

SUSTRATOS NO CONVENCIONALES Y SU APLICABILIDAD EN LA PRODUCCIÓN DE *Lactobacillus casei*

(UNCONVENTIONAL SUBSTRATES AND THEIR APPLICABILITY IN THE PRODUCTION OF *Lactobacillus casei*)

Gabriel Cravo, Llelysmar Crespo.

Universidad Nacional Experimental de los Llanos Occidentales “Ezequiel Zamora” UNELLEZ. Programa Ciencias del Agro y del Mar. San Carlos-Estado Cojedes, Venezuela.

cravo50@gmail.com / llely.crespo@gmail.com.

Recibido: 29-12-2021/ Aceptado: 09-04-2022

RESUMEN

Los microorganismos para su desarrollo presentan algunos requerimientos nutricionales básicos entre los que resaltan las fuentes de carbono y energía, pero no son suficientes para garantizar su crecimiento, por lo que dependiendo de la especie pueden emplearse otros compuestos más complejos como aminoácidos, vitaminas y nucleótidos, con la finalidad de obtener un medio de cultivo que emule a los caldos comerciales. Con esta motivación a través de la presente investigación se pretendió determinar la aplicabilidad de algunos sustratos no convencionales en la producción de *Lactobacillus casei*. Para ello se diagnosticó la situación actual para el proceso de producción de *Lactobacillus casei*, posteriormente se establecieron los parámetros de experimentación para la producción semicontinua de *Lactobacillus casei* y por último se valoró la aplicabilidad de los sustratos lactosuero, mango (*Mangifera indica L.*), fresa (*Fragaria vesca*) y *Garcinia madruno*, logrando demostrar que aunque estos sustratos no convencionales presentan un buen rendimiento durante el proceso metabólico del microorganismo, el lactosuero se presenta como la alternativa más efectiva por dos razones principales, en primer lugar por ser una fuente de nutrientes (proteínas solubles, lípidos, sales minerales, entre otros) a bajo costo y en segundo lugar por reflejar la mayor producción de biomasa al ubicarse en $1,19 \times 10^9$ Ufc/ml en un lapso de 9 horas.

Palabras clave: *Lactobacillus casei*, lactosuero, mango, fresa y *Garcinia madruno*

ABSTRACT

Microorganisms have some basic nutritional requirements for their development, among which carbon and energy sources stand out, but they are not enough to guarantee their growth, so depending on the species, other more complex compounds such as amino acids, vitamins and nucleotides can be used. In order to obtain a culture medium that emulates commercial broths. With this motivation, through the present investigation, it was intended to determine the applicability of some unconventional substrates in the production of *Lactobacillus casei*. To this end, the current situation for the production process of *Lactobacillus casei* was diagnosed, subsequently the experimental parameters for the semi-continuous production of *Lactobacillus casei* were established and finally the applicability of the substrates whey, mango (*Mangifera indica* L.), strawberry (*Fragaria vesca*) and *Garcinia madruno*, managing to demonstrate that although these unconventional substrates have a good performance during the metabolic process of the microorganism, whey is presented as the most effective alternative for two main reasons, firstly because it is a source of nutrients (soluble proteins, lipids, mineral salts, among others) at a low cost and secondly because it reflects the highest biomass production, being located at 1.19×10^9 Ufc/ml in a period of 9 hours.

Keywords: *Lactobacillus casei*, whey, mango, strawberry and *Garcinia madruno*.

INTRODUCCIÓN

Los microorganismos entre ellos las bacterias, han sido claves en el enfrentamiento y solución de problemas en la agricultura, alimentación, salud, y como nuevas fuentes de energía y conservación del medio ambiente (González *et al.*, 2002). Dentro de este grupo, se encuentran las “bacterias lácticas” que producen lactato por la fermentación de azúcares simples a un pH ácido y a un tiempo definido, liberando productos que dan sabor a algunos alimentos.

Por su parte, los lactobacilos presentan particularidades para cada especie respecto a los requerimientos nutricionales complejos para los aminoácidos, péptidos, derivados de ácidos nucleicos, vitaminas, sales, ácidos grasos o ésteres de ácidos grasos y carbohidratos fermentables. Requieren no sólo carbohidratos como fuentes de Carbono y energía, sino también: aminoácidos, vitaminas y nucleótidos. Generalmente estos requerimientos variados suelen suplirse cuando el medio de cultivo de los lactobacilos contiene carbohidratos

fermentables, peptona, extracto de carne y extracto de levadura, aunque una suplementación con jugo de tomate, manganeso, acetato y ésteres del ácido oleico, especialmente Tween 80, resulta estimulador y hasta esencial para muchas especies. Por eso, estos compuestos se incluyen en el medio MRS. Existen especies que se adaptan a sustratos muy particulares y necesitan factores de crecimiento especiales (Bergey y Holt, 1994).

