



Características Bacteriológicas de los Quesos Producidos Artesanalmente en la Ciudad de Cajamarca, Provincia de Cajamarca, Departamento de Cajamarca

Bacteriological Characteristics of Artisanal Cheeses Produced in the City of Cajamarca, Cajamarca Province, Cajamarca Department

Rodolfo Raúl Orejuela Chirinos¹, Juan Gerardo Arrelucea Acosta¹, Anel Mily Gallardo Rabanal¹

¹Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Cajamarca, Cajamarca, Perú

Resumen

El objetivo del presente trabajo de investigación fue, aislar *Lactobacillus sp.* de los quesos (madurados) y determinar su efecto bactericida. En este estudio, se aislaron *Lactobacillus sp.* pertenecientes al grupo de las bacterias ácido lácticas (BAL) en quesos madurados elaborados de manera artesanal e industrial de fábrica de Lácteos de la ciudad de Cajamarca, a base de leche cruda de vaca. La identificación fue realizada por medio de protocolos microbiológicos específicos para *Lactobacillus sp.* En el presente estudio los grupos de *Lactobacillus* aislados se les cultivo en caldos selectivos hasta obtener concentraciones de lactobacillus mayores a 10^6 UFC / mL. y se les enfrento a patógenos comunes de los quesos madurados, *S. aureus* y *E. coli Enteropatógena*, para determinar los efectos bactericidas de estas concentraciones de *Lactobacillus sp.* En este enfrentamiento se observó el efecto bactericida de estos *lactobacillus* presentes en estos quesos madurados. Por lo que, en un futuro cercano se podría inocular estas concentraciones de *Lactobacillus sp.* como microorganismos funcionales en elaboración de quesos madurados y garantizar su inocuidad y alargar su vida útil.

Palabras clave

Queso madurado, *Lactobacillus sp.* efecto bactericida

Abstract

The objective of this research work was to isolate *Lactobacillus sp.* of ripened cheeses and determine their bactericidal effect. In this study, *Lactobacillus sp.* belonging to the group of lactic acid bacteria (LAB) in matured cheeses made in an artisanal and industrial way at a dairy factory in the city of Cajamarca, based on raw cow's milk. Identification was carried out through specific microbiological protocols for *Lactobacillus sp.* In the present study, the isolated *Lactobacillus* groups were cultured in



selective broths until lactobacillus concentrations greater than 10^6 CFU/mL were obtained. and they were confronted with common pathogens of ripened cheeses, *S. aureus* and Enteropathogenic *E. coli*, to determine the bactericidal effects of these concentrations of *Lactobacillus sp.* In this confrontation, the bactericidal effect of these lactobacillus present in these matured cheeses was observed. Therefore, in the near future these concentrations of *Lactobacillus sp.* could be inoculated. as functional microorganisms in the production of ripened cheeses and guarantee their safety and extend their useful life.

Keywords

Matured cheese, *Lactobacillus sp.* bactericidal effect

Introducción

Las bacterias ácido lácticas (BAL) constituyen parte del microbiota natural de la leche, son un grupo de microorganismos de gran importancia por la generación de una serie de componentes o metabolitos de efectos bactericida, así como, en la mejora del sabor y la mejora en sus características nutricionales. Actualmente en la Industria Alimentaria los metabolitos de efecto bactericida de estos microorganismos, son utilizados como conservadores biológicos o bioconservadores, como también son usados estos microorganismos de manera directa o adicionándolos en concentraciones mayores a 10^6 UFC /mL. prolongando la vida útil del alimento, así como, en la bioseguridad o inocuidad del del alimento, especialmente en el control de patógenos (Orejuela, 2023).

Lo relevante es que estos microorganismos persisten en el lactosuero como subproducto en la elaboración del queso, que bien podría ser utilizado en la obtención de estos microorganismos funcionales, aprovechando el uso de este efluente, que genera efectos negativos al ambiente, o utilizarlo en la elaboración de otros productos alimenticios. Estas bacterias tienen un gran potencial para este fin, ya que son seguras para el consumo (*status* GRAS: "generalmente reconocidas como seguras", otorgado por la Food and Drug Administration-FDA) y predominan en el microbiota de muchos alimentos.

La actividad antimicrobiana se basa en la producción de ácidos (fundamentalmente ácido láctico, propiónico y acético, alterando la concentración de iones hidrogeniones en el interior de las células indeseables desnaturalizando el ADN de las bacterias y la producción de bacteriocinas que son péptidos de cadena corta que se comportan como antibióticos alterando la pared celular y su ADN. Estas bacterias



funcionales, también generan otros metabolitos de efecto bactericida como los acetaldehído, diacetil, metabolitos activos del oxígeno (peróxido de hidrógeno y radicales libres), CO₂.

