



1º SEMINÁRIO LACTIES

Anfiteatro 1 - ESAC
30 de novembro de 2018



**Potencial de microbiota autóctone
de queijos portugueses com DOP
como culturas de arranque -
sinergias com GO SerpaFlora**

Nuno Alvarenga, Teresa Santos, Pedro Louro





Parceria

Parceiros

- Organizações do sistema científico e tecnológico:



CATÓLICA
UNIVERSIDADE CATÓLICA PORTUGUESA | PORTO
Escola Superior de Biotecnologia

- Organizações técnicas de apoio ao sector:



ACOS AGRICULTORES
DO SUL



CERTIS
Controlo e Certificação, Lda

- Organizações do sector agrícola e primeira transformação:



Queijaria
Pacheco



**Queijaria
Charrua**
Sabor do Alentejo

Nuno
Cavaco

- Organizações que colaboram na iniciativa



inovação · credibilidade · rigor





Parceria



Nuno Alvarenga
Maria Teresa Santos
João Dias
Olga Amaral
Maria João Carvalho
Antónia Macedo
Manuela Costa
Célia Lampreia
António Miguel Floro



Pedro Louro
Maria João Trigo



CATÓLICA
UNIVERSIDADE CATÓLICA PORTUGUESA | PORTO
Escola Superior de Biotecnologia

Manuela Pintado
Ana Martins
José Couto
Helena Rodrigues



Maria Luisa Castro e Brito
Claudino Matos



João Matos
Joaquim Marçal
Luisa Vidal da Silva
Dominika Lesniak



José Guilherme
Gabriela Prieto

Queijaria Pacheco

Filomena Soudo
Vasco Pacheco
Ana Pires



Hortense Candeias
Nuno Cavaco

Queijaria Charrua

Joaquim Charrua
Rafael Charrua



Esmeraldo Miguel
Tânia Martins
Patrícia Dinís

Nuno Cavaco

Patrícia Guerreiro
Nuno Cavaco



Fátima Duarte



Conceição Egas



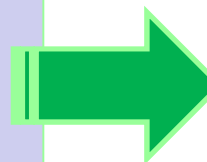
Marta Mendes
Bruno Caldeira
Maria do Carmo Aragão



Identificação do problema

Problemas de fundo do sector:

- Falta de organização;
- Práticas inovadoras na fileira dos pequenos ruminantes, salvo raras exceções, são limitadas;
- Evolução da produção preocupante;
- Fraca qualidade do leite (em certos períodos do ano).



Devem ser traçadas estratégias a longo prazo para resolver estas questões



Objectivos

Caracterizar a microbiota do queijo Serpa e estabelecer as estirpes mais influentes no processo de produção e cura;

Desenho de um Inóculo-VALOR – adaptado à tecnologia de produção – com vantagens sob o ponto de vista tecnológico, de segurança alimentar, nutricional / probiótico ou no realce de determinadas características sensoriais.



Objectivos





Objectivos

Inóculo-VALOR - Constituído por estirpes autóctones bem adaptadas à tecnologia de fabrico tradicional

Introdução de queijos (não DOP) no mercado - elaborados com leite cru de baixa qualidade e adição de inóculo - VALOR

Introdução de queijos (não DOP) no mercado de exportação - elaborados com leite pasteurizado e adição de inóculo - VALOR

Orientar os leites de qualidade excecional para a produção de queijo Serpa-DOP



Objectivos

Os inóculos-VALOR permitem aumentar a competitividade do sector:

Valorização da matéria-prima de qualidade inferior e inadequada para a produção de queijo com DOP;

Consolidação da **segurança alimentar** dos produtos permitindo alargar o mercado de exportação;

Diversificação da oferta pelo **aumento do portefólio** de produtos (elaboração de produtos com características sensoriais distintas ou enaltecendo a vertente probiótica);