Asimismo, requieren de micronutrientes en pequeñas cantidades en primer lugar porque influyen en el crecimiento celular, además de que funcionan como cofactores y sirven de estructura para varias enzimas, por ejemplo, el manganeso, es un cofactor de crecimiento esencial para el *Lactobacillus casei* debido a su función como constituyente de la enzima lactosa deshidrogenasa por consiguiente debe ser añadido al medio de cultivo en forma de $MnSO_4 \cdot H_2O$. Esto es necesario junto con la suplementación de extracto de levadura para mejorar la productividad de ácido láctico y el consumo de lactosa (Madigan *et al.*, 2004).

En este sentido, a través de la presente investigación se pretende determinar la aplicabilidad de algunos sustratos no convencionales en la producción de *Lactobacillus casei*, tomando en consideración la premisa de González *et al.*, (2008) que indica que un sustrato debe suplir no solo los requerimientos nutricionales característicos de la especie, sino también garantizar que carezca de compuestos que puedan inhibir al probiótico o que las cantidades de estas sustancias inhibitorias permitan el crecimiento del microorganismo a utilizar.

MATERIALES Y MÉTODOS

En atención a las características que presenta esta investigación y a sus objetivos, la misma se encuentra enmarcada dentro de la modalidad exploratoria, debido a que centra su atención en indagar sobre nuevos problemas, identificar variables promisorias y establecer prioridades para investigaciones futuras (Hernández *et al.*, 2014), como es el caso del empleo de sustratos no convencionales en la producción de biomasa de *Lactobacillus casei*.

En ese mismo sentido, la investigación hace énfasis en la recolección de la información en el contexto, porque permiten generar un conocimiento nuevo y para ello se vale de

instrumentos como la observación directa. En este sentido, la población estuvo constituida por 1500 ml y con una muestra representativa de 25 ml del sustrato inoculado cada hora por un lapso de 10 a 12 horas.

Hechas las consideraciones anteriores, la investigación se desarrolló mediante las siguientes fases:

Fase I. Diagnóstico de la situación actual para el proceso de producción de *Lactobacillus casei*. Durante esta fase se realizó una revisión bibliográfica extensa sobre los equipos empleados en el control de cultivos de *Lactobacillus casei*, específicamente biorreactores y sus dispositivos auxiliares (agitación, pH, entre otros); así como lo relacionado con los caldos de cultivo comerciales y los medios no convencionales, que presentan nutrientes que pueden ser aprovechados en la producción de este tipo de microorganismo, lo cual permitió seleccionar para el estudio cuatro tipos de sustratos entre ellos lactosuero, mango (*Mangifera indica L.*), fresa (*Fragaria vesca*) y *Garcinia madruno*.

Fase II. Establecimiento de los parámetros de experimentación para la producción semicontinua de *Lactobacillus casei*. Esta fase de la investigación centró su atención en el estudio de las condiciones habituales de ejecución del proceso de producción de *Lactobacillus casei*, a fin de aumentar la probabilidad de detectar cambios significativos en las respuestas (biomasa) y obtener un mayor conocimiento del comportamiento del proceso. Para ello, se caracterizó física, química y microbiológicamente los sustratos empleados tomando en consideración lo establecido en las normas COVENIN 370:1997, COVENIN 658-1997 y COVENIN 1104:1996. Posteriormente, se acondicionaron los diferentes sustratos (mango, fresa, lactosuero, *Garcinia madruno*) para ser utilizados en el proceso de crecimiento del microorganismo. Asimismo, reactivos y aditivos se prepararon de acuerdo a las concentraciones de sustrato para cada corrida y se agregaron en el recipiente del biorreactor para la producción de biomasa, donde se proporcionaron las condiciones óptimas de crecimiento al microorganismo. En relación con este último, se emplearon las técnicas del laboratorio de microbiología de la UNELLEZ – SAN CARLOS, y lo

establecido en las normas COVENIN 1337-90. A su vez, se procedió a preparar los medios de cultivo necesarios para la siembra en placas del microorganismo, siguiendo el procedimiento descrito por Cravo (2013) para la preparación de agar, agua peptonada, sustrato, inóculo y proceso de fermentación. Una vez iniciado y estabilizado el proceso se midieron los sólidos solubles totales (° Brix) de inicio y se procedió a la toma de las muestras, las cuales se realizaron en intervalos de tiempo de 1 hora, desde la hora de inicio (h_0) hasta la hora final (h_{12}).

