

Artículo original

Identificación y propiedades de interés tecnológico de levaduras aisladas de productos lácteos de la región de Santa Fe, Argentina

Nancy Guadalupe Baraggio*, Marta Susana Carrasco, Arturo Carlos Simonetta

Cátedras de Microbiología y Biotecnología, Departamento de Ingeniería en Alimentos, Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral, Santiago del Estero, Santa Fe, Argentina.

Recibido 24 de julio de 2017; aceptado 30 de octubre de 2017

Resumen: El objetivo del presente trabajo fue estudiar la microbiota de levaduras típica de quesos producidos en Argentina, así como sus propiedades para degradar los componentes de la leche. Se estudiaron levaduras aisladas de leche cruda, leche-fermentos, suero-fermentos, cuajadas y quesos provenientes de la zona productora santafesina (Argentina), que resultaron pertenecer a los géneros *Candida*, *Cryptococcus*, *Pichia* y *Brettanomyces*. Las propiedades tecnológicas ensayadas fueron actividad lipolítica y proteolítica, y metabolización de aminas, lactosa, ácido láctico y galactosa y aminoácidos. Las levaduras estudiadas presentaron diversos grados de proteólisis y lipólisis y todas asimilaron las aminas ensayadas. La capacidad de metabolización de lactosa, galactosa y ácido láctico fue una característica común en todos los aislados, y la degradación de los aminoácidos estudiados varió de acuerdo con la cepa en estudio. La degradación de grasa y proteínas confiere características típicas a cada variedad de quesos y la capacidad de metabolizar azúcares, ácido láctico, aminas biógenas y aminoácidos juega un papel importante durante su maduración. Se concluyó que es necesario conocer la biota de levaduras participante en la maduración de cada variedad de queso, así como sus propiedades tecnológicas, a fin de preparar fermentos apropiados para mantener su tipicidad.

Palabras clave: levaduras, quesos, características tecnológicas, región santafesina, Argentina.

Identification and properties of technological interest of isolated yeasts of dairy products from the Santa Fe region, Argentina

Abstract: The objective of the present work was to study the yeast microbiota typical of cheese produced in Argentina, as well as its properties to degrade the components of milk. Yeasts isolated from raw milk, milk-ferments, whey-ferments, curds and cheeses from the Santa Fe producing area (Argentina) were studied, which were found to belong to the genera *Candida*, *Cryptococcus*, *Pichia* and *Brettanomyces*. The technological properties tested were lipolytic and proteolytic activity, metabolization of amines, lactose, lactic acid and galactose and amino acids. The yeasts studied showed different degrees of proteolysis and lipolysis and all of them assimilated the amines tested. The metabolic capacity of lactose, galactose and lactic acid was a common feature in all isolates, and the degradation of the amino acids studied varied according to the strain under study. The degradation of fat and proteins confers typical characteristics to each variety of cheeses and the ability to metabolize sugars, lactic acid, biogenic amines and amino acids plays an important role during their maturation. It was concluded that it is necessary to know the biota of yeasts participating in the maturation of each variety of cheese, as well as their technological properties, in order to prepare appropriate fermentations to maintain their regular characteristics.

Keywords: yeasts, cheese, technological properties, Santa Fe region, Argentina.

* Correspondencia:
E-mail: baraggio@fiq.unl.edu.ar

Introducción

Los microorganismos son un componente esencial de todas las variedades de quesos y por lo tanto juegan un papel importante durante la elaboración y maduración de los mismos. Se pueden dividir en dos grupos principales:

iniciadores (bacterias del ácido láctico) y biota secundaria. Durante la maduración del queso, el cultivo iniciador junto con la microbiota secundaria, promueven una serie compleja de reacciones bioquímicas que son vitales para lograr un adecuado desarrollo de sabor y textura. La biota secundaria se compone de mezclas de bacterias, levaduras y mohos,

que se asocian específicamente con algunas variedades de quesos. En muchas de estas variedades de quesos, la acción de la biota secundaria contribuye de manera significativa a las características específicas de cada una en particular. La misma se puede añadir en forma de cultivos definidos, pero en muchas situaciones, se compone de microorganismos que acceden al queso, ya sea desde la materia prima o desde el medio ambiente [1].

En muchas variedades queseras las levaduras constituyen una parte importante de la microbiota, pero no han sido objeto de investigaciones sistemáticas que hayan tenido en cuenta no sólo su número y su ubicación taxonómica, sino fundamentalmente su actividad bioquímica y sus propiedades tecnológicas. Mediante la realización de diversas investigaciones se estableció que las levaduras desempeñan un papel importante en el proceso de maduración y en el desarrollo de caracteres sensoriales en diversos tipos de quesos; por ejemplo, se logró establecer su participación en la formación de sabor y aroma característicos, la formación de ojos en la masa quesera debido a su metabolismo fermentativo, su significativo papel en los procesos de proteólisis y lipólisis, y sus acciones complementarias en la formación de productos aromáticos [2-7].

