

VARIAÇÕES NA MICROBIOTA LEVEDURIFORME DO FERMENTO ENDÓGENO UTILIZADO NA PRODUÇÃO DO QUEIJO CANASTRA

Yeast microbiota of the endogenous starter culture used in the production of the Canastra cheese

Juliana E. Nóbrega¹
Célia Lúcia L.F. Ferreira²
Milene T. das Dores¹
Edimara M. Ferreira³
Elisângela do C. Domingo³
João Paulo V. Santos⁴

RESUMO

Variações na microbiota leveduriforme presente no fermento endógeno utilizado para fabricação do queijo Canastra foram avaliadas no período das águas (PA) e no período da seca (PS). O queijo Canastra é produzido na região da Serra da Canastra, Minas Gerais, de forma artesanal a partir de leite cru de vaca e utiliza como cultura iniciadora um fermento endógeno obtido após prensagem e salga do queijo. Um total de 115 estirpes foram isoladas de 16 amostras do fermento endógeno coletadas em 8 unidades produtoras nos dois períodos amostrados e identificadas pela metodologia tradicional e pelo sistema API C 20 AUX. As espécies de leveduras predominantes no PA foram *Debaryomyces hansenii*, *Torulasporea delbruekii* e *Kluyveromyces lactis*. No PS, predominaram as espécies *Kluyveromyces lactis*, *Torulasporea delbruekii* e *Kluyveromyces marxianus*. Os resultados demonstram que as espécies leveduriformes presentes no fermento endógeno da Serra da Canastra, nos dois períodos avaliados, são basicamente as mesmas, variando a frequência com as quais ocorrem.

Palavras-chave: queijo artesanal, leveduras, microbiologia.

1 INTRODUÇÃO

Em Minas Gerais, a grande maioria dos queijos fabricados de forma artesanal, é produzida com a adição de fermentos endógenos. Os produtores artesanais utilizam a microbiota naturalmente presente como coadjuvante à produção. O fermento endógeno utilizado na produção do queijo Canastra, fabricado a partir de leite cru de vaca, na região da Serra da Canastra, é preparado diariamente. Após enformagem e salga do queijo, parte do soro eliminado é coletado e adicionado a produção subsequente. Essa prática apresenta a vantagem de inserir ao produto uma microbiota diversificada, representativa da região na qual o produto é fabricado e que confere ao queijo características sensoriais diferenciadas e endêmicas. Apesar de apresentarem composição e desempenho variáveis, fermentos

endógenos possuem propriedades importantes como relativa insensibilidade ao ataque de bacteriófagos e constituem uma rica fonte de novas estirpes (COGAN et al, 1997; PARENTE et al, 1997; BERESFORD, 2001).

Leveduras exercem um importante, e ainda, mal compreendido papel no processo de maturação de queijos (BORELLI et al, 2006). Nesses produtos, leveduras podem inibir ou eliminar microrganismos indesejáveis, bem como, podem contribuir positivamente em processos de fermentação ou maturação, apoiando a função das culturas iniciadoras (JAKOBSEN e NARVHUS, 1996). Por outro lado, são potenciais causadoras de deterioração, sendo os defeitos tipicamente observados: a produção de gás, alteração no sabor e aroma, descoloração e mudança de textura (FLEET, 1990; JAKOBSEN e NARVHUS, 1996).

1 Doutoranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Universidade Federal de Viçosa.

2 Professora do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos - Universidade Federal de Viçosa.

3 Estudante de Graduação em Ciência e Tecnologia de Laticínios - Universidade Federal de Viçosa.

4 Mestrando em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Universidade Federal de Viçosa.

Usualmente são detectadas em grande quantidade, refletindo uma boa adaptação ao substrato rico em proteínas, lipídios, açúcar e ácidos orgânicos. Sua ampla distribuição é consequência da atividade lipolítica e proteolítica, da habilidade em fermentar/assimilar lactose, de utilizar ácidos orgânicos, capacidade de crescimento em baixas temperaturas, osmotolerância e resistência a compostos de limpeza e sanificação (FLEET, 1990; JAKOBSEN e NARVHUS, 1996; FADDA et al, 2004).