Los quesos denominados madurados como el Queso tipo Suizo, Dambo, Gouda, El queso parmesano, son los de mayor demanda en la ciudad de Cajamarca. Su tradicional elaboración mayormente es artesanal, pocas son las industrias Lácteas en Cajamarca, que tienen procesos de elaboración cerrada o automatizada. En algunos establecimientos productores de queso madurado usan leche de vaca sin pasteurizar y sin el agregado de bacterias funcionales, con manipulación directa y sin protección. Factores que influyen en la calidad higiénico sanitaria del queso madurado lo que ha conllevado a que estos quesos mayormente sean decomisados por los entes estatales fiscalizadores.

Material y métodos

Área de estudio

El estudio se realizó en la ciudad de Cajamarca, provincia y departamento de Cajamarca, Perú, ubicada a 2720 m s. n. m. La fase experimental se desarrolló en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos y Aguas del Departamento Académico de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Cajamarca.

Muestras

Se analizaron seis quesos madurados elaborados a partir de leche bovina, procedentes de establecimientos semindustriales y artesanales de producción láctea de la ciudad de Cajamarca. Las muestras se utilizaron para el aislamiento de cepas de *Lactobacillus* spp. y para la evaluación de su actividad bactericida. Los quesos seleccionados presentaron un pH de 4.5 ± 0.2 y fueron recolectados, conservados y transportados bajo condiciones higiénicas adecuadas hasta su procesamiento en laboratorio.

Medios de cultivo, reactivos y equipos

Para el aislamiento y purificación de bacterias ácido lácticas se emplearon agar MRS y caldo MRS (Man-Rogosa-Sharpe; Merck), así como caldo MRS Lactobacilli (Difco). Además, se utilizó un agar MRS modificado para la evaluación de la actividad de las bacterias ácido lácticas, cuya formulación incluyó peptona de caseína, extracto de carne, extracto de levadura, acetato de sodio, sulfato de magnesio, sulfato manganoso,



Tween 80, vitamina B12, lactosa y agar bacteriológico. También se preparó un caldo MRS modificado con la misma composición, excepto agar bacteriológico, al que se adicionaron vitamina B12, glucosa y caldo nutritivo a doble concentración como fuente de nitrógeno.

Para el aislamiento e identificación de *Escherichia coli* enteropatógena y *Staphylococcus aureus* se utilizaron agua peptonada bufferada, caldo peptona, caldo Muller-Kauffmann tetrato/novobiocina, agar y caldo de soya tripticasa, caldo BHI, caldo lactosa, agar Salmonella-Shigella, agar Triple Sugar Iron, agar urea, caldo urea, caldo lisina descarboxilasa, agar LIA, agar citrato de Simmons, caldo triptosa-triptófano, caldo EC, agar MacConkey, agar EMB y agar Baird Parker. Para la identificación bioquímica y serológica se emplearon reactivos de Kovac, reactivos para la prueba de Voges-Proskauer, indicador rojo de metilo, kit de coloración Gram, galería API 20E (bioMérieux), sueros comerciales con anticuerpos frente a antígenos O y suero sanguíneo de conejo.

Los procedimientos microbiológicos se realizaron con el apoyo de autoclave, horno, estufas de incubación reguladas a 37 ± 1 °C y 42 ± 1 °C, baño María con capacidad de operación entre 42 y 47 °C, peachímetro calibrado con exactitud de 0.1 unidades de pH, pipetas graduadas y automáticas, tubos, frascos y placas de Petri.

Aislamiento e identificación de *Lactobacillus* spp.

El aislamiento e identificación de *Lactobacillus* spp. se realizó mediante una metodología adaptada de Khalil (2016) y de los criterios descritos en el Manual de Bergey, octava edición. Para el aislamiento se emplearon caldo MRS y agar MRS, medios selectivos comúnmente utilizados para bacterias ácido lácticas. A partir de las seis muestras de queso madurado se efectuó el procesamiento microbiológico correspondiente para la recuperación de cepas de bacterias ácido lácticas, seguido de su purificación y evaluación de pureza mediante resiembras sucesivas en los medios antes descritos. La identificación se sustentó en las características bacteriológicas y bioquímicas de las cepas aisladas.

**Tabla 1**

Muestra de Queso madurado de leche bovina de las plantas lácteas semiindustriales y artesanales de la ciudad de Cajamarca

Industria semi industrial y artesanal	N° de muestras queso fermentado
IND. SI 1	02
IND. SI 2	02
IND. ART	02

De cada queso madurado se tomó cantidades de 50 g colocados en matraces estériles, a los cuales se les adicionó 450 mL de Caldo MRS enriquecido con Vitaminas B12, más Lactosa y caldo nutritivo rico en bases nitrogenadas el cual fue sometido a baño maría a temperatura de $42\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 12 horas, con fines de crecimiento inicial (fase de adaptación y crecimiento moderado) y de cierto grado de fermentación. Después de un crecimiento inicial y de la cinética de fermentación se determinó su concentración celular.