Por ello, el objetivo de este trabajo fue investigar la biota de levaduras típica de los quesos elaborados en la región santafesina, eligiendo para ello dos variedades de significativa producción entre las variedades elaboradas: el queso cremoso y el mozzarella. Los productores industriales han comprobado la presencia de levaduras en estas variedades queseras, y tanto ellos como los productores artesanales, han confirmado sus sospechas acerca de la participación de estos microorganismos en el proceso de maduración, dadas las características finales de los productos obtenidos.

Materiales y métodos

Muestras de leche, fermentos y productos lácteos: Se obtuvieron a partir de distintas partidas de leche cruda (10 muestras de 100 mL c/u), leche-fermentos (4 muestras de 50 mL c/u), suero-fermentos (2 muestras de 50 mL c/u), cuajadas (5 muestras de distintas elaboraciones, de 200 g c/u) y quesos cremosos (5 muestras de 300 g c/u), pertenecientes a diferentes elaboraciones) y mozzarella (3 muestras de distintas elaboraciones, de 300 g c/u) provenientes de la cuenca lechera santafesina. Las mismas fueron suministradas por el Instituto de Lactología Industrial (Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral, CONICET). Las muestras se tomaron asépticamente manipulándolas en cabina de seguridad biológica utilizando instrumental previamente esterilizado, y se transportaron inmediatamente al laboratorio para su posterior utilización.

Aislamiento y conservación de las levaduras: Para el aislamiento se utilizó agar extracto de levadura-glucosa-cloranfenicol-azul de bromofenol (YGCB), recomendado por Seiler y Busse [4]. Las placas fueron incubadas a 30

°C durante 7 días. Se seleccionaron las colonias en función de sus características morfológicas y de su posterior observación microscópica; luego se procedió a realizar tres siembras consecutivas sobre placas del mismo medio, con el objeto de obtener colonias aisladas puras de cada cepa. Para la conservación de las cepas y el almacenamiento de los cultivos puros se usó agar extracto de levadura-extracto de malta (YM), recomendado por los mismos autores [4], con incubación a 30 °C y posterior almacenamiento en refrigeración (4-5 °C) hasta su identificación.

Para su preservación final, las cepas fueron propagadas en caldo YM durante 48 h a 30 °C y posteriormente los cultivos se centrifugaron a 3.000 rpm durante 15 minutos. Los sedimentos celulares obtenidos se lavaron con solución salina estéril (0,85% p/v de NaCl en agua destilada) y luego de una nueva centrifugación se suspendieron en caldo YM con el agregado de un 15% (v/v) de glicerol como crioprotector; se almacenaron a temperaturas de -20 y -80 °C.

Caracterización taxonómica de los aislados: Los aislados se caracterizaron siguiendo los criterios de Kreger-van Rij [8] y de Barnett *et al.* [9], mediante las siguientes pruebas: asimilación de carbohidratos, alcoholes y ácidos orgánicos (glucosa, sacarosa, galactosa, lactosa, maltosa, arabinosa, alfa-melibiosa, inulina, rafinosa, inositol, manitol, eritritol, ácido galacturónico y glucuronato), formación de ascosporas, crecimiento en medio libre de vitaminas, fermentación de azúcares (glucosa, sacarosa, galactosa, lactosa, maltosa, rafinosa y alfa-melibiosa), asimilación de compuestos nitrogenados, hidrólisis de urea, desdoblamiento de arbutina y resistencia a 0,1% de cicloheximida.

Propiedades tecnológicas de las cepas aisladas:

1. Actividad proteolítica. Se determinó utilizando agar leche (Merck) según lo indicado por Marshall [10], el cual se distribuyó en placas de Petri y se inoculó posteriormente con la cepa a estudiar. Las placas se incubaron durante 3 semanas a 30 °C y se observó el desarrollo de un halo transparente alrededor de la colonia.

2. Actividad lipolítica. El medio empleado para su determinación fue agar tributirina (Merck), aconsejado por Vanderzant y Splittstoesser [11]. Al medio base, fundido y enfriado aproximadamente a 80 °C, se le agregaron 10 g de tributirina (Fluka), se distribuyó luego en placas de Petri y se inoculó con la cepa a estudiar; se incubó durante 3 semanas a 30 °C y se observó la formación de un halo transparente alrededor de la colonia.

3. Metabolización de aminas biógenas (tiramina, triptamina e histamina). Se utilizó el medio basal Yeast Nitrogen Base (YNB 1,17% w/v, Difco) recomendado por Besançon *et al.* [12], con el agregado de 0,8 g de la amina a estudiar (Sigma). Los cultivos se incubaron a 30 °C durante 7 días y se observó la asimilación de la amina ensayada por la aparición de turbidez en el tubo, debida el crecimiento de la levadura utilizando la amina como única

fuente nitrogenada.

