



## ESTUDIO DE BACTERIAS PROTEOLÍTICAS AISLADAS DE QUESO COTIJA

Nayeli Hernández Mejía, Idalia Flores Argüello y Maricarmen Quirasco Baruch

L-312 Conj. E, Fac. de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, 04510, México.  
[quirabma@servidor.unam.mx](mailto:quirabma@servidor.unam.mx), tel. y fax (55) 5622-5305.

*Palabras clave: bacterias proteolíticas, queso Cotija, ARDRA.*

**Introducción.** El queso Cotija, mundialmente reconocido, es peculiar por su elevado contenido de sal, baja humedad, sabor fuerte y por ser de pasta dura, madurada y desmoronable. Se elabora de manera tradicional en los estados de Michoacán y Jalisco con leche cruda de vaca. Al producirse todavía de manera artesanal, es de esperarse que presente variabilidad en su composición química y microbiana. La proteólisis es un proceso bioquímico importante en la maduración, ya que contribuye directamente al sabor del queso al liberar péptidos y aminoácidos [1] y es la principal responsable de cambios de textura. [2]. En el presente trabajo se caracterizó fisicoquímica y microbiológicamente al producto. Adicionalmente, se aislaron e identificaron cepas de microorganismos proteolíticos que pudieran participar durante la maduración del producto.

**Metodología.** Se analizaron 6 muestras de Queso Cotija de diversos estados de maduración, provenientes de Tocombo, Mich. y Quitupan, Jal. Para conocer las condiciones del medio en el que se encuentran los microorganismos en estudio se determinaron pH, acidez,  $a_w$  y el análisis químico proximal. El análisis microbiológico consistió en cuantificar a los microorganismos indicadores. En todas las determinaciones se realizaron réplicas y se hizo el análisis estadístico correspondiente. Se optimizó un medio sólido para la selección y cuenta de microorganismos proteolíticos. Se seleccionaron las colonias proteolíticas y se purificaron aquellas que presentaron mayor actividad mediante resiembra en el medio optimizado. Se extrajo ADN de las colonias aisladas y se verificó su pureza para realizar la PCR. El ARDRA y la secuenciación se realizaron con los amplicones purificados.

**Resultados y discusión.** De las muestras analizadas que presentaron la mejor calidad microbiológica (NMP <4 coliformes totales/g), se aislaron 68 colonias, de las cuales 16 presentaron la mayor actividad proteolítica. En agar-calcio caseinato adicionado con 5g/L de leche descremada en polvo, se observó claramente la formación de halos translúcidos originados por la proteólisis. De éstas, se amplificó la región V3 del ARNr 16s y por ARDRA, prueba de catalasa y observación microscópica, se seleccionaron a las bacterias diferentes, cuyos amplicones se secuenciaron y compararon con la base de datos (BLAST). Los resultados se muestran en la Tabla 1, se obtuvo un 57% de bacterias del género *Bacillus*, 29% de *Staphylococcus* y 14% de *Enterococcus*; en la mayoría de los casos se obtuvieron identidades >97%. Esto se explica puesto que bacterias del género *Bacillus* se han reportado presentes en el medio ambiente propio de las granjas, y sus esporas en alimento para ganado, heces y en ubres de animales.

Por otra parte, los *Staphylococcus* son microorganismos acidófilos y halotolerantes, lo que corresponde a los resultados de los análisis químicos efectuados sobre los quesos (Tabla 2). Sólo se pudo aislar una bacteria láctica (*Enterococcus* sp.).

Tabla 1. Características e identificación de bacterias proteolíticas aisladas.

Colonia	Gram / catalasa	Microorganismo
T1	+ bacilo largo en cad./+	<i>B. megaterium</i> / <i>B. flexus</i>
T8	+ bacilo largo en cad./+	<i>B. licheniformis</i>
P6	+ bacilo corto/+	<i>B. subtilis</i> / <i>B. mojavensis</i>
P4	+ estreptococo/-	<i>Enterococcus</i> sp no cultivable
Q2	+ coco/+	<i>S. sciuri</i> subsp. <i>rodentium</i>
Q4	+ coco en cad./+	<i>S. sciuri</i> subsp. <i>carnaticus</i>
Q5	+ bacilo corto/+	<i>B. megaterium</i>

Tabla 2. Resultados Fisicoquímicos generales

M	pH	% Acidez	$a_w$	% Humedad	% Grasa	% Proteína	% Cenizas	% CHOs
1	6.15	0.56	0.936	51.40	22	16.76	2.56	7.28
2	6.15	0.34	0.854	43.15	27.25	18.05	6.25	5.29
3	6.45	0.37	0.934	43.95	27.16	19.71	2.87	6.31
4	5.5	1.33	0.857	30.60	34.50	27.07	3.05	0.91
5	5.32	1.25	0.908	31.71	34.60	23.68	3.16	3.21
6	5.32	1.5	0.858	32.49	29.83	25.63	5.44	6.61

Se observa que, como consecuencia de la actividad metabólica de los microorganismos durante la maduración, hay un aumento de acidez y disminución en el pH; también se va perdiendo humedad con lo que se concentra la cantidad de sal (por lo tanto el  $a_w$  disminuye), limitando así el crecimiento microbiano. También se observó que el tiempo de maduración es indirectamente proporcional a la carga de microorganismos indicadores.

**Conclusiones.** Se encontraron cepas del género *Bacillus* sp. y *Staphylococcus* sp. como las más proteolíticas. Observamos una variabilidad del producto en cuanto a sus componentes nutricionales y su microbiota, con respecto al productor y sobre todo con respecto al estado de maduración

**Agradecimientos.** Proyecto financiado por PAPIIT IN200705-2.

### Bibliografía.

- Marilley L., Casey M. G., "Flavours of cheese products: metabolic pathways, analytical tools and identification of producing strains", Int. Journal of Food Microbiol. (2004) 90(2):139-159.
- Patrick F. Fox, Timothy P. Guinee, Timothy M Cogan and Paul L. H. McSweeney, Fundamentals of Cheese Science, (USA An Aspen Publication 2000), 225-226.