Resultados y discusión

De cada queso madurado contenido en el matraz enriquecido se obtuvieron 25 mL colocándolo en un matraz conteniendo 225 ml. de caldo MRS enriquecido con Vitaminas B12, más Lactosa y caldo nutritivo rico en bases nitrogenadas. Se tomó 1 ml del homogenizado, y se añadió consecutivamente a tubos conteniendo 9 ml de diluyente caldo MRS enriquecido hasta alcanzar las diluciones hasta 10^8 e incubados a temperatura de $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ en atmósfera microaerófila (5% de O_2) por 24 a 48 horas. Luego de cada una de las diluciones, se tomó 1mL y se sembraron por la técnica de inoculación en superficie y extensión con varilla de vidrio o aza de Dylgrasky en placas conteniendo agar MRS enriquecido para *Lactobacillus* sp. Se incubaron a $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 a 48 horas en atmósfera microaerofila (5% de O_2). Después de este tiempo, se realizó el recuento de unidades formadoras de colonias (ufc/mL), obteniéndose cc celulares de 10^6 y 10^8 .

**Tabla 2**

Resultado obtenido en el recuento de unidades formadoras de colonias de *Lactobacillus sp.*

Dilución	Cuantificación	UFC/mL
10^{-1}	Incontable	-
10^{-2}	Incontable	-
10^{-3}	Incontable	-
10^{-4}	Contable	30 a 300
10^{-5}	Contable	30 a 300
10^{-6}	Contable	30 a 300
10^{-7}	Contable	30 a 300
10^{-8}	Contable	30 a 300

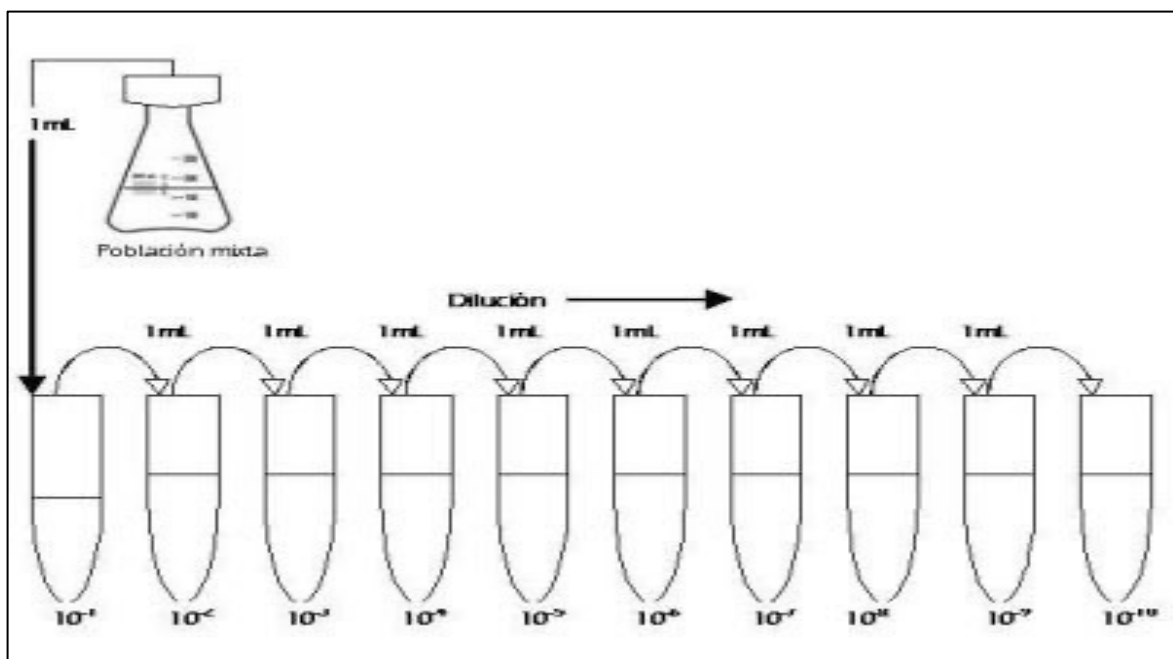


Figura 1. Esquema de diluciones seriadas para contaje de *Lactobacillus sp.* viables en concentración de células de 10^6 y 10^8

Pureza e identificación preliminar de *Lactobacillus spp.*

Luego del crecimiento colonial en agar MRS enriquecido con vitamina B12 y glucosa, se seleccionaron colonias aisladas para evaluar su pureza e identificación preliminar. Las colonias presentaron características macroscópicas diferenciales en



cuanto a tamaño, color y morfología, lo que permitió su selección para pruebas confirmatorias.