4. Metabolización de lactosa. Se utilizó como medio base YNB al 0,67% (Difco), indicado por Besançon *et al.* [12] y Kreger-van Rij [5]. El mismo se distribuyó en alícuotas de 5 mL y se esterilizó a 121 °C durante 15 min. Posteriormente se le agregaron asépticamente gotas de una solución de vitaminas (esterilizada por filtración y compuesta por: 0,2 mg de biotina; 40 mg de pantotenato de calcio; 200 mg de inositol; 40 mg de niacina; 20 mg de ácido p-aminobenzoico; 40 mg de clorhidrato de piridoxina; 100 mg de tiamina; 20 mg de riboflavina; 0,2 mg de ácido fólico y 1.000 mL de agua destilada) y lactosa (Cicarelli) en concentraciones del 0,1; 0,3; 0,5; 0,8 y 1% (p/v), disuelta en buffer fosfato 0,2 M a pH 7. Este medio se inoculó con la cepa en estudio, se incubó durante 3 semanas a 30 °C y se observó la aparición de turbidez como resultado positivo.

5. Metabolización de galactosa. Se utilizó el medio basal YNB al 0,67% (Difco) con el agregado de la solución de vitaminas previamente descrita, al que se agregó adicionalmente galactosa (Anedra) en concentraciones de 1, 2 y 3% (p/v), disuelta en buffer fosfato 0,2 M a pH 7. Luego se procedió de igual forma que en el ítem 4. La prueba se consideró positiva cuando se observó la aparición de turbidez [8,12].

6. Metabolización de ácido láctico. Se procedió de igual forma que en los dos casos anteriores, pero agregando al medio ácido láctico (Cicarelli) en concentraciones de 0,1; 0,5 y 0,8% (p/v), disuelto en buffer tartrato a pH 4. La prueba se consideró positiva cuando se observó turbidez [8,12].

7. Degradación de aminoácidos a amoníaco. Se siguió el método recomendado por Kreger-van Rij [8]. A 20 g de agar base se agregaron 3 g del aminoácido a estudiar, L-lisina (Biochem), L-valina (Merck), treonina (Biochemicals) o leucina (Merck), calentando hasta disolución completa. Este medio se distribuyó en tubos de ensayo, a razón de 5 mL y se esterilizó en autoclave durante 30 min a 105 °C. Las cepas de levaduras se inocularon por estrías y se incubaron a 30 °C. Los cultivos se observaron diariamente hasta los 5 días. La reacción se consideró positiva cuando apareció un color rosado profundo, debido a la capacidad de degradar altas concentraciones del aminoácido en estudio a amoníaco en un medio completo, conteniendo una fuente nitrogenada orgánica como lo es la peptona.

Todos los ensayos de propiedades tecnológicas descritos se realizaron por triplicado, y los respectivos resultados se expresaron como promedio de los valores individuales determinados.

Resultados y discusión

Caracterización taxonómica: Se aislaron 112 cepas de levaduras, de las cuales 87 fueron obtenidas de leche cruda, 17 de suero-fermentos y leche-fermentos, y 8 de cuajadas y quesos. En la figura 1 se observa la distribución taxonómica de los aislados de levaduras obtenidos a partir de muestras de leche cruda. Entre estos aislamientos se observó un

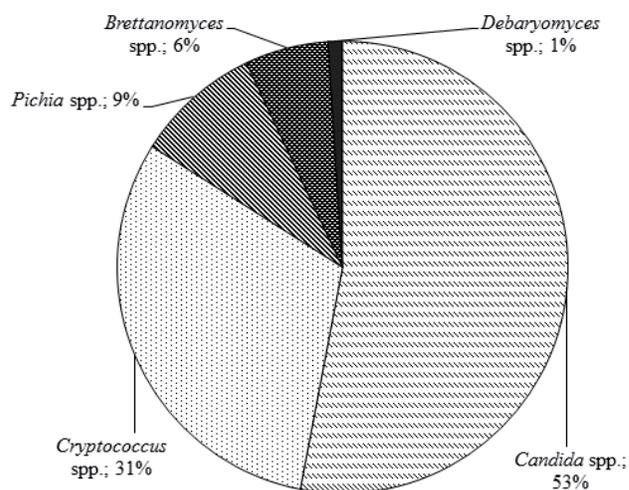


Figura 1. Distribución porcentual de los géneros de levaduras aisladas de leche cruda.

amplio predominio del género *Candida*, seguido en orden de importancia por el género *Cryptococcus*. Las especies dominantes fueron: *C. famata*, *C. laurentii* y *C. albidus* var. *albidus*.

En lo que respecta a los aislados obtenidos de suero-fermentos y leche-fermentos utilizados para los dos tipos de quesos estudiados, el 79% de los mismos correspondió a cepas del género *Brettanomyces*, el 11% al género *Candida* y el 10% al género *Cryptococcus*. Las especies más representativas resultaron ser: *B. clausenii*, *C. albidus* var. *albidus*, *C. famata* y *C. fennica*.