Fase III. Valoración de la aplicabilidad de los sustratos no convencionales. En esta etapa del estudio, se procedió a comparar los rendimientos de producción de *Lactobacillus casei* (mayor cantidad de biomasa en el menor tiempo posible) en los diferentes sustratos empleados, a fin de determinar el grado en que estos pueden ser empleados para garantizar el crecimiento microbiano.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 1, se muestran las principales características de los sustratos empleados en la investigación entre los que destaca, el lactosuero con un valor promedio de los sólidos solubles totales (6,65 °Brix) muy similar a los obtenidos por Guerrero *et al.*, (2010) y Escobar *et al.*, (2010) indicando la presencia de los azúcares de la leche. Asimismo, la pulpa de mango mostró una media de 7,4 °Brix acorde con su madurez fisiológica, en este sentido para frutos maduros los valores de los SST tienden a incrementarse debido a la acumulación de azúcares libres durante la maduración, producto de la hidrólisis del almidón por la acción de las amilasas (Cárdenas-Coronel *et al.*, 2012; Maldonado-Astudillo *et al.*, 2016).

Por su parte, el *Garcinia madruno* reportó un contenido de azúcares totales similares a los reportados por Cravo (2020) y un poco bajo (7,9 ° Brix) comparado con el obtenido por Ruíz (2014), esta discrepancia puede deberse en gran medida al nivel de incidencia de la luz solar, la condición geográfica (altitud menor a 300 m sobre el nivel del mar) y la acidez de los suelos propias de la zona del Alto Apure (Región Llanera Venezolana). En lo que

respecta a la fresa refleja un valor promedio (5,5 ° Brix), el cual es un poco bajo comparado con el descrito por Martínez *et al.* (2008) quien evaluó distintas variedades de esta fruta (7,78 ° Brix), por lo que dicha variación puede atribuirse a factores meteorológicos, el tipo de suelo, además de que las fresas presentan la peculiaridad de que luego de su recolección, sus reacciones metabólicas básicas continúan, entre ellas la respiración, utilizando como sustrato los azúcares resultantes de la hidrólisis de la sacarosa, disminuyendo con ello los sólidos solubles del fruto, proceso que resulta activo durante todo el periodo de post recolección (Almenar, 2005; Escalante, 2015), no obstante la cantidad presente de azúcares tanto en este sustrato como en el resto de los estudiados se considera suficiente para contribuir con el desarrollo del microorganismo.

Tabla 1. Características físicas, químicas y microbiológicas de los sustratos

Parámetros	Sustratos			
	Lactosuero	Fresa	Mango	<i>Garcinia madruno</i>
Acidez (%)	1,09	0,82	0,15	19,07
SST (°Brix)	6,65	5,5	7,4	7,9
Cenizas (%)	-	0,52	0,44	2,06
Grasa (%)	-	0,48	0,39	1,48
Humedad (%)	-	84,90	85,44	89,40
pH	6,35	4,10	3,02	3,86
Densidad (g/ml)	1,03	-	-	-
Proteína (%)	0,91	0,72	0,78	6,66
Nitrógeno total (%)	-	-	-	2,32
Coliformes total (ufc)	0	0	0	0
Coliformes fecal (ufc)	0	0	0	0

Con respecto al contenido de proteínas en el caso de la fresa reflejó un valor cercano al mostrado por Martínez *et al.*, (2008), esta variación puede atribuirse a factores de tipo de cultivar, meteorológicos, suelo, entre otros. Además, según lo descrito por Crisosto y Mitchell (2007) su contenido es inferior al 1%, lo cual es un indicativo de que la mayor parte está representada por enzimas que participan en el proceso de maduración.

Por su parte, el mango muestra que aunque no representa una fuente rica en proteína, posee varios péptidos reguladores metabólicos, de transcripción y de transporte (Wall-Medrano *et al.*, 2015). Asimismo, el lactosuero reflejó un valor (0,91 %) muy similar al descrito por Crespo (2020) (0,92 %), Linares *et al.*, (2015) (0,6 % - 1 %), Miranda *et al.*, (2007) (0,93%) y Londoño *et al.*, (2008) (0,95%), demostrando con ello que es una fuente nutritiva rica en aminoácidos esenciales (Ha y Zemel, 2003; Ibrahim *et al.*, 2005), que si es utilizada como sustrato favorece el crecimiento del *Lactobacillus casei*.