Las cepas analizadas mostraron reacción Gram positiva, con morfología bacilar observada al microscopio. Asimismo, resultaron negativas a las pruebas de catalasa y oxidasa. En conjunto, estas características fueron compatibles con el género *Lactobacillus*. Adicionalmente, se observó formación de colonias de coloración blanquecina y, en algunos casos, colonias pardas irregulares puntiformes.

Conservación de cepas de *Lactobacillus* spp.

Las cepas puras obtenidas en diferentes concentraciones fueron conservadas en caldo MRS suplementado con vitamina B12, lactosa, compuestos nitrogenados y glicerol al 20% como crioprotector. La conservación en viales para criopreservación a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ permitió mantener la viabilidad celular, minimizando el daño asociado a los procesos de congelación y descongelación.

Aislamiento e identificación de *Escherichia coli* enteropatógena y *Staphylococcus aureus*

En las muestras de queso madurado se realizó el aislamiento e identificación microbiológica de *Escherichia coli* enteropatógena y *Staphylococcus aureus* mediante procedimientos microbiológicos convencionales, complementados con pruebas bioquímicas y serológicas.

En el caso de *E. coli*, el crecimiento en agar EMB permitió identificar colonias típicas caracterizadas por presentar centro oscuro con brillo metálico, rasgo compatible con este microorganismo. Estas colonias fueron seleccionadas y purificadas para su posterior confirmación bioquímica y serológica. La obtención de cultivos puros permitió su caracterización microbiológica posterior.

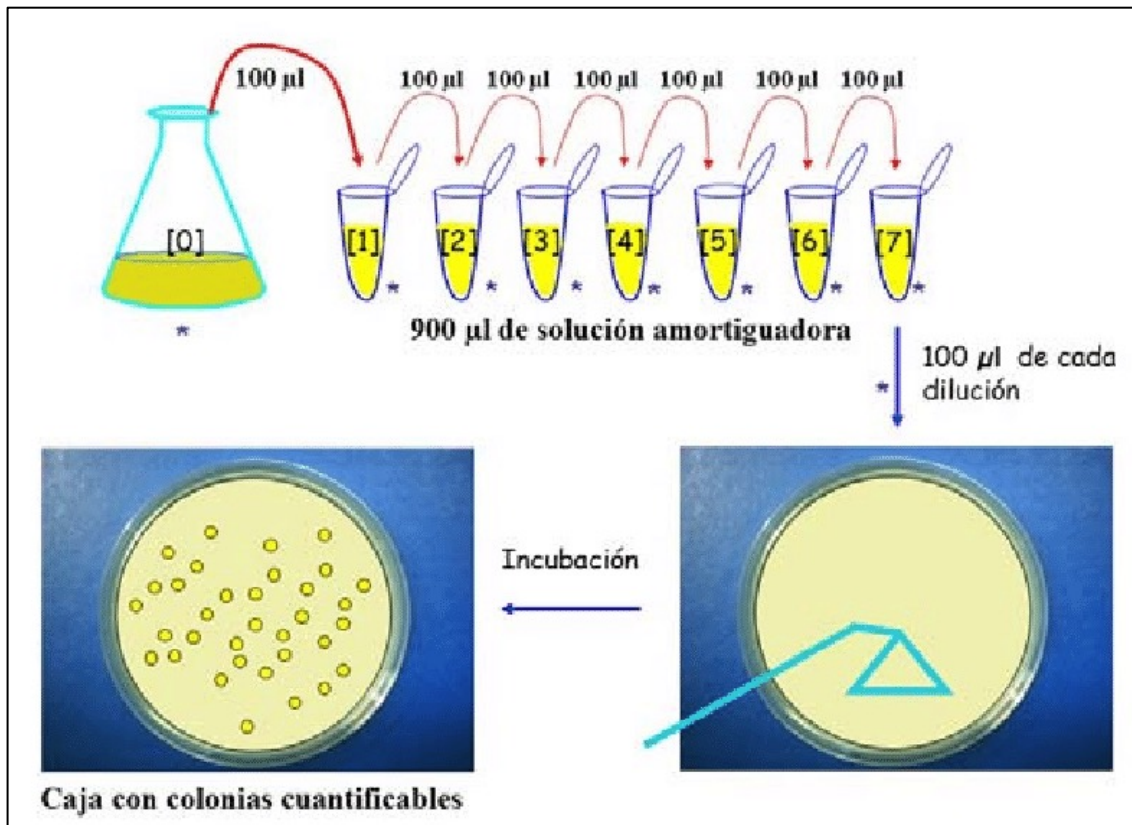


Figura 2. Esquema de diluciones seriadas. - para contaje de microorganismos viables del enteropatógeno *E. coli* y *S.aureus*

Confirmación de *Escherichia coli* enteropatógena

La confirmación de *Escherichia coli* enteropatógena se realizó mediante pruebas bioquímicas, serológicas y tinción de Gram. Las cepas evaluadas mostraron un patrón compatible con *E. coli* enteropatógena, caracterizado por fermentación de lactosa, dextrosa y sacarosa con producción de gas y ausencia de sulfuro de hidrógeno en agar TSI. Asimismo, presentaron descarboxilación de lisina en medio LIA, producción de indol, reacción positiva a rojo de metilo y prueba de catalasa positiva.