A partir de muestras de cuajadas y quesos se aislaron cepas pertenecientes a los mismos géneros pero con distinta distribución porcentual: 50,1% correspondió a *Candida*, 33,3% a *Brettanomyces* y 16,6% a *Cryptococcus*. Las especies más representativas fueron: *C. famata*, *C. sphaerica*, *C. dattila*, *C. albidus* var. *albidus* y *B. clausenii*.

De los resultados obtenidos se pudo observar claramente cuáles fueron los géneros y especies de levaduras presentes en los dos tipos de quesos estudiados y en las materias primas utilizadas para su manufactura, lo que proporcionó indicios acerca de cuáles de ellas participaron en su maduración. También se pudo inferir *a priori* su origen o procedencia. Particularmente para el caso de *C. famata*, presente en los fermentos utilizados y la leche cruda, las levaduras, procedentes del ecosistema de las plantas elaboradoras del queso, se aportarían durante su manipulación en la planta, antes de su pasteurización, dado que en la región no se producen industrialmente quesos con leche cruda [13,14]. Por otra parte, aunque no exista ese tipo de contaminación ambiental, las levaduras presentes en la leche cruda son las mejor adaptadas a ese ecosistema, y por lo tanto, son las que pueden participar en el proceso de maduración de quesos con mayor eficiencia, cuando se las incorpora como fermentos secundarios.

En investigaciones similares, realizadas en años recientes en distintas regiones del mundo, se ha detectado también la presencia de una microbiota de levaduras característica de cada lugar. Por ejemplo, en quesos de corta maduración,

elaborados a partir de leche bovina en Galicia (España), se encontraron los siguientes géneros de levaduras: *Yarrowia*, *Kluyveromyces*, *Debaryomyces*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Candida*, *Rhodotorula*, *Trichosporon* y *Cryptococcus* [15]. En queso italiano Pecorino di Farindola, *K. marxianus* fue la especie predominante [16], mientras que los géneros *Yarrowia*, *Debaryomyces*, *Kluyveromyces*, *Candida* y *Geotrichum* fueron aislados de quesos de leche cruda de oveja de Divle Cave [17]. Golić *et al.* [18] estudiaron la presencia de levaduras silvestres en nueve quesos artesanales blancos encurtidos (White pickled) y en nueve del tipo suave fresco, recolectados en Serbia y Croacia; encontraron alrededor de 20 especies de levaduras, siendo *D. hansenii*, *C. zeylanoides*, *Torulaspota delbrueckii* y *Y. lipolytica* las especies predominantes. También se han estudiado quesos tradicionales Serro Minas, uno de los más populares producidos a partir de leche cruda en Brasil [19] y los géneros de levaduras encontrados fueron: *Candida*, *Debaryomyces*, *Galactomyces*, *Kluyveromyces*, *Kodamaea*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Torulaspota* y *Trichosporon*. En otra investigación realizada en 44 muestras de diversos tipos de quesos, predominó *D. hansenii*, seguida de *G. candidus*, *C. batistae*, *C. parapsilosis* y *C. sake* [20]. Para Ceugniz *et al.* [21], en quesos franceses “Tommed’ orchies” se encontraron los géneros *Yarrowia*, *Debaryomyces*, *Kluyveromyces*, *Saturnispora* y *Clavispora*. En el trabajo realizado por Pereira Andrade *et al.* [22], en quesos Canastra, *Kluyveromyces*, *Torulaspota* y *Candida* fueron los géneros prevalentes y para Gkatzionis *et al.* [23], en quesos Stilton, se encontraron los géneros *Yarrowia*, *Kluyveromyces*, *Debaryomyces*, *Trichosporon* y *Candida*.

De lo expuesto previamente, se pudo observar que en diferentes partes del mundo se han aislado géneros y especies de levaduras que coinciden parcialmente con los encontrados en el presente trabajo, ya que en cada caso existe una biota particular que depende de las materias primas, las condiciones tecnológicas de elaboración y la influencia de las condiciones climatológicas y ambientales del lugar, entre otras.

Propiedades tecnológicas de las cepas aisladas:

1. Actividad lipolítica. En la figura 2 se observa la actividad lipolítica detectada en cada una de las cepas estudiadas. Se pudo apreciar que todos los aislados mostraron esta actividad. Las cepas de *C. famata* y las dos especies de *Cryptococcus* presentaron distinto grado de lipólisis, mostrando entre un 50-70% de actividad máxima detectada. Por otra parte, los valores de lipólisis determinados para las otras especies de levaduras fueron muy elevados (valores máximos correspondientes a halos de lipólisis de 7,5 cm de diámetro). Estos resultados mostraron similitud con los obtenidos por Besançon *et al.* [12], quienes determinaron una capacidad variable para degradar aceites y tributirina en cepas pertenecientes a los géneros *Candida* y *Debaryomyces*. Es importante tener en cuenta esta característica, ya que está relacionada con la posibilidad que tienen distintas levaduras de degradar lípidos y, por consiguiente, juegan un papel importante en la formación del sabor y aroma de los quesos.