Por otra parte, en lo que se refiere a la humedad la fresa presenta un valor (84,90 %) cercano al reflejado por Escalante (2015). Al mismo tiempo que, el mango muestra el 85,44 %, valor que se encuentra dentro del rango descrito por Olivas-Aguirre (2014) y Wall-Medrano *et al.*, (2015), indicando en ambos casos que dichas frutas poseen un elevado un contenido de agua y un moderado porcentaje de carbohidratos.

A su vez, la humedad presente en la pulpa de *Garcinia madruno* es muy similar al reportado por Cravo (2020) y Chávez *et al.*, (2012) (82,1 %) y ligeramente mayor comparado con el indicado por Ruíz (2014) en frutos procedentes de España (71,9 %), sin embargo esta diferencia en cuanto a su contenido acuoso, podría deberse en gran medida de las condiciones climáticas así como lo describe Cravo (2020) y su presencia en el sustrato afecta de forma significativa el crecimiento del *Lactobacillus casei*, debido a que la mayoría de los microorganismos necesitan gran cantidad de agua libre para desarrollar en mejor condición sus actividades.

En lo que se refiere a los minerales presentes en los sustratos, el que presenta mayor cantidad es el *Garcinia madruno*, representando una fuente de nutrientes importante junto a

las vitaminas, que es aprovechada por el microorganismo para mantener un buen crecimiento, debido a que la velocidad de incremento de la población bacteriana depende en gran medida de la composición y concentración del medio de sustrato, así como de presencia de inhibidores, temperatura y pH (Barrazueta-Rojas *et al.*, 2019).

Por otra parte, en lo que respecta a la cinética de crecimiento del microorganismo para el sustrato fresa, la máxima cantidad de biomasa obtenida al emplear una concentración del 15% se ubicó en un rango cercano a 5×10^7 Ufc/ml en un tiempo de 12 h (figura 1), con una fase de adaptación de 0 a 2 horas, para luego pasar a la fase de crecimiento exponencial la cual se extendió hasta la hora 7, a fin de dar inicio a las actividades metabólicas captando enseguida los nutrientes presentes en el sustrato, así como el oxígeno necesario para su reproducción, a su vez presentó una fase estacionaria muy corta, para de allí pasar entre la hora 7,5 y 12 a la fase de declive, en la misma el microorganismo consumió en su totalidad todos los nutrientes presentes en el proceso de reproducción de biomasa.

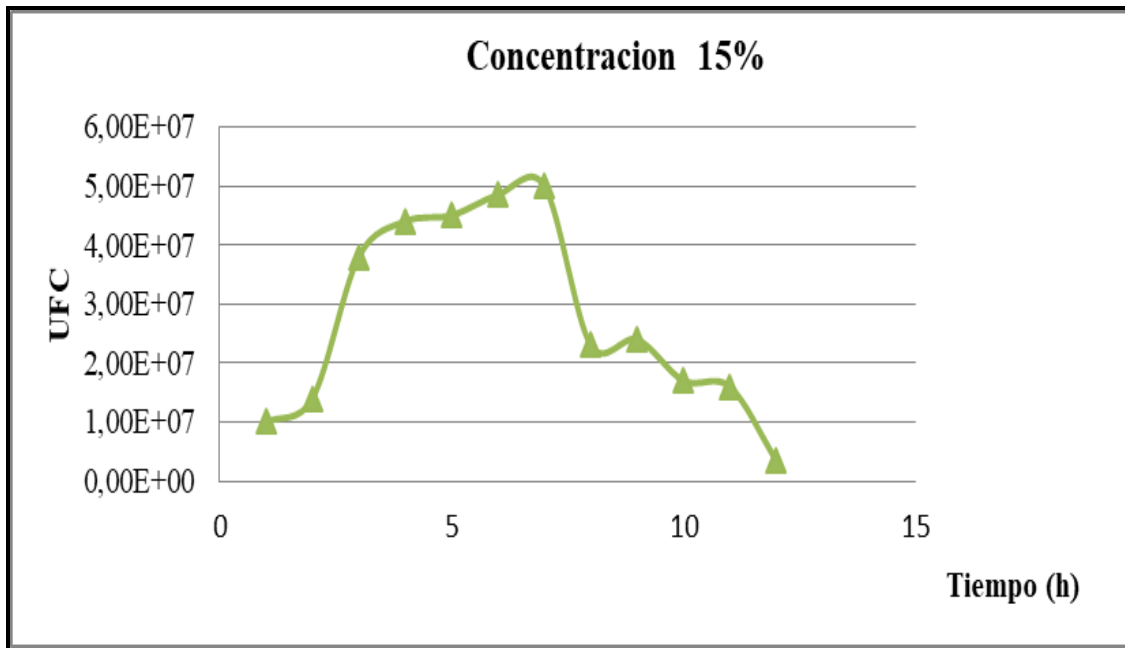


Figura 1. Concentración de Biomasa de *Lactobacillus casei* al 15% fresa (Ufc/ml) vs. Tiempo (h).