Leveduras podem estar presentes ao longo da cadeia produtiva do leite, da fazenda até o produto acabado. Como contaminantes naturais, estão amplamente distribuídas no ambiente da ordenha, estando presentes no leite cru e utensílios (LOPANDIC et al, 2006). Embora o leite cru seja frequentemente contaminado com leveduras, as populações são geralmente baixas, comparadas com a das bactérias, sugerindo que o rápido crescimento das bactérias, restringe o crescimento leveduras (FLEET, 1990; ROOSTITA e FLEET, 1996).

Apesar da extensiva utilização de fermentos endógenos na produção de queijos artesanais no estado de Minas Gerais, as características da sua microbiota ainda são desconhecidas. O objetivo desse trabalho foi caracterizar a microbiota leveduriforme presente no fermento endógeno utilizado na fabricação do queijo Canastra em oito unidades produtoras no período das águas e da seca.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Coleta das amostras

Amostras dos fermentos endógenos utilizados em oito unidades produtoras do queijo Canastra foram coletadas no município de

Medeiros, Minas Gerais, no período da seca (período de abril a setembro) e no período das águas (período de outubro a março) do ano de 2006. Após cada coleta, as amostras foram transportadas para o laboratório sob refrigeração e imediatamente avaliadas.

2.2 Isolamento e identificação das leveduras

Leveduras foram isoladas a partir das placas contendo o meio Potato Dextrose Agar (PDA - Oxoid, Basingstoke, Hampshire, Inglaterra) acidificado com 10 mL/L de ácido tartárico esterilizado a 10 % (SOUZA et al, 2003) e adicionado de cloranfenicol (0,01 %), em número igual ao da raiz quadrada da contagem, segundo recomendação do Bacteriological Analytical Manual for Foods (FDA, 1972). Após purificação, os isolados foram mantidos sob refrigeração em tubos contendo PDA.

Para a identificação dos isolados utilizou-se as chaves descritas por Lodder (1970) e o *kit* API® 20 C AUX (BioMerieux® SA, Marcy-l'Etoile/França), seguindo-se as recomendações do fabricante.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As espécies da microbiota leveduriforme isoladas do fermento endógeno nos dois períodos amostrados, bem como a sua frequência em cada unidade produtora avaliada, podem ser observadas nas Figuras 11 e 12, respectivamente.

Os resultados obtidos no PA evidenciam *Debaryomyces hansenii* (*D. hansenii*) como a espécie que apresentou maior percentual dentre os isolados avaliados (39,44 %), seguida por

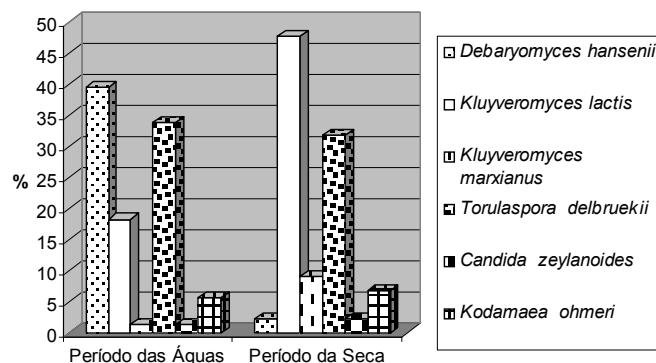


Figura 1 - Frequência das diferentes espécies leveduriformes identificadas no período das águas (PA) e no período da seca (PS).