2. Actividad proteolítica. En la figura 3 se observa la actividad proteolítica de las cepas ensayadas. De acuerdo con los resultados obtenidos, se observó que solamente 10 cepas de *C. famata*, 7 de *C. laurentii*, 1 de *C. albidus* var. *albidus* y 2 de *P. stipitis* fueron no proteolíticas, mientras que las levaduras restantes mostraron una marcada actividad proteolítica.

Los datos obtenidos acerca de la actividad lipolítica y proteolítica son de suma importancia para la selección de cepas que podrían integrar fermentos para la industria quesera, ya que el grado de lipólisis y proteólisis, y de la formación de compuestos resultantes, son fundamentales para la adquisición de las características propias del queso madurado. Si bien el proceso de maduración es conducido básicamente por las enzimas provenientes de la leche, del cuajo y de las bacterias lácticas del fermento, también las actividades enzimáticas de las levaduras tienen un apreciable grado de participación en dicho proceso. Estos resultados son similares a los obtenidos por Adis *et al.* [24], que encontraron que cepas de *D. hansenii*, aisladas

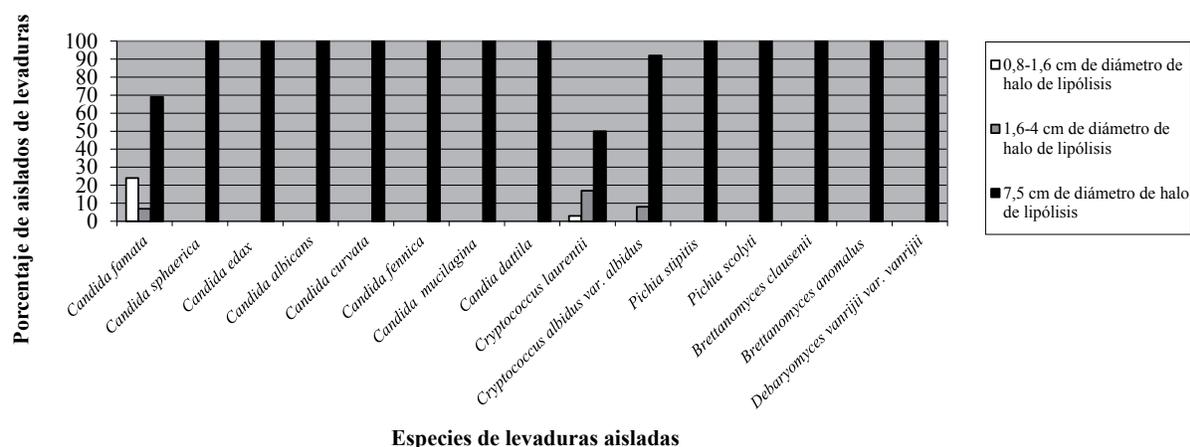


Figura 2. Actividad lipolítica de las distintas especies de levaduras aisladas de muestras lácteas.

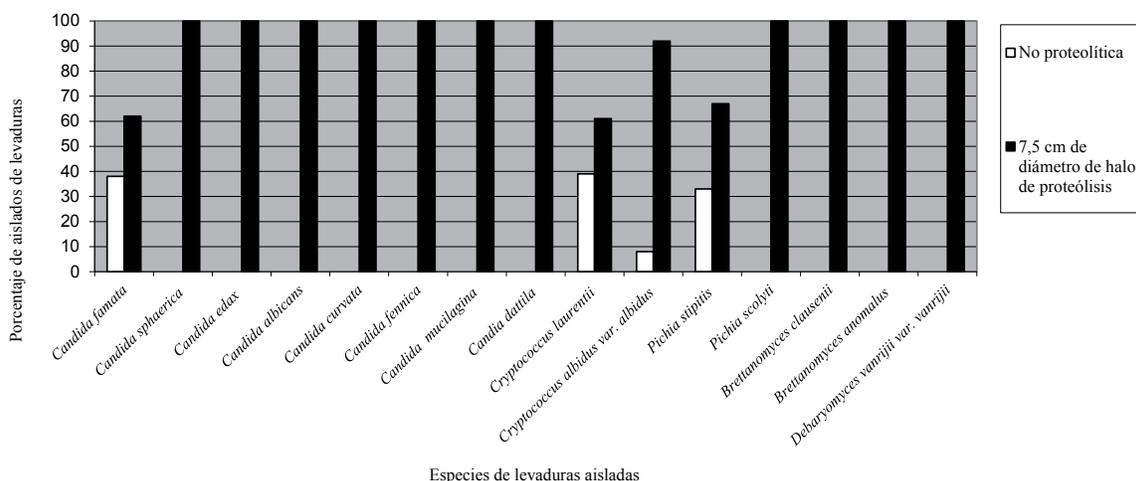


Figura 3. Actividad proteolítica de las distintas especies de levaduras aisladas de muestras lácteas.