Por otro lado, las cepas no utilizaron citrato como fuente de carbono y no hidrolizaron la urea, lo que reforzó su identificación bioquímica. La tinción de Gram evidenció microorganismos Gram negativos con morfología cocobacilar. De manera complementaria, la prueba serológica con antisuero polivalente A, B o C de EPEC mostró aglutinación positiva, confirmando su correspondencia con *E. coli* enteropatógena.



Conservación de cepas enteropatógenas

Las cepas puras de *Salmonella* sp. y *E. coli* enteropatógena fueron conservadas en caldo TSB suplementado con glicerol al 20% y almacenadas en viales de criopreservación a -20 °C. Previamente a cada ensayo, las cepas fueron reconstituidas e incubadas en su medio óptimo, manteniendo su viabilidad para las pruebas posteriores.

Aislamiento e identificación de *Staphylococcus aureus*

En las muestras de queso madurado se aislaron colonias sospechosas de *Staphylococcus aureus* en agar Baird Parker, las cuales presentaron morfología característica, con coloración negra o gris y zonas parcialmente opacas. Las colonias seleccionadas fueron sometidas a prueba confirmativa de coagulasa, obteniéndose reacción positiva por formación de coágulo firme, hallazgo compatible con *S. aureus* con potencial patogénico.

El recuento de colonias se realizó conforme a los criterios establecidos por la Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para los Alimentos, permitiendo cuantificar el desarrollo bacteriano en las muestras analizadas.

Conservación de cepas de *Staphylococcus aureus*

Las cepas puras de *S. aureus* fueron conservadas en caldo TSB suplementado con glicerol al 20% y almacenadas a -20 °C en viales de criopreservación. Antes de cada ensayo, las cepas se reactivaron en su medio óptimo de crecimiento para asegurar su viabilidad.

Actividad bactericida de *Lactobacillus* spp. frente a *Escherichia coli* enteropatógena y *Staphylococcus aureus*

La actividad bactericida de *Lactobacillus* spp. se evaluó frente a *E. coli* enteropatógena y *S. aureus* mediante la técnica de enfrentamiento entre células. Después del periodo de incubación, se observaron zonas translúcidas alrededor del crecimiento de *Lactobacillus* spp., interpretadas como evidencia de inhibición del crecimiento de las bacterias patógenas.

La presencia de halos de inhibición mayores de 1 mm por lado se consideró indicativa de actividad bactericida de las cepas de *Lactobacillus* spp. aisladas frente a los patógenos evaluados. Estos hallazgos sugieren que las bacterias ácido lácticas



recuperadas de los quesos madurados presentan capacidad antagónica frente a microorganismos de importancia sanitaria.

Aislamiento, pureza y conservación de los *Lactobacillus sp.* obtenidas a partir del lactosuero dulce de leche bovina y su enfrentamiento a patógenos comunes en quesos madurados.

Al queso madurado en proporciones apropiadas (referencia 25 g en 225 mL) se le agregó caldo suplementado con glucosa y vitamina B12, caldo nutritivo a doble concentración como fuente rica en nitrógeno y carbohidratos, es óptimo para el crecimiento de *Lactobacillus*. Así mismo, las condiciones de fermentación determinadas por la temperatura de crecimiento que fue de $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, en un ambiente de microaerobiosis con un tiempo de crecimiento de 24 a 48 horas y el pH inicial y final que generalmente estuvo entre 5.5 a 5.8, más la agitación controlada y aireación, etc., han influenciado en la producción de grandes biomásas de *Lactobacillus sp.* (Francis y Gaona, 2002). Después de la obtención de los *Lactobacillus* en concentraciones celulares de 10^6 , 10^8 UFC/mL a partir del queso madurado de leche bovina y verificada su pureza, considerándose la morfología típicas de los *Lactobacillus sp.*, (colonias blancas puntiformes), Gram positivos (a la coloración Gram) y las pruebas fenotípicas de su tipificación mediante pruebas bioquímicas (prueba de la catalasa, oxidasa, fueron enfrentados entre células de forma asociada a los patógenos *Escherichia coli* Enteropatógenos y *S. aureus*, aislados en concentraciones celulares mayores de 10^6 (10^8) determinándose la acción bactericida de estos *Lactobacillus sp* aislados.