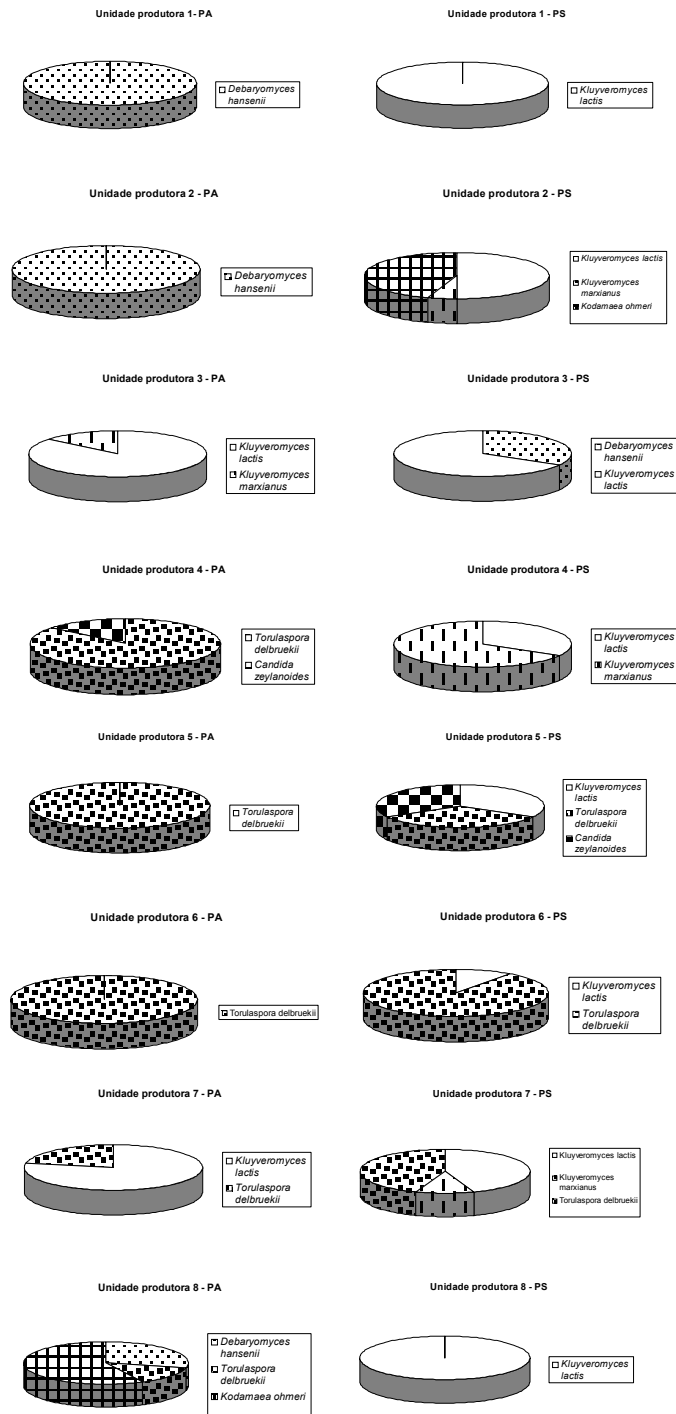


Figura 2 - Frequência das espécies de leveduras predominantes nas unidades produtoras, no período das águas (PA) e no período da seca (PS).

Torulaspota delbruekii (*T. delbruekii*) (33,80 %) e *Kluyveromyces lactis* (*Kl. lactis*)(18,31%).

O predomínio das espécies *D. hansenii* e *T. delbruekii*, no PA, pode estar associado à uma melhor adaptação a concentração de NaCl presente no fermento endógeno. Usualmente no PA há um aumento na concentração de sal praticada entre os produtores do queijo Canastra (NÓBREGA, 2007). Já foi demonstrado que ambas as espécies crescem na presença de até 3 mol/L de NaCl, enquanto que espécies como *Kl. lactis* e *Kl. marxianus* crescem na presença de até 2 mol/L de NaCl (AGUIAR e LUCAS, 2000). Ferreira e Viljoen (2003) consideraram *D. hansenii*, como potencial agente de maturação em queijos. Leveduras desempenham papel considerável no processo de maturação de queijos, o que contribui para o desenvolvimento do aroma, sabor e textura, devido à proteólise, lipólise, utilização do ácido láctico, fermentação da lactose e autólise da sua biomassa (NUÑEZ et al, 1981; FLEET, 2007).