de queso Camembert y de quesos azules, fueron altamente lipolíticas pero no proteolíticas, mientras que los aislados de *Y. lipolytica* fueron proteolíticos y lipolíticos en diversos grados. En cambio, las levaduras estudiadas por Corbo *et al.* [5], mostraron actividad proteolítica y lipolítica variable. Según Capece y Romano [6], la actividad proteolítica de *D. hansenii* en queso Pecorino di Filiano también fue variable. Por su parte, Binetti *et al.* [7] demostraron que todas las cepas *C. lusitaniae* presentaron actividad lipolítica, así como también algunas de las cepas de *K. marxianus* y *G. geotrichum*.

3. Metabolización de aminas biógenas. Todos los aislados en estudio demostraron poseer una buena capacidad para metabolizar las tres aminas ensayadas (tiramina, triptamina e histamina), resultados que se comparan a los obtenidos por Besançon *et al.* [12], quienes informaron que levaduras aisladas de queso Roquefort fueron capaces de asimilar, en su mayoría, tiramina. Estos datos son interesantes, ya que la biota de levaduras puede jugar un importante papel en la eliminación de aminas provenientes de la decarboxilación de aminoácidos, proceso bioquímico común en muchas bacterias lácticas, especialmente las del género *Enterococcus*, y sobre todo en las especies fúngicas que intervienen en la maduración de quesos.

4. Metabolización de distintas concentraciones de lactosa, galactosa y ácido láctico. Todos los aislados resultaron capaces de metabolizar lactosa, galactosa y ácido láctico en las concentraciones, ensayos de cada uno de estos compuestos, mostrando un buen desarrollo. Tofalo *et al.* [16] demostraron que cepas de *K. marxianus* aisladas de queso Pecorino di Farindola asimilaban la lactosa. También Pereira Andrade *et al.* [22] encontraron que *K. lactis*, *T. delbrueckii* y *C. intermedia* aisladas de quesos Canastra metabolizaban la lactosa.

Estos datos son importantes desde el punto de vista de la caracterización tecnológica, ya que permitieron determinar la capacidad de las levaduras para metabolizar galactosa y ácido láctico, cuando estos compuestos comienzan a

producirse en distintas etapas de la elaboración del queso, así como también de la lactosa remanente no metabolizada por las bacterias lácticas del fermento. Hay que tener en cuenta que altas concentraciones de estos compuestos podrían llegar a inhibir el crecimiento de las levaduras, si las cepas no son previamente seleccionadas de modo adecuado. Con respecto a la capacidad de metabolización de galactosa, este dato es sumamente importante, ya que algunas especies de bacterias lácticas no la metabolizan y pueden quedar cantidades variables entre 1 y 3% en la cuajada durante el proceso de maduración [25,26].

5. Degradación de aminoácidos a amoníaco. En la tabla

Tabla 1. Capacidad degradativa de los aislados de levaduras procedentes de la leche frente a distintos aminoácidos, expresada como porcentaje del total de cepas aisladas de cada especie.

Especie	Aminoácido degradado (%)			
	L-leucina	L-valina	Lisina	Treonina
<i>Candida famata</i>	80	90	100	100
<i>Candida sphaerica</i>	100	100	100	100
<i>Candida edax</i>	100	100	100	100
<i>Candida albicans</i>	50	100	100	100
<i>Candida curvata</i>	100	100	100	100
<i>Candida fennica</i>	100	100	100	100
<i>Cryptococcus laurentii</i>	90	80	100	100
<i>Cryptococcus albidus</i> var. <i>albidus</i>	66,7	66,7	83,3	100
<i>Pichia stipitis</i>	100	100	100	100
<i>Pichia scolytii</i>	0	100	100	100
<i>Brettanomyces clausenii</i>	66,7	66,7	100	100

100% corresponde a: 10 cepas de *C. famata*; 4 de *C. sphaerica*; 2 de *C. edax*; 4 de *C. albicans*; 2 de *C. curvata* y de *C. fennica*; 10 de *C. laurentii*; 6 de *C. albidus* var. *albidus*; 3 de *P. stipitis*; 2 de *P. scolytii*; 3 de *B. clausenii*.

1 se detallan los resultados correspondientes a los aislados obtenidos de las muestras de leche cruda. Ocho aislados pertenecientes a los géneros *Candida*, *Cryptococcus*, *Pichia* y *Brettanomyces* no degradaron L-leucina; 6 ubicados en los géneros *Candida*, *Cryptococcus* y *Brettanomyces* no degradaron L-valina, y uno identificado como *C. albidus* var. *albidus* no degradó lisina. Los demás aislados provenientes de leche, así como de leche-fermentos, suero-fermentos, cuajadas y quesos, tuvieron una excelente capacidad de degradación de todos los aminoácidos estudiados.

