



## TIPIFICACIÓN DE BACTERIAS LÁCTICAS AISLADAS DEL AXOCOTL, ATOLE AGRIO DE LA SIERRA NORTE DE PUEBLA, POR MEDIO DE ARDRA.

Katya Dafne Guadarrama Orozco<sup>1</sup>, Francisco Ruiz y Terán<sup>1</sup>, Teresita Sainz<sup>3</sup>, Patricia Lappe<sup>2</sup> y Carmen Wachter<sup>1</sup>.  
<sup>2</sup>Instituto de Biología, UNAM <sup>1</sup>Departamento de Alimentos y Biotecnología, Facultad de Química, UNAM, 04510, México, D.F., <sup>3</sup>Depto. Sistemas Biológicos, UAM Xochimilco  
Fax: 56225315, [katyadafne@gmail.com](mailto:katyadafne@gmail.com)

*Palabras clave:* ARDRA, bacterias lácticas, axocotl.

**Introducción.** El axocotl, producto fermentado de maíz nixtamalizado, es consumido por indígenas en México como bebida refrescante. Se prepara un atole de nixtamal, que se vacía en un cántaro de barro previamente cubierto con una pasta de hierba dulce y cal. Se cubre y se deja fermentar 3 días. Se obtiene una bebida ácida y alcohólica (1). El objetivo de este trabajo fue aislar y tipificar las bacterias lácticas (BAL) presentes en el atole agrio de la Sierra Norte de Puebla, mediante ARDRA (Análisis del ADN ribosomal amplificado)(2).

**Metodología.** Se estudiaron 3 muestras de axocotl de Cuetzalan, Puebla, una (atole 1) durante su elaboración y a diferentes tiempos de fermentación y las otras dos (atoles 3 y 4) al inicio y al final de la fermentación. Se realizaron cuentas en placa de bacterias lácticas, usando el medio MRS. Posteriormente se aislaron y purificaron colonias con morfología y bioquímica típica de BAL. Se tipificaron por medio de ARDRA, para lo cual se extrajo el DNA de cada cepa, se amplificó el gen ribosomal 16S por PCR y el producto obtenido se digirió con enzimas de restricción (Bsu RI y Hinf I), separando los fragmentos obtenidos mediante una electroforesis convencional en geles de agarosa. Se construyeron dendrogramas con el método UPGMA. Se identificó una cepa representativa de cada grupo por el sistema API50CH y una cepa del grupo principal mediante la comparación de secuencias del gen ribosomal 16S.

### Resultados y discusión.

La temperatura del atole 1 recién vertido en el cántaro fue 97°C y descendió hasta las 24 h a 24°C. El pH se mantuvo en valores cercanos a 9, llegando a 7.5 a las 48 h y en los atoles sin entrada de aire (2 y 3), el pH bajó hasta 4.3 a las 72 h. El valor alcalino inicial se atribuye a la adición de pasta de hierba dulce con cal. La entrada de aire en el atole 1 (debido al uso de un sifón para tomar muestras) interfirió con la adecuada fermentación y acidificación.

Se aislaron 114 cepas, la mayoría con morfología de cocos en tétradas. Con *Bsu RI* se distinguen 5 grupos y con *Hinf I* 3. La mayor parte de las cepas del grupo I de *Hinf I* (80% del total de cepas) se alberga en el grupo I de *BsuRI*. *BsuRI* generó mayor número de bandas, permitiendo una mejor diferenciación entre las cepas

De acuerdo con la agrupación obtenida con *BsuRI*:

Cuadro 1. Identificación de BAL (dendrograma con *BsuRI*) por APILAB (Bio-Mérieux)

GRUPO	# DE CEPAS	CEPA	PERFIL DE IDENTIFICACIÓN	MICROORGANISMO	% IDENTIFICACIÓN	T
I	36	28	ACEPTABLE	<i>Pediococcus damnosus</i> 2	84.7	0.68
II	31	99	EXCELENTE	Lacto. para. paracasei 1	99.9	0.78
III	30	121	DUDOSO	<i>Lacto. Plantarum</i> 2	94.9	0.57
IV	10	65	DUDOSO	Lacto. para. paracasei 1	99.4	0.65
V	7	.	.	.	.	.

Se secuenció el gen rRNA 16S de la cepa 28, representativa del grupo predominante en cuanto a número de cepas, en el mejor dendrograma, identificándola como *Aerococcus viridans* con 99% de similitud (programa BLAST). Debido a que se agruparon en la misma rama cepas con el mismo patrón aisladas del nixtamal y del atole fermentado, es posible que el nixtamal sea una fuente importante de contaminación con las bacterias lácticas que predominan durante la fermentación.

### Conclusiones.

De acuerdo con los patrones de ARDRA obtenidos con la enzima *BsuRI*, se obtuvieron 5 grupos. De todas las cepas aisladas del nixtamal, solamente algunas predominan durante el proceso de fermentación. En el nixtamal tienden a predominar *Lactobacillus paracasei* y *Lactobacillus plantarum* y durante el proceso predominan un tipo diferente de *Lactobacillus plantarum* y *Pediococcus damnosus* (o *Aerococcus viridans*). Seguramente estos microorganismos cuentan con ventajas ecológicas para desarrollarse en el sustrato

### Bibliografía.

- Díaz, G. y Wachter, C. (2003). Métodos para el estudio de comunidades microbianas en alimentos fermentados. *Rev. Latinoamer Microbiol.* 45:1-2, 30-40
- Valderrama, P. y Ramírez, C. (1993). Alimentos de maíz y fermentados en Cuetzalan, Puebla. En: *Alimentos fermentados indígenas de México*. Wachter, C. y Lappe, P. UNAM, México, D.F. 63-67.