T. delbruekii foi a espécie encontrada em maior número de propriedades, tendo sido isolada em 5 das 8 unidades produtoras. *D. hansenii*, apesar de predominar em número de espécies isoladas, foi detectada em 3 unidades produtoras, sendo que constituiu a única espécie isolada em duas destas. *Kl. lactis*, terceira espécie isolada em termos percentuais, foi encontrada somente em 2 das 8 propriedades.

A maior diversidade de espécies foi encontrada no fermento endógeno da unidade produtora 8 (3 espécies). No entanto, nos fermentos endógenos das propriedades 1, 2, 5 e 6 detectou-se a presença de apenas uma espécie.

Borelli (2002), ao analisar o fermento endógeno dessa região, também no período das águas, encontrou a predominância de *T. delbruekii*, que apresentou maior distribuição entre os 10 fermentos endógenos avaliados. *D. hansenii* e *Kl. lactis*, também foram isoladas de forma expressiva, figurando entre as 4 espécies mais freqüentes.

As espécies *Kl. marxianus* e *Candida zeylanoides* (*C. zeylanoides*) foram detectadas apenas nas unidades produtoras 3 e 4, respectivamente. Essas espécies aliadas a *Kodamaea ohmeri* (*K. ohmeri*), constituíram as espécies encontradas em menor freqüência no período das águas. No entanto, Borelli (2002) encontrou *K. ohmeri* como a segunda espécie mais freqüente no fermento endógeno coletado em outro município da região, São Roque de Minas. É importante ressaltar que a espécie *K. ohmeri* nunca havia sido reportada em associação a fabricação de queijos (BORELLI, 2002).

No PS, foram isoladas as mesmas espécies identificadas na época das águas, porém em freqüências diferentes (Figura 1).

Kl. lactis foi a espécie que mais se destacou. Além de corresponder a 47,73 % do total de isolados nesse período, foi encontrada no fermento endógeno de todas as unidades produtoras (Figura 2).

A segunda espécie mais encontrada foi *T. delbruekii* e apresentou uma freqüência de 31,82 %, semelhante à encontrada no período das águas (33,80 %), porém com menor distribuição (presente em 3 propriedades).

A terceira espécie mais freqüente foi *Kl. marxianus*, sua freqüência (9,09 %) foi superior a encontrada no período das águas, assim como sua distribuição (presente em 3 propriedades). As demais espécies ocorreram em freqüências de 6,82 % para *K. ohmeri* e de 2,27 % para *D. hansenii* e *C. zeylanoides*.

A ocorrência de um número reduzido de espécies sugere que a composição do fermento endógeno, bem como as condições ambientais no qual é produzido, promoveu a seleção de uma microbiota que se manteve ao longo dos dois períodos avaliados em relação à diversidade de espécies, variando apenas a freqüência com as quais foram observadas. Estudos posteriores deverão se pautar sobre as características bioquímicas dessas espécies a fim de apontar o papel que possuem para a formação das características sensoriais do queijo Canastra.

SUMMARY

Yeast microbiota of the endogenous starter culture used in the production of the Canastra cheese

Variation of the yeast microbiota in the endogenous starter used in the production of the Canastra cheese was evaluated in the two seasons, according to the farm production, the raining (RS) and dry seasons (DS). The Canastra cheese is produced in the region of the Serra da Canastra, Minas Gerais State, artisanal made from raw bovine's milk, and uses, as a starter culture, endogenous microorganisms present in the whey from this cheese. A total of 115 strains were isolated from 16 samples of the endogenous starter collected in 8 units farm in the two evaluated times. These isolates were characterized and identified phenotypically with the aid of classical methodology and API C 20 AUX system. The species of predominant yeasts in RS were *Debaryomyces hansenii*, *Torulaspota delbruekii* and *Kluyveromyces lactis* and in the DS, predominated *Kluyveromyces lactis*, *Torulaspota delbruekii* and *Kluyveromyces marxianus*. The results demonstrate that the yeast species present in endogenous starter in Serra da Canastra, in the two periods, did not differ, however it has been observed a difference in the frequency of the species identified.