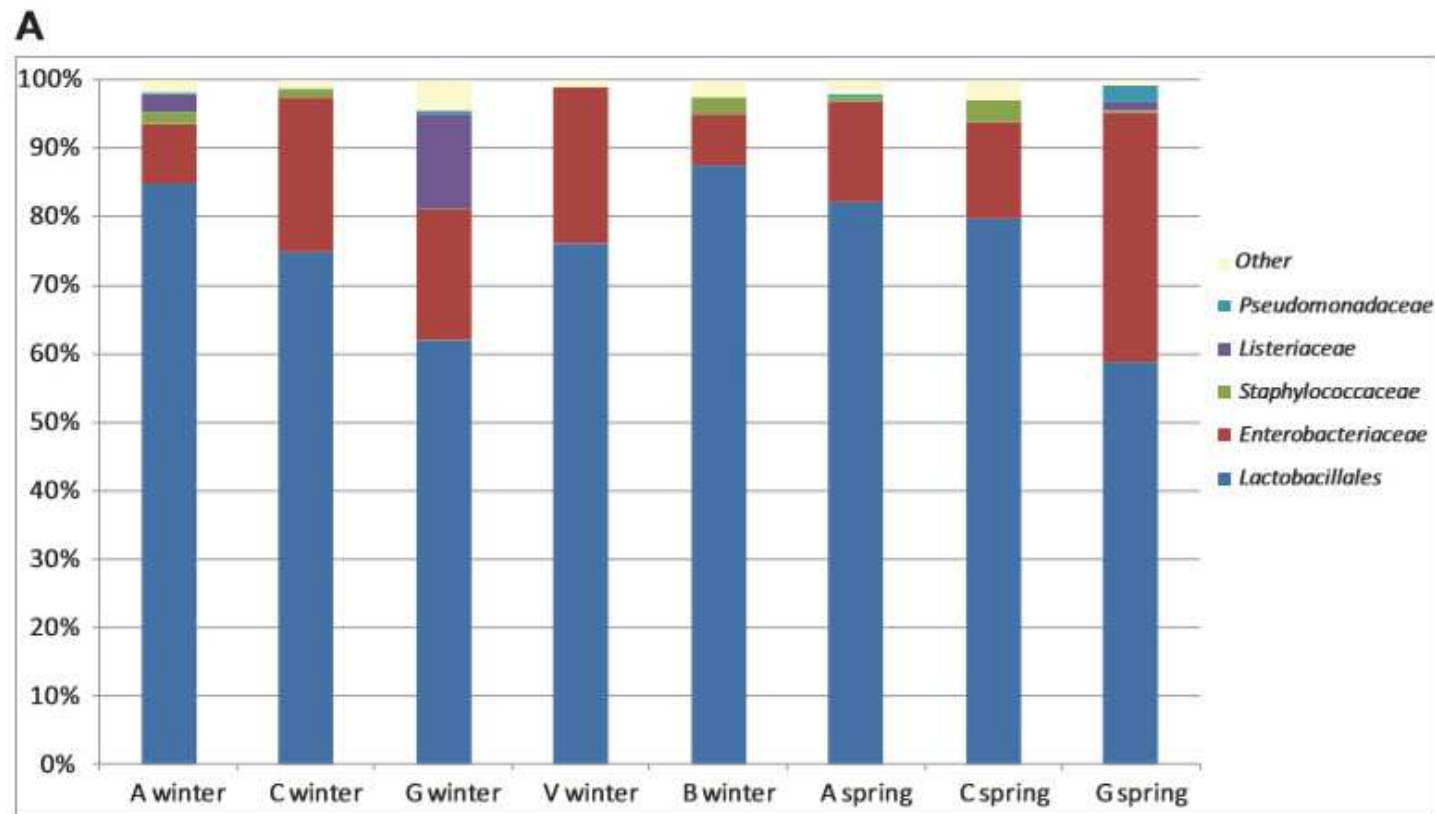
Fases de programação

Fases de programação:

- 1 - Avaliação sumária da qualidade do leite e queijo;
- 2 - Monitorização das propriedades físico-químicas e microbiológicas durante cura de Queijo Serpa;
- 3 - Isolamento e caracterização de estirpes representativas da microbiota com recurso a métodos culturais e moleculares;
- 4 - Seleção das Estirpes relacionadas com atributos positivos;
- 5 - Desenho de inóculos-VALOR com base na avaliação do desempenho dos inóculos-TESTE;
- 6 - Produção e conservação dos inóculos-VALOR.



