

Caracterización de la microbiota del queso caprino.

M.G. Luigi-Sierra¹, Y. Ramayo-Caldas², D. Guan³ & M. Amills^{1,4}.

¹ Centre de Recerca Agrigenòmica (CRAG), Campus Universitat Autònoma de Barcelona, 08193, Bellaterra, España.

Maria.luigi@cragenomica.es (Maria Luigi)

² Animal Breeding and Genetics Program, Institute for Research and Technology in Food and Agriculture (IRTA), Torre Marimon, Caldes de Montbui, España.

³ Department of Animal Science, University of California Davis, 95616, Davis, USA.

⁴ Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193, Bellaterra, España.

Resumen

España posee una gran tradición de cría caprina, siendo la producción láctea el principal objetivo de la mejora genética. Dado el alto contenido en grasas y proteínas de la leche de cabra, esta resulta ideal para la elaboración de quesos. Durante el proceso de fabricación del queso se incorporan microorganismos específicos que interactúan con compuestos orgánicos y la flora comensal de la leche. Estas interacciones contribuyen a la determinación de las propiedades organolépticas y fisicoquímicas del queso. La composición microbiana de los quesos tradicionalmente ha sido estudiada a través de cultivos y PCR. Actualmente, el desarrollo de técnicas de secuenciación masiva permite obtener una imagen más amplia de la microbiota del queso. Mediante esta tecnología se han caracterizado diversos productos lácteos, sin embargo, hasta la fecha, no se ha secuenciado la microbiota de ningún queso de cabra. En el presente trabajo hemos caracterizado la microbiota de seis quesos de cabra, secuenciando la región ultravariante V3-V4 del gen bacteriano 16S rRNA. Se obtuvieron muestras de 1 queso industrial fresco de pasta blanda (H) y otros 5 artesanales: fresco de pasta blanda (M), semicurado y de pasta blanda con corteza enmohecida (C y P), curado de pasta dura y corteza florida (B) y curado de pasta semidura y corteza natural (G). Los análisis bioinformáticos se realizaron a partir de 1.639.816 secuencias asignadas a 283 *amplicon sequence variants* (ASVs). Se asignaron los taxones usando como referencia la base de datos DAIRYdb 2.0.

El análisis de α -diversidad (Shannon index) evidenció una mayor diversidad de taxones en los quesos frescos y semicurados de pasta blanda que en aquéllos curados de pasta dura (Kuskall-Wallis P -value < 0.05). Al analizar la β -diversidad (Bray-Curtis), se observaron 2 grupos bien diferenciados: uno que comprende los quesos frescos (H y M), y otro que incluye los quesos semicurado de pasta suave (P) y curado de pasta dura (G). Cabe destacar que los quesos B y C no agrupan junto con los demás quesos. En cuanto a la composición microbiana, se observó gran abundancia de microorganismos utilizados como iniciadores. En quesos frescos se observó mayor abundancia (33,73 – 44,61%) de bacterias ácido lácticas (*Lactococcus* y *Lactobacillus*) que suelen encontrarse al inicio de la maduración y se utilizan para mejorar la coagulación de las proteínas y disminuir la presencia de patógenos. Los quesos curados de pasta dura y semidura (G y B) presentaron abundancias relativas elevadas de *Streptococcus* (40,48 – 49,53%), estos desempeñan una función importante en la proteólisis y la determinación del sabor en quesos madurados. Por otra parte, el queso C

presentó una gran cantidad de bacterias de los géneros *Lactococcus* y *Fructilactobacillus* (21,70 – 44,39%), mientras que en P se detectó una elevada abundancia de bacterias de los géneros *Streptococcus* y *Hafnia* (3,44 – 63,48%). En quesos frescos y semicurados de pastas blandas encontramos presencia de bacterias de los géneros *Shewanella*, *Pseudomonas* y *Pseudoalteromonas*, asociadas a procesos de deterioro y contaminación. En resumen pudimos observar patrones de la microbiota de acuerdo al tipo de pasta de los quesos, sin embargo cada producto posee un perfil microbiano específico.

Keywords: Queso, Microbiota, Cabra

Summary

Spain has a great tradition of goat farming, with milk production being the main objective of the herds. Given the high fat and protein content of goat milk, it is ideal for cheese production. Cheese manufacturing processes include the incorporation of specific microorganisms and their interaction with organic compounds and commensal flora of milk. This series of interactions contribute to the development of the desired organoleptic and physicochemical properties in the final product. The microbial composition of cheeses has traditionally been studied through cultures, PCR, among others. Currently, the development of bacterial genome and gene sequencing techniques generates a broader picture of the microbiota of each product. Through this technology, various dairy products have been characterized, however, the microbiota of goat cheeses has not been sequenced. In the present work we characterize the microbiota of six commercial goat cheeses, sequencing the ultravariation region V3-V4 of the bacterial 16S rRNA gene. For this, we obtained samples of a fresh industrial cheese with a soft paste (H) and another 5 artisanal ones: fresh (M), with a soft paste and mouldy rind (C and P) and a hard paste with a florid rind (B) and natural (G). Bioinformatic analyzes were performed from 1,639,816 sequences assigned to 283 amplicon sequence variants (ASVs). Taxa assignment was performed using DAIRYdb 2.0 as reference.

The α -diversity analysis showed a greater diversity of taxa in fresh and soft-paste cheeses than in hard-paste ones (Shannon index, Kuskall-Wallis P-value < 0.05). When analyzing β -diversity (Bray-Curtis), two well-differentiated groups were observed: one that includes fresh cheeses (H and M) and another that includes soft cheeses and mouldy rind (P) and hard cheeses and natural rind (G). It should be noted that cheeses B and C do not group together with the other cheeses. Regarding the microbial composition, a great abundance of microorganisms used as starters was observed, that is: *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* and *Streptococcus*. In fresh cheeses, a greater abundance (33.73 – 44.61%) of lactic acid bacteria (*Lactococcus* and *Lactobacillus*) was observed, which are usually found at the beginning of ripening and are used to improve the coagulation of proteins and reduce the presence of pathogens. Hard cheeses (G and B) presented high relative abundances of *Streptococcus* (40.48 - 49.53%), which play an important role in proteolysis and flavour determination in ripened cheeses. On the other hand, cheese C presented a large number of bacteria of the genera *Lactococcus* and *Fructilactobacillus* (21.70 – 44.39%), while in P a high abundance of bacteria of the genera *Streptococcus* and *Hafnia* was detected (3, 44 – 63.48%). In fresh and soft cheeses, the presence of *Shewanella*, *Pseudomonas* and *Pseudoalteromonas* was observed, associated with deterioration and contamination processes. In general, we observed microbiota patterns according to the type of cheese paste. However, each product has a unique microbial profile.

Keywords: Cheese, Microbiota, Goat