Tabla 3

Sensibilidad microbiana - enfrentamiento entre células

Variables	Tratamientos	Código	Halo de inhibición Ø mm		
			R	I	S
CC de BAL	cc celular UFC <i>Lactobacillus</i> sp	cc celular UFC Patógenos	R	I	S
CC de BAL	10^4	<i>S. aureus</i> 10^6	-	-	4
		<i>E. coli</i> EP 10^6	-	-	5
CC de BAL	10^6	<i>S. aureus</i> 10^6	-	-	8
		<i>E. coli</i> EP 10^6	-	-	9



CC de BAL	10 ⁸	<i>S. aureus</i> 10 ⁶	-	-	8
		<i>E. coli</i> EP 10 ⁶	-	-	7
Controles					
(blanco sin bacterias de <i>Lactobacillus</i> spp), Caldo Peptonado	CP sin BAL	<i>S. aureus</i> 10 ⁶	-	-	Ausencia
	CP sin BAL	<i>E. coli</i> EP 10 ⁶	-	-	Ausencia

Nota: Resistente; I.- Intermedio; S.- Sensible; Θ mm.- Diámetro en milímetros. Enfrentamiento entre células. Diámetro Mayor a 1mm = sensible

Monzón (2010), en su investigación útil para aislar *Lactobacillus* sp a partir del lactosuero dulce obtenido en la producción de quesos frescos de leche de vaca pasteurizada adicionándole caldo MRS, para el desarrollo de *Lactobacillus* sp. El lactosuero fue esterilizado mediante autoclavado a 121°C y luego se adicionó la cepa de *Lactobacillus* sp (tabasco) e incubó esta mezcla a 37°C por 24 horas. Después del periodo de incubación se obtuvo una masa de *Lactobacillus* de 6.24×10^8 UFC/mL. Esta cepa de trabajo demostró un buen crecimiento y buena capacidad de adaptación al suero de leche de vaca, resultante en La elaboración de los quesos frescos y madurados. Por lo que este investigador abrió la posibilidad de utilizar este residuo industrial, así como, también los quesos frescos y madurados como sustrato en la obtención de los *Lactobacillus* sp.

Caballero et al. (2015), que en su estudio aislaron las bacterias lácticas más representativas del lactosuero fresco de leche bovina, donde *Lactobacillus* sp. alcanzó el 87.18% de las bacterias totales aisladas. En otro estudio similar realizado por el mismo investigador todas las especies de lactobacilos encontrados, demostraron tener la capacidad de generar metabolitos bactericidas contra Gram positivos y Gram negativos.

Observación

En el enfrentamiento entre células, se combinaron ambos microorganismos patógenos *S.aureus*, y *E. coli* EP en concentraciones de 10⁶, respectivamente, los cuales se enfrentaron a las células de *Lactobacillus* sp en concentraciones de 10⁸ estos de manera asociada, se encontró una acción bactericida bien marcada, como lo demuestra el halo de inhibición mayor a 1mm. que corresponde a la Tabla N°1

La acción bactericida

Basado en los procesos biológicos de comunicación entre células denominado Quórum sensing o procesos de autoinducción en poblaciones bacterianas, la



comunicación entre bacterias o autoinducción especialmente en poblaciones muy densas de bacterias, dan lugar a la generación de moléculas de señal, llamadas “autoinductores”, que son muy variadas de acuerdo a su entorno o hábitat en que se encuentran y su estructura va a depender de la especie bacteriana que lo produce. Estos son liberados a su hábitat o entorno, a medida que aumenta la densidad poblacional, lo que conlleva a activar otras vías de señalización que inducen la expresión de genes específicos, que modifican el comportamiento de la población que las genera, alteran el comportamiento de otras colonias dentro de un ambiente compartido. De esta manera, las bacterias pueden realizar acciones de forma coordinada, como las relacionadas a la eliminación de organismos indeseables, por la generación o producción de metabolitos antibacterianos, así como también, generar procesos entre de ellos de sinergismo.

Estas moléculas señales que se generan a través de las interacciones entre ellas, muchas de ellas son con características específicas predominando las acilhomoserín lactonas (AHLs), que modulan la expresión de genes específicos. dando lugar a una serie de reacciones bioquímicas regulando a la célula para obtener características de beneficio, de adaptación, protección mutua, fortalecimiento de sus mecanismos de acción antagónica frente a otros microorganismos y comportamientos de sinergismo. Lo que demuestra que este proceso de Quórum sensing es activo y significativo cuando se genera un quorum de grandes masas de *Lactobacillus sp.*, que relacionado con el presente trabajo en el que hemos utilizados grandes densidades poblacionales de LB, ha generado una serie de moléculas señales en estas interacciones simbióticas, que han dado lugar a la generación de una serie de componentes de efectos bactericida eliminando floras patógenas interrumpiendo en estos microorganismos sus procesos de desarrollo cuando se enfrentan en un mismo ambiente, o cuando estos metabolitos libres de células son obtenidos por centrifugación y enfrentados directamente a los microorganismos indeseables (Sturme et al., 2007).

