2015].
6. NMX – F – 735 – COFOCALEC – 2011. Consejo para el Fomento de la Calidad de la Leche y sus Derivados, 2011. NMX – F – 735 – COFOCALEC – 2011. Sistema producto leche – Alimentos – Lácteos – Alimento Lácteo Regional – Queso Cotija Artesanal Madurado – Denominación, especificaciones y métodos de prueba. Organismo Nacional de Normalización del Sistema Producto Leche.
7. NMX – F – 008 – 1988. Alimento. Sal yodada y sal yodada fluorurada. Especificaciones. Normas Mexicanas. Dirección de Normas.
8. NOM – 040 – SSA1-1993. Secretaría de Salud. 1995. NOM – 040 – SSA1-1993, bienes y servicios. Sal yodada y sal yodada fluorurada. Especificaciones sanitarias.