Asimismo, en la figura 2 se observa que la máxima concentración de biomasa usando como sustrato mango al 15% y al 20%, se lograron en un tiempo de 11 h con un rango cercano a $3,20 \times 10^7$ Ufc/ml. En este sentido, en la corrida experimental de 15%, la fase de adaptación se mantiene hasta la hora 2, para luego pasar a la fase de crecimiento exponencial hasta la hora 10 aproximadamente y la fase estacionaria se ubica entre la hora 10 y 11, mientras que para la concentración de 20% la fase de adaptación se acorta hasta la primera hora y la fase de crecimiento exponencial y estacionaria se ubican aproximadamente en el mismo rango que la corrida de 15%.

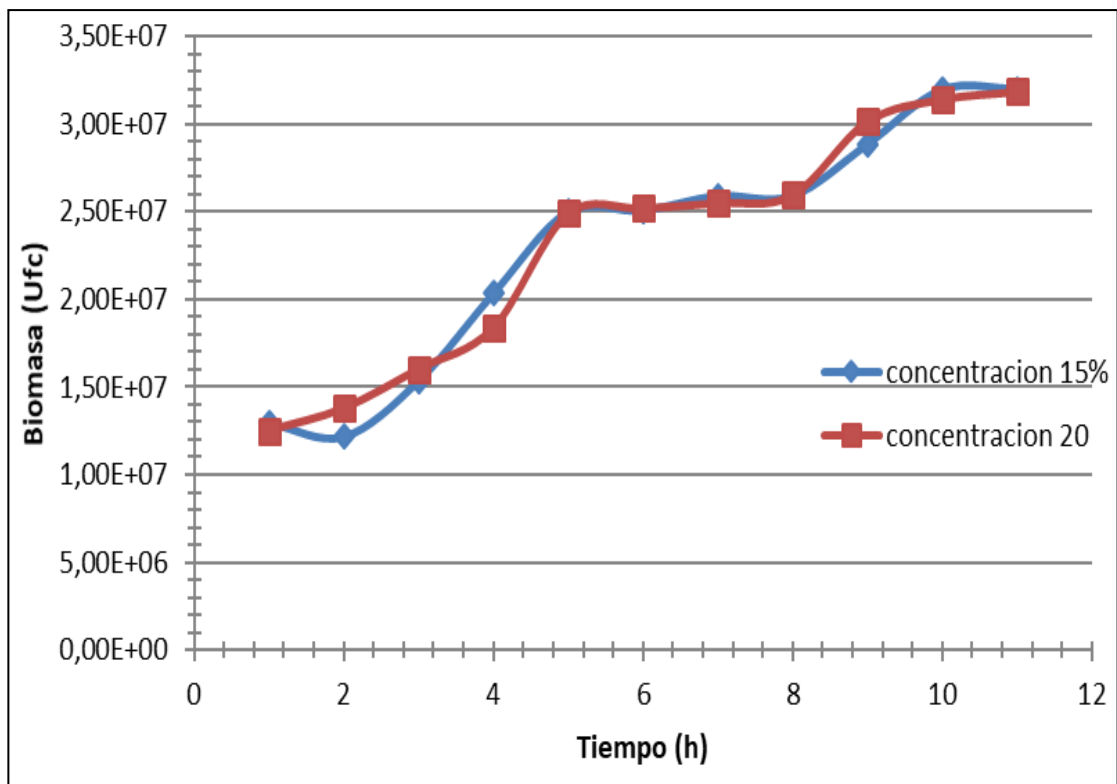


Figura 2. Concentración de Biomasa de *Lactobacillus casei* empleando el sustrato mango (15 y 20 %) (Ufc/ml) vs. Tiempo (h)

En lo que se refiere, al desarrollo del microorganismo en el sustrato lactosuero en la figura 3, se observa que la fase de adaptación se encuentra entre la hora 0 y 2 aproximadamente, con una fase de crecimiento exponencial entre las horas 2 y 9 reflejando para esta ultima una máxima producción de biomasa de $1,19 \times 10^9$ Ufc/ml, para luego dar inicio a la fase de declive o muerte entre la hora 9 y 12.