Según (Sturme et al., 2007), esta función está comúnmente mediada por sistemas reguladores de dos componentes (TCS), que consisten en una proteína quinasa de histidina localizada en la membrana (HPK) que monitorea uno o más factores ambientales, y un regulador de la respuesta citoplasmática (RR), que modula la expresión de genes específicos.

Todas estas potencialidades de las bacterias *Lactobacillus sp.* que involucran el mecanismo de *quorum sensing*, pueden ser utilizadas el control biológico de patógenos



en los alimentos. Durante el efecto bactericida es conocido que en la fermentación microbiana generadas por las moléculas señales se reduce las cantidades de carbohidratos disponibles y en este proceso se genera una serie de reacciones bioquímicas dando lugar a la generación de compuestos y moléculas con actividad antimicrobiana, como los ácidos orgánicos mayormente con características de ácidos débiles (ácido acético, láctico, propiónico, butírico, péptidos antimicrobianos, peróxidos y otros). Que alteran y destruyen la cinética de crecimiento de las bacterias indeseables (Viping, 2015).

Existe información sobre el efecto bactericida de manera individual de diferentes cepas de *Lactobacillus* sp. contra bacterias indeseables gran positivas y grandes negativas obtenidos de sustratos que son diferentes al lactosuero dulce de leche bovina como residuo efluente en la producción del queso fresco, del cual hemos obtenido un conglomerado de estereotipos de *Lactobacillus* sp. los cuales fueron asociados en grandes densidades para generar un efecto sinérgico bactericida frente a los patógenos en estudio de la presente investigación encontrándose una alta intensidad de la actividad bactericida de estos LB, demostrado en las pruebas de sensibilidad microbiana. Este resultado de este efecto sinérgico nos da a entender que no hubo un antagonismo entre estos microorganismos funcionales muy probable atraída a un proceso interacción entre células para beneficio mutuo (Viping, 2015).

La alta producción diversificada de los metabolitos de acción bactericida por los lactobacillus aislados, como lo son los péptidos antimicrobianos o bacteriocinas, el ácido láctico, el peróxido de hidrógeno y el diacetilo, han demostrado ser eficaces en la eliminación de las bacterias patógenos en estudio. Estos efectos bactericidas, generan alteraciones bioquímicas ocurridos en las diferentes estructuras de las bacterias indeseables, como, por ejemplo, en el caso de los péptidos de cadenas cortas conocidos como bacteriocinas, el blanco primario de este compuesto parece ser la membrana plasmática, alterando su permeabilidad selectiva de la membrana de las células vegetativas sensibles, provocando la inmediata e inespecífica liberación de iones, compuestos de bajo peso molecular y algo más tarde del ATP intracelular, ocasionando la disipación completa o parcial de la fuerza protón motriz (PMF) dando lugar a desórdenes metabólicos secundarios, que en último término, inhiben la generación de energía y la síntesis de macromoléculas.

En el caso de la acción bactericida del peróxido de hidrógeno se le atribuye su efecto altamente oxidante, mediante la peroxidación de los lípidos de la membrana y la



destrucción de la estructura molecular básica de proteínas celulares debido a procesos de ionización alterando el gradiente electroquímico de la célula patógena. En el caso del diacetilo este metabolito actúa desactivando enzimas microbianas por bloqueo o por modificación de la zona catalítica. La generación de ácido láctico por estos microorganismos, el cual es catalogado como ácido débil, tiene una gran capacidad de difusión en las células patógenas en estudio, actúan alterando el gradiente electroquímico en el interior de estas las células bacterianas, desnaturizando el ADN, como también, las proteínas de la membrana citoplasmática, todos estos efectos antagónicos suponen una muerte celular (Monteville et al., 1995).