Keywords: artisanal cheese, yeasts, food microbiology.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR, C., LUCAS, C. Yeasts killer/sensitivity phenotypes and halotolerance. **Food Technology Biotechnology**, v. 38, n. 1, p. 39-46, 2000.
- BERESFORD, T. P., FITZSIMONS, N. A., BRENNAN, N. L., COGAN, T. M., Recent advances in cheese microbiology. **International Dairy Journal**, v. 11, p. 259-274, 2001.
- BORELLI, B. M., Quantificação dos indicadores higiênico-sanitários e da diversidade de leveduras durante a fabricação do queijo Minas curado produzido na Serra da Canastra, MG. Belo Horizonte: UFMG. 2002. 107p. Dissertação de mestrado em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais.
- BORELLI, B. M., FERREIRA, E. G., LACERDA, I. C. A., FRANCO, G. R., ROSA, C. A. Yeast populations associated with the artisanal cheese produced in the region of Serra da Canastra, Brazil. **World Journal Microbiology Biotechnology**, v. 22, p. 1115-1119, 2006
- COGAN, T. M., BARBOSA, M., BEUVIER, E., BIANCHI-SALVADOR, B... Characterization of the lactic acid bacteria in artisanal dairy products. **Journal of Dairy Research**, v. 64, p. 409-421, 1997.
- FADDA, M. E., MOSSA, V., PISANO, M. B., DEPLANO, M., COSENTINO, S. Occurrence and characterization of yeasts isolated from artisanal Fiore Sardo cheese. **International Journal of Food Microbiology**, v. 95, p. 51-59, 2004.
- FERREIRA, A. D., VILJOEN, B. C. Yeasts as adjunct starters in matured Cheddar cheese. **International Journal of Food Microbiology**, v. 86, p.131-140, 2003.
- FLEET, G.H. Yeasts in dairy products. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 68, p. 199-211, 1990.
- FLEET, G. H., Yeasts in foods and beverages : impact on product quality and safety. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 18, p. 170-175, 2007.
- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Bacteriological analytical manual for foods. 3. ed. Washington. Department of Health Education and Welfare, 1972. 114p.
- JAKOBSEN, M., NARVHUS, J., Yeasts and possible beneficial and negative effects on the quality of dairy products. **International Dairy Journal**, v. 6, p. 755-768, 1996.
- LODDER, J. The yeasts : A taxonomic study. Amsterdam. North-Holland Publishing Company, 1970. 1385p.
- LOPANDIC, K., ZELGER, S., BÁNSZKY, L. K., ELISKASES-LECHNER, F., PRILLINGER, H. Identification of yeasts associated with milk products using traditional and molecular techniques. **Food Microbiology**, n. 23, p. 341-350, 2006.
- NÓBREGA, J. E., Caracterização do fermento endógeno utilizado na fabricação do queijo Canastra no município de Medeiros, Minas Gerais, com ênfase em leveduras. Viçosa: UFV. 2007. 82p. Dissertação de mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa.
- NUÑES, M., MEDINA, M., GAYA, P., DIAS-AMADO, C., Les levures et les moisissures dans le fromage bleu de Cabrales. **Le Lait**, v. 61, p. 62-79, 1981.
- PARENTE, E., ROTA, M. A., RICCIARDI, A., CLEMENTI, F. Characterization of natural starter cultures used in the manufacture of Pasta Filata cheese in Basilicata (Southern Italy). **International Dairy Journal**, v. 7, p. 775-783, 1997.
- ROOSTITA, R., FLEET, G.H. The occurrence and growth of yeasts in Camembert and Blue-veined cheeses. **International Journal of Food Microbiology**, v. 28, p. 393-404, 1996.
- SOUZA, C.F.V, ROSA, T.D., AYUB, M.A.Z. Change in the microbiological and physicochemical characteristics of *Serrano* cheese during manufacture and ripening. **Brazilian Journal Microbiology**, v. 34, p. 260-266, 2003