### UNIVERSIDADE DE ÉVORA

## MICROBIOLOGIA DO QUEIJO ARTESANAL PRODUZIDO NA REGIÃO DE ÉVORA

# MICROBIOLOGY OF THE ARTISANAL CHEESE PRODUCED IN THE REGION OF ÉVORA

Maria Eduarda Marques Madeira da Silva Potes

Dissertação apresentada à Universidade de Évora para obtenção do grau de Doutor em Higiene e Sanidade Animal.

#### **RESUMO**

O queijo artesanal produzido na região de Évora é um queijo curado, de pasta dura ou semi-dura, fabricado com leite cru de ovelha, segundo técnicas artesanais. É um queijo pequeno com cerca de 60 a 90 g de peso e forma cilíndrica achatada com cerca de 6 cm de diâmetro e 2 a 3 cm de altura, ou com peso entre 120 e 200 g ou 200 a 300 g, com a mesma forma cilíndrica achatada mas diâmetro maior sendo, então, designado por merendeira. A época de produção inicia-se em Dezembro e decorre até Maio/Junho.

As análises microbiológicas realizadas ao leite destinado ao fabrico deste queijo revelaram a presença de elevados teores microbianos, nomeadamente enterobactérias e coliformes (entre 3 e 4,5 log ufc/mL).

O diferente comportamento dos vários grupos microbianos ao longo da maturação evidencia a existência de duas épocas de produção do queijo de Évora. A população láctica atinge, precocemente, valores mais elevados na Primavera (8,92 log ufc/mL aos 7 dias de maturação), enquanto que no Inverno os valores máximos são menores e atingidos apenas no final da maturação (8,10 log ufc/mL aos 60 dias). Também as enterobactérias e os coliformes revelaram um comportamento diferente nas duas épocas de fabrico, observando-se um decréscimo, ao longo da maturação que era mais acentuado na época de Primavera que na época de Inverno. A população de leveduras, apresentando essencialmente actividade lipolítica, desempenha, provavelmente, um papel importante na maturação do queijo, que em condições normais é caracterizada por uma intensa lipólise.

De entre as bactérias lácticas presentes neste queijo, os géneros *Enterococcus*, *Lactobacillus* e *Lactococcus*, representados por estirpes que revelaram características próprias, constituem cerca de 95% da flora láctica natural. *Enterococcus faecium* foi a espécie predominante, sendo também numerosa a

população de *Enterococcus faecalis* e do complexo *Enterococcus hirae/Enterococcus durans. Lactobacillus paracasei* subsp *paracasei*, *Lactobacillus casei* e *Lactococcus lactis* estão também presentes em populações numerosas, sendo o género *Lactobacillus* mais frequente no final da maturação, ao contrário do que sucede com o género *Lactococcus*.

Nas amostras analisadas não foram detectadas, entre outros microrganismos indesejáveis, *Listeria monocytogenes* nem *Salmonella* spp. O estudo da sua viabilidade ao longo da maturação indica que, provavelmente, as características físico-químicas do produto aliadas à actividade metabólica da população láctica presente em números elevados contribuem para o declínio daqueles microrganismos, caso sejam submetidos às condições em que normalmente decorre a maturação.

Entre os mecanismos antagonistas desenvolvidos pelas espécies de bactérias lácticas presentes no queijo, verificou-se que o efeito associado das diversas substâncias produzidas pelo metabolismo dessas bactérias constitui o principal mecanismo inibitório. Também é expressiva actividade inibitória desenvolvida pela suspensão bacteriana embora tenha sido escassa a actividade inibitória devida exclusivamente quer à produção de ácidos orgânicos quer à produção de peróxido de hidrogénio.

### SUMMARY

The artisanal cheese produced in the region of Évora is a ripened, hard or semi-hard cheese, manufactured from raw ewe's milk, following artisanal techniques. Is a small cheese with about 60 to 90 g weight, flattened cylindrical shape about 6 cm in diameter and 2 to 3 cm in height, or weighing between 120 and 200 g or 200 to 300 grams, with the same flattened cylindrical shape but larger diameter being then called merendeira. Its production begins in December and runs until May/June.

Microbiological analyses carried out in milk intended for the manufacture of cheese revealed the presence of high microbial counts, namely enterobacteria and coliforms (between 3 and 4.5 cfu/mL log).

The different behaviour of several microbial groups throughout ripening period highlights two production seasons of Évora cheese. The population of lactic acid bacteria reaches, prematurely, higher values in spring (8.92 cfu/mL log at 7 days of ripening), while in winter the maximum values are smaller, and achieved only at the end of ripening (8.10 cfu/mL log at 60 days). Also enterobacteria and coliforms revealed a different behaviour in two seasons of manufacture, observing troughout the ripening period a more pronounced decrease in Spring than in Winter. The population of yeasts, showing mainly lipolitic activity probably plays an important role in maturation of cheese, which, under normal conditions, is characterized by a strong lipolysis.

Among the lactic bacteria present in this kind of cheese, the genera *Lactobacillus Lactococcus* and *Enterococcus*, represented by strains that have specific characteristics, constitute about 95% natural lactic flora. *Enterococcus faecium* was the predominant species, and *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus hirae/Enterococcus durans* complex are also numerous. *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *Lactobacillus casei*, *Lactococcus lactis* are also present in many populations, being the genus *Lactobacillus* more frequent at the end of ripening, unlike the genus *Lactococcus*.

Listeria monocytogenes and Salmonella spp. were not detected, among other undesirable microorganisms, in the samples analysed. The study of their viability throughout the ripening period indicates that probably the physico-chemical characteristics of the product combined with the metabolic activity of lactic acid bacteria present in high numbers contribute to the decline of those micro-organisms, if they are subjected to the normal conditions of ripening.

Considering the antagonistic mechanisms developed by lactic acid bacteria present in cheese, the associated effect of various substances produced by the metabolism of these bacteria is the main inhibitory mechanism. Bacterial suspension showed expressive inhibitory activity although inhibitory activity due solely to the production of organic acids or to the production of hydrogen peroxide was scarce.