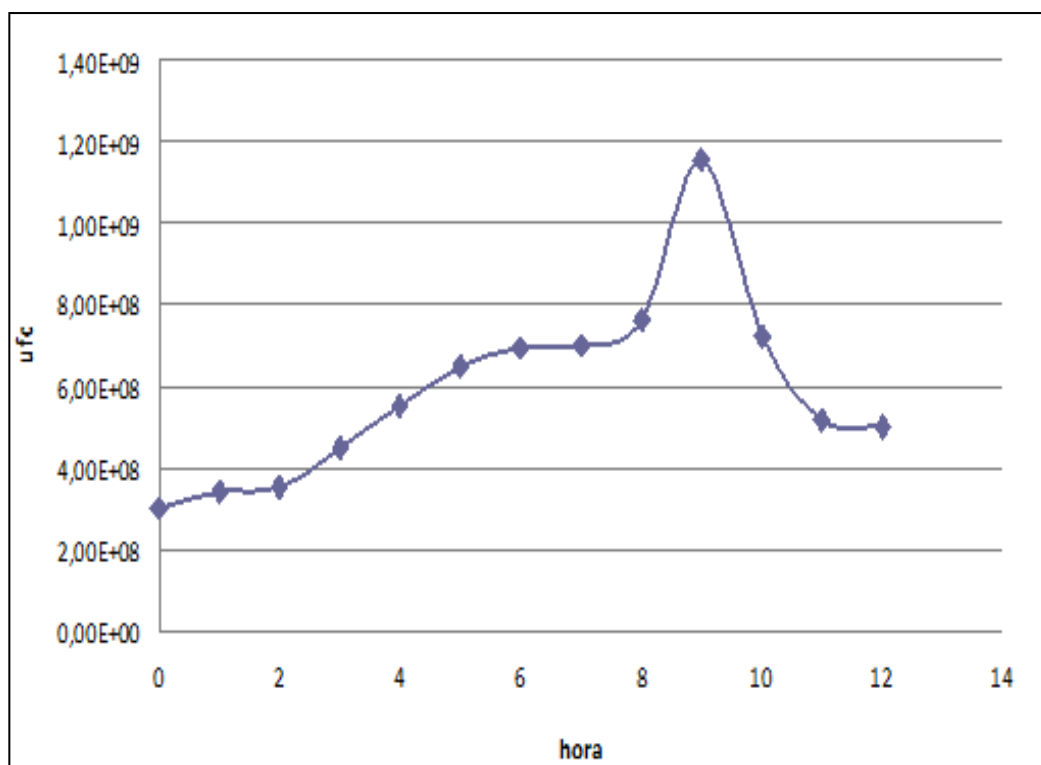


Figura 3. Concentración de Biomasa de *Lactobacillus casei* empleando lactosuero y 20% de sacarosa (Ufc/ml) vs. Tiempo (h)

Por su parte, en lo que respecta al crecimiento microbiano empleando *Garcinia madruno* se tomó como referencia lo descrito en Cravo (2020) donde al comparar 4 tratamientos a diferentes concentraciones observó que el tratamiento 9 que contenía 75 %

del sustrato enriquecido con 16 % de lactosa fue el que mostró la máxima concentración de biomasa con un valor de $1,30 \times 10^8$ Ufc/ml en un tiempo de 6 h.