Con respecto a los ácidos orgánicos débiles de efecto bactericida generado por este conglomerado de *Lactobacillus* (ácido láctico, acético y propiónico), demostraron ser estable durante la inhibición de los microorganismos indeseables presentes en la leche fresca, debido a la sostenibilidad del gradiente electroquímico direccionado a un pH ácido generado. La actividad antimicrobiana de los ácidos orgánicos débiles (ácido Láctico, propiónico y acético), siendo la fracción no disociada de los ácidos orgánicos la que posee una mayor actividad inhibidora debido a su naturaleza lipofílica, ya que pueden atravesar la membrana celular y disociarse en el citoplasma, ejerciendo efectos de interferir en funciones celulares, como la translocación de sustrato y la fosforilación oxidativa, así mismo, la disociación de los ácidos orgánicos provoca el incremento de protones en el interior celular, lo que conlleva un exceso de protones en el citoplasma de la bacteria indeseable incrementa la capacidad tampón del citoplasma, dando lugar a que los protones se transportan hacia el exterior de la célula mediante la bomba de protones, reduciendo de esta manera las reservas energéticas de la célula. Cuando estas reservas se agotan, la bomba de protones se detiene y se provoca el descenso del pH interno, lo cual causa a su vez la desnaturación de las proteínas y desestabilización de otros componentes estructurales y funcionales de las células, (alteración del gradiente electroquímico en la célula indeseable) interfiriendo así con la viabilidad, lo que se corrobora por lo encontrado por (Ouweland et al., 1999).

Conclusiones

Los *Lactobacillus sp.* aislados de los quesos madurados en concentraciones celulares mayores a 10^6 UFC/mL., presentaron efecto bactericida frente a los patógenos *S. aureus* y *E. coli* Enteropatógena que son comunes en quesos madurados a base de leche de vaca, elaborados de manera artesanal e industrial, en la ciudad de Cajamarca.



Referencias

- Acosta Q. J. Ramón D. O. (2013). Evaluación del efecto antimicrobiano del sobrenadante producido por *Lactobacillus casei* en suero dulce de leche contra *Listeria monocytogenes*. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras. 24p.
- Anas, M.; Jamal, H. & Mebrouk, K. 2008. Antimicrobial Activity of *Lactobacillus* Species Isolated from Algerian Raw Goat's Milk Against *Staphylococcus aureus*. Laboratory of Applied Microbiology, Department of Biology, Faculty of Science, Oran University. Oran, Algeria. World Journal of Dairy & Food Sciences 3 (2): 39-49pp
- Caballero Jimenez, P., Parez Castro, M., Rodriguez Morgado, B., Parrado Rubio, J. 2015, Lactic acid bacteria from fermented whey as a biocontrol tool against phytopathogenic microorganisms, *Fermentation Technology*, 3(2), 82-82.
- Estrada, A. C., Gutiérrez, L. A., Ramírez y Olga Inés Montoya, O. I., Evaluación in vitro del efecto bactericida de cepas nativas de *Lactobacillus* sp. contra *Salmonella* sp. y *Escherichia coli*. Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín. Volumen 58, Número 1, p. 2601-2609, 2005. ISSN electrónico 2248-7026. ISSN impreso 0304-2847.
- Fuentes, M. fanegas¹, Andrés-Londoño zapata², Mónica-durango zuleta³, Margarita-Gutiérrez Buriticá⁴, Susana-Ochoa Agudelo⁵, José-Sepúlveda valencia. (2017). Capacidad Antimicrobiana de Bacterias Ácido Lácticas Autóctonas Aisladas de Queso Doble Crema y Quesillo Colombiano. *Biotechnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* Vol. 15 No. 1 (45-55). ISSN - 1692-3561 ISSN - 1909-9959.
- Hernández Mendoza, A., Heredia Castro, P., Vallejo Cordova, A., & Vallejo Cordova, B. (2017). Bacteriocinas de Bacterias Acido lácticas: mecanismos de acción y actividad antimicrobiana contra patógenos en quesos. *Interciencia*, 42(6), 340-346. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33951621002>
- Montville T.J., Winkowski K., Ludescher R.D. (1995). Models and mechanisms for bacteriocin action and application. *International Dairy Journal*. Volume 5, Issue 8, 1995, Pages 797-814, ISSN 0958-6946, [https://doi.org/10.1016/0958-6946\(95\)00034-8](https://doi.org/10.1016/0958-6946(95)00034-8). Encontrado: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0958694695000348>)



- Monzon, T., N. (2010). Uso del residuo de industrias lácteas (suero lácteo de vaca) para la propagación de microorganismos probióticos. Tesis, para para optar el título profesional de Ingeniero en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buena Vista Saltillo Coahuila- México.
- Orejuela, R. R. (Febrero de 2022). *Ecoeficiencia del aprovechamiento del lactosuero para la obtención de Lactobacillus sp. de acción bactericida*. Obtenido de Universidad Nacional de Cajamarca: https://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12894/7940/T010_44860538_T%281%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Ouwehand A.C., Kirjavainen P.V., Short, C. & Salminen C. (1999b). Probiotics: mechanism and established effects. *International Dairy Journal*, 9: 43-52.
- Ramírez-López, C., & Vélez-Ruiz, J. (2016). Aislamiento, Caracterización y Selección de Bacterias Lácticas Autóctonas de Leche y Queso Fresco Artesanal de Cabra. *Inf. tecnol*, 27 (6). Retrieved from <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-7642016000600012>