Estos resultados mostraron coincidencia con los obtenidos por Seiler y Busse [4] en lo que respecta a la capacidad de metabolizar aminoácidos por representantes de *Candida*, *Debaryomyces*, *Pichia* y *Cryptococcus*. Según Alais [27], las propiedades de las proteínas de la leche dependen de las proporciones de aminoácidos pertenecientes a diferentes categorías. Por ejemplo, cuanto más numerosos son los aminoácidos neutros o no polares (triptófano y metionina), menos soluble es la proteína, ya que las cadenas no polares permiten interacciones que intervienen en la estructura espacial. También hay aminoácidos que llevan grupos polares (grupos ionizables carboxilo y amino) que influyen en el carácter ácido o básico y en el punto isoeléctrico de la proteína; los grupos hidroxilo no se ionizan y constituyen factores de solubilidad. Los aminoácidos poco solubles (cisteína, leucina, isoleucina, tirosina) pueden formar cristales o depósitos tras la hidrólisis de las proteínas, si su concentración es suficientemente grande. De esta manera se forman gránulos de leucina y de isoleucina en ciertos quesos y cristales de tirosina en determinados cuajos alterados. Por lo mencionado anteriormente, es importante el conocimiento de la degradación microbiana de los aminoácidos presentes en la leche, a fin de evitar problemas de calidad en los productos finales y en la salud de los consumidores.

Esto pone en evidencia la importancia de esta característica como paso previo a la selección de cepas de levaduras para integrar fermentos, dado que muchas de ellas pueden utilizar los aminoácidos en altas concentraciones como fuente nitrogenada, aún en presencia de otra fuente nitrogenada orgánica. Esta propiedad debe ser considerada bajo dos puntos de vista diferentes: en primer lugar, la formación de amoníaco que, en concentraciones adecuadas, contribuirá al logro de características sensoriales propias de ciertos tipos de quesos; en segundo lugar, la eliminación de aminoácidos de la cuajada puede dificultar el desarrollo de bacterias lácticas, que debido a su escasa actividad proteolítica, muchas veces deben satisfacer sus exigencias metabólicas a partir de aminoácidos libres para poder multiplicarse adecuadamente.

Como conclusión, es importante destacar la diversidad de géneros y especies integrantes de la biota de levaduras presentes en las materias primas y productos lácteos ensayados, así como la variabilidad de sus propiedades bioquímicas de interés tecnológico. Esta variabilidad se ha comprobado no sólo entre especies sino también en algunos casos, aún entre cepas. Por lo tanto, y teniendo en cuenta la importancia que tiene la metabolización de grasas, proteínas,

aminas biógenas, azúcares y aminoácidos, se puede afirmar que es indispensable contar con la participación de las especies más significativas detectadas en esta investigación, como integrantes de la biota de levaduras de las dos variedades queseras estudiadas. De este modo, a través de sus actividades metabólicas de interés tecnológico, ejercidas durante el proceso de maduración, se podrán obtener productos finales de buena calidad, inocuos y con características sensoriales típicas. Contando con el apoyo de estos estudios, se podrán diseñar fermentos secundarios constituidos por las cepas seleccionadas de levaduras que más se adecuen a la obtención de las características propias de la variedad quesera que se pretenda producir. Estos fermentos secundarios generarán una transformación de la cuajada, durante el proceso de maduración, que permitirá obtener productos finales con características sensoriales óptimas para mantener su tipicidad.

Agradecimientos

El presente trabajo ha sido llevado a cabo con fondos provenientes de un proyecto de investigación perteneciente a la Convocatoria 2011 del instrumento “Curso de Acción para la Investigación y el Desarrollo” (CAI+D), de la Universidad Nacional del Litoral.

Al Instituto Nacional de Lactología Industrial INLAIN (FIQ-UNL – CONICET) por la provisión de los materiales a partir de los cuales se efectuaron los aislamientos.

Referencias

1. Montel MC, Buchin S, Mallet A, Delbes-Paus C, Vuitton DA, Desmases N, Berthier F. Traditional cheeses: rich and diverse microbiota with associated benefits. *Int J Food Microbiol.* 2014; 177:136-54.
2. Robinson RK. Microbiología lactológica. Volumen I. Microbiología de la leche. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S.A.; 1987.
3. Robinson RK. Microbiología lactológica. Volumen II. Microbiología de los productos lácteos. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S.A.; 1987.
4. Seiler H, Busse M. The yeasts of cheese brines. *Int J Food Microbiol.* 1990; 11:289-304.
5. Corbo MR, Lanciotti R, Sinigaglia M. Occurrence and characterization of yeasts isolated from milks and dairy products of Apulia region. *Int J Food Microbiol.* 2001; 69:147-52.
6. Capece A, Romano P. “Pecorino di Filiano” cheese as a selective habitat for the yeast species, *Debaryomyces hansenii*. *Int J Food Microbiol.* 2009; 132:180-4.
7. Binetti A, Carrasco M, Reinheimer J, Suárez V. Yeasts from autochthonal cheese starters: technological and functional properties. *J App Microbiol.* 2013; 115:434-44.
8. Kreger-van Rij NJW. The yeast, a taxonomic study. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Science Publishers; 1984.