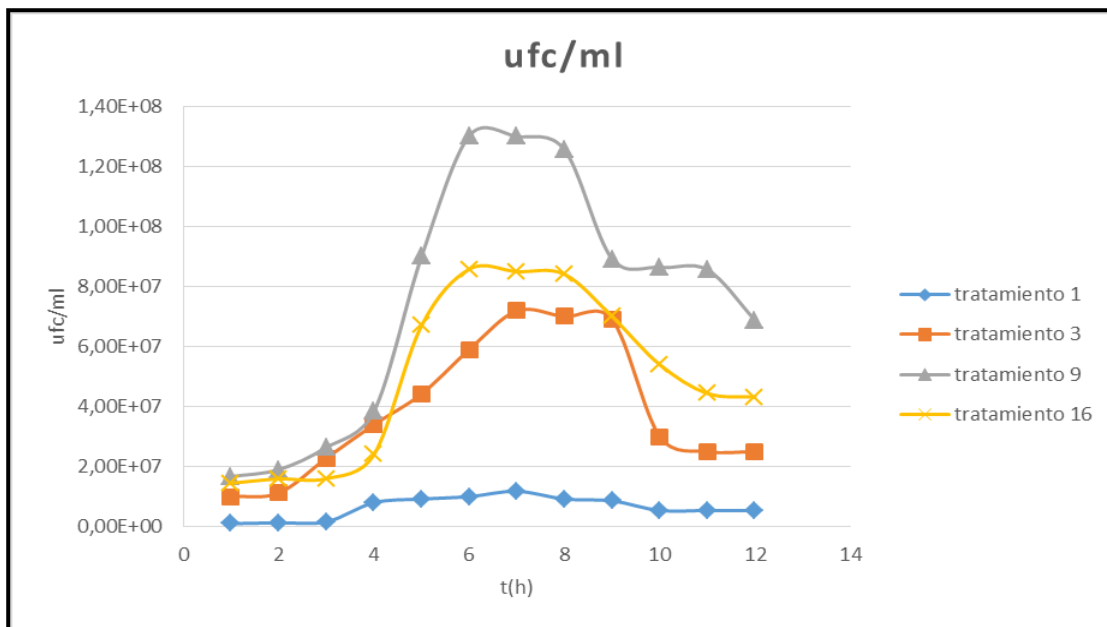


Figura 4. Concentración de Biomasa de *Lactobacillus casei* (Ufc/ml) con *Garcinia madruno* vs. Tiempo (h) para los tratamientos 1, 3, 9 y 16.

CONCLUSIONES

Luego de los resultados obtenidos se llegó a la conclusión de que todos los sustratos empleados mostraron evidencias significativas de su alta aplicabilidad dentro de proceso metabólico que realiza el *Lactobacillus casei*. Sin embargo, el lactosuero representa la mejor alternativa para el proceso de producción de este tipo de microorganismo, debido a que este subproducto de la industria láctea se encuentra en grandes cantidades luego del proceso de elaboración del queso y en la mayoría de los casos se desecha al ambiente provocando graves daños ambientales, pero que a lo largo de la investigación ha demostrado ser una fuente de nutrientes (proteínas solubles, lípidos, sales minerales, entre

otros) a bajo costo altamente aprovechable durante el desarrollo del *Lactobacillus casei* al reflejar la mayor producción de biomasa por el orden de $1,19 \times 10^9$ Ufc/ml en un lapso de 9 horas.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Almenar, E. (2005). Envasado activo de fresas silvestres [Tesis doctoral]. Valencia-España: Universidad de Valencia. 286 p.
- Bergey, D.; Holt, J. (1994). Bergey's manual of determinative bacteriology. Ninth edition. Editorial Baltimore: Williams & Wilkins. 787 p.
- Barrazueta-Rojas, SG.; Yáñez-Tisalema, GD.; Mendoza-Zurita, GX.; Lara-Freire, ML. (2019). Uso y análisis químicos de distintos sustratos para el desarrollo de biomasa bacteriana. *Revista Ciencia Digital* 3(3.4): 152-166.
- Cárdenas-Coronel W. G., R. Vélez-dela Rocha, J. H. Siller-Cepeda, T. Osuna-Enciso, M. D. Muy-Rangel y J. A. Sañudo-Barajas (2012) Cambios en la composición de almidón, pectinas y hemicelulosa durante la maduración de mango (*Mangifera indica* cv. 'Kent'). *Revista Chapingo Serie Horticultura* 18(1): 5-19.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) Norma 1337-90. (1990). Métodos para recuento de mohos y levaduras. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Ministerio de Fomento. Caracas, Venezuela. 1990. 6 p.
- COVENIN 1104:1996. (1996). Norma Venezolana 1104. Determinación de número más probable de coliformes, coliformes fecales y de *Echerichia coli*. 2da Revisión. Ministerio de Fomento. Caracas. Venezuela. p. 1 – 15.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) Norma 658-97. (1997). Determinación de Acidez Titulable para Leche y sus derivados. Pp: 1-2.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) Norma 370-97. (1997). Determinación de Proteínas para Leche y sus Derivados, Pp: 3-5.
- Cravo, G. (2013). Plan de calidad para la producción de biomasa de *Lactobacillus casei* usando como sustrato *Garcinia madruno*. Memorias de las XX Jornadas Técnicas de Creación Intelectual y IV de Postgrado. San Carlos, Venezuela. Octubre. Pp: 138-144.
- Cravo, G. (2020). Eficiencia del *Garcinia madruno* como sustrato en la producción efectiva de biomasa de *Lactobacillus casei*. Tesis Doctoral. Barquisimeto, Venezuela. 159 p.