Primeiros resultados

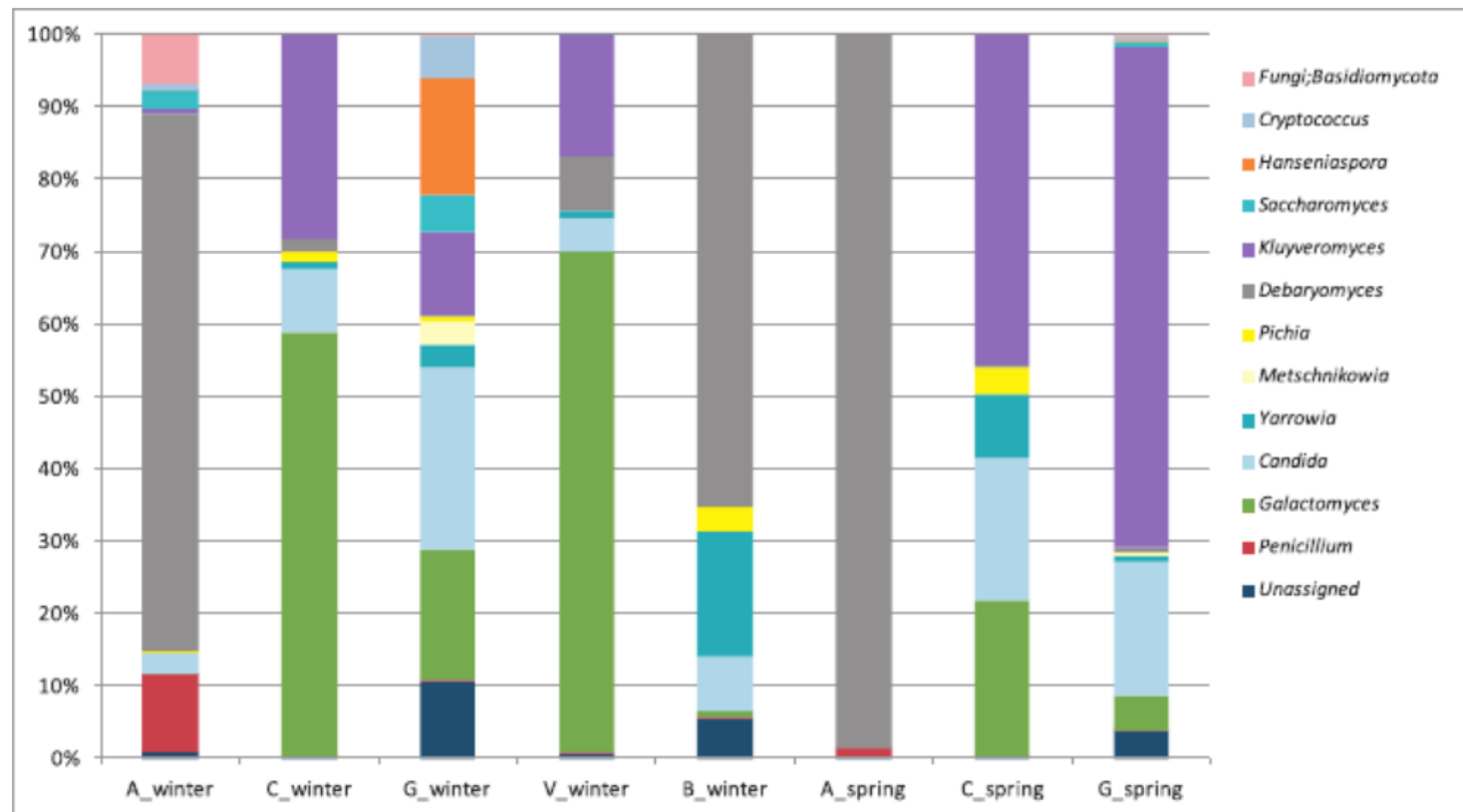


Bactérias ao nível da família



Primeiros resultados