9. Barnett JA, Payne RW, Yarrow D. Yeasts: characteristics and identification. Third Edition. Cambridge, United Kingdom: Cambridge University Press; 2000.
10. Marshall RT, editor. Standard methods for the examination of dairy products. 16th edition. Washington, USA: American Public Health Association APHA; 1992.
11. Vanderzant C, Splittstoesser DF. Compendium of methods for the microbiological examination of food. Third edition. Washington, USA: American Public Health Association APHA; 1992.
12. Besançon X, Smet C, Chabaliér C, Rivemale M, Reverbel JP, Ratomahenina R, Galzy P. Study of surface yeast flora of Roquefort cheese. *Int J Food Microbiol.* 1992; 17:9-18.
13. Carrasco M, Moragues L, Vignatti C, Scarinci H, Simonetta A. Characterization and technological aspects of yeasts isolated from raw milk and different types of cheeses produced in Argentina. *Aust J Dairy Technol.* 2006; 61:21-5.
14. Baraggio NG, Carrasco MS, Simonetta AC. Aislamiento de levaduras a partir de leche y productos lácteos. Determinación de sus características tecnológicas de interés caseario. *Rev Argent Lactol.* 2007/08; 25:19-31.
15. Atanassova MR, Fernández-Otero C, Rodríguez-Alonso P, Fernández-No IC, Garabal JI, Centeno JA. Characterization of yeasts isolated from artisanal short-ripened cows' cheeses produced in Galicia (NW Spain). *Food Microbiol.* 2016; 53:172-81.
16. Tofalo R, Fasoli G, Schirone M, Perpetuini G, Pepe A, Corsetti A, Suzzi G. The predominance, biodiversity and biotechnological properties of *Kluyveromyces marxianus* in the production of Pecorino di Farindola cheese. *Int J Food Microbiol.* 2014; 187:41-9.
17. Ozturkoglu-Budak S, Wiebenga A, Bron PA, de Vries RP. Protease and lipase activities of fungal and bacterial strains derived from an artisanal raw ewe's milk cheese. *Int J Food Microbiol.* 2016; 237:17-27.
18. Golić N, Čadež N, Terzić-Vidojević A, Šuranská H, Beganović J, Lozo J *et al.* Evaluation of lactic acid bacteria and yeast diversity in traditional white pickled and fresh soft cheeses from the mountain regions of Serbia and lowland regions of Croatia. *Int J Food Microbiol.* 2013; 166:294-300.
19. Cardoso VM, Borelli BM, Lara CA, Soares MA, Pataro C, Bodevan EC, Rosa CA. The influence of seasons and ripening time on yeast communities of a traditional Brazilian cheese. *Food Res Int.* 2015; 69:331-40.
20. Banjara N, Suhr MJ, Hallen-Adams HE. Diversity of yeast and mold species from a variety of cheese types. *Curr Microbiol.* 2015; 70:792-800.
21. Ceugniz A, Drider D, Jacques P, Coucheney F. Yeast diversity in a traditional French cheese "Tommed' orchies" reveals infrequent and frequent species with associated benefits. *Food Microbiol.* 2015; 52:177-84.
22. Pereira Andrade R, Naves Melo C, Genisheva Z, Freitas Schwan R, Ferreira Duarte W. Yeasts from Canastra cheese production process: isolation and evaluation of their potential for cheese whey fermentation. *Food Res Int.* 2017; 91:72-9.
23. Gkatzionis K, Yunita D, Linforth RST, Dickinson M, Dodd CER. Diversity and activities of yeasts from different parts of a Stilton cheese. *Int J Food Microbiol.* 2014; 177:109-16.
24. Adis E, Fleet GH, Cox JM, Kolak D, Leung T. The growth properties and interactions of yeasts and bacteria associated with the maturation of Camembert and blue-veined cheeses. *Int J Food Microbiol.* 2001; 69:25-36.
25. Beresford TP, Fitzimons NA, Brennan NL, Cogar TM. Recent advanced in cheese microbiology. *Int Dairy J.* 2001; 11:259-74.
26. Giraffa G. Functionality of enterococci in dairy products. *Int J Food Microbiol.* 2003; 88:215-22.
27. Alais C. Ciencia de la leche. Principios de técnica lechera. Barcelona, España: Editorial Reverté, S.A.; 1985.