- Crespo, LL. (2020). Contribución de la lógica difusa en la producción eficiente, eficaz y efectiva de levaduras del género *Saccharomyces boulardii*. Tesis Doctoral. Barquisimeto, Venezuela. 167 p
- Crisosto, C.; Mitchell, F. (2007). Factores pre cosecha que afectan la calidad de frutas y hortalizas, 3ra. Ed. California: University of California, Division of Agriculture and Natural Resources. Pp. 55-62.
- Escobar, L.; Rojas, C.; Giraldo, G.; Sanabria, P. (2010). Evaluación del crecimiento de *Lactobacillus casei* y producción de ácido láctico usando como sustrato el suero de leche de vacuno. Rev. Invest. Univ, Vol. 20. Quindío. Armenia, Colombia. Pp: 42 - 49.
- Escalante, AV. "Influencia de un recubrimiento comestible a base de goma de tara (*Caesalpinia spinosa*) sobre la calidad de fresas (*Fragaria ananassa* cv. *Aromas*) [Tesis Ingeniería]. Lima-Perú: Universidad Nacional Agraria La Molina. Facultad de Industrias Alimentarias. 154 p.
- González, C.; Becerra, M.; Cháfer, M.; Albors, A.; Carot, Chiralt, A. (2002). Influence of substituting milk powder for whey powder on yoghurt quality. *Trends in Food Science y Technology*, Vol. 13, N°. 9-10. Pp: 334-340.
- González, B.A.; Domínguez-Espinosa, R.; Alcocer, B.R. (2008). Aloe vera como sustrato para el crecimiento de *Lactobacillus plantarum* y *L. casei*. *Revista Ciencia y Tecnología Alimentaria* (6)2: 152-157.
- Guerrero, W.; Gómez, C.; Castro, R.; González, C.; Santos, E. (2010). Caracterización fisicoquímica del lactosuero en El Valle de Tulancingo. XII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos, México. Guanajuato, México, Universidad de Guanajuato. Pp: 321-328.
- Ha, E.; Zemel, M. (2003). Functional properties of whey, whey components, and essential amino acids: mechanisms underlying health benefits for active people. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, Vol. 14. N°. 5. Pp: 251- 258.
- Hernández, R., Fernández, C., Baptista, P. (2014). Metodología de la Investigación. Sexta Edición. D.F, México. Editorial McGraw-Hill. Pp: 196-214.
- Ibrahim, F.; Babiker, E.; Yousif, N.; Tinay, A. (2005). Effect of fermentation on biochemical and sensory characteristics of sorghum flour supplemented with whey protein. *Food Chemistry*, Vol. 92. N°. 2. Pp: 285-292.
- Linares, G.; Díaz, L.; Haro, R.; Puelles, J.; Arana, L.; Retto, P.; Ricce, C. (2015). Efecto de las diferentes proporciones de pulpa de frutas cítricas en la aceptabilidad sensorial de una bebida fermentada y proteica elaborada a partir de lactosuero residual. *Agroindustr. Sci.* Vol. 4. N°. 2. Pp: 65-73.

- Londoño, M.; Sepúlveda, J.; Hernández, A.; Parra, J. (2008). Bebida fermentada de suero de queso fresco inoculada con *Lactobacillus casei*. *Revista Facultad Nacional Agronomía Medellín*. Vol. 61. N°. 1. Pp: 4409-4421.
- Maldonado-Astudillo, YI.; Navarrete-García, HA.; Ortiz-Morales, ÓD.; Jiménez-Hernández, J.; Salazar-López, R.; Alia-Tejacal, I.; Álvarez-Fitz, P. (2016). Propiedades físicas, químicas y antioxidantes de variedades de mango crecidas en la Costa de Guerrero. *Revista Fitotecnia Mexicana* (39)3: 207-214.
- Madigan, M.; Martinko, J.; Parker, J. (2004). *Biología de los Microorganismos*. Prentice Hall, Madrid.
- Martínez, M.; Nieto, D.; Téliz, D.; Rodríguez, J.; Martínez, Ma.; Vaquera, H. y Carillo, O. (2008). Comparación Cualitativa de Fresas (*Fragaria ananassa Duch.*) de Cultivares Mexicanos y Estadounidenses. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 14(2): 113-119.
- Miranda, O.; Fonseca, P.; Ponce, I.; Cedeño, C.; Rivro, L.; Marti, L. (2007). Elaboración de una bebida fermentada a partir del suero de queso. Características Distintivas y Control de Calidad. *Rev. Cub. Alim. Nutr*, Vol. 17, N°. 2. Pp: 103-108.
- Olivas-Aguirre, F.J. (2014). Capacidad antioxidante, antiproliferativa y bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos del mango (*Mangifera indica L. var. "Ataulfo"*): Estudios in vitro. Tesis de Maestría en Ciencias Químico Biológicas. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, México. 99.
- Wall-Medrano, A.; Olivas-Aguirre, FJ.; Velderrain-Rodríguez, GR.; González-Aguilar, A.; De la Rosa, LA.; López-Díaz, JA.; Álvarez-Parrilla, E. (2015). *Revista Nutr Hosp.* 31(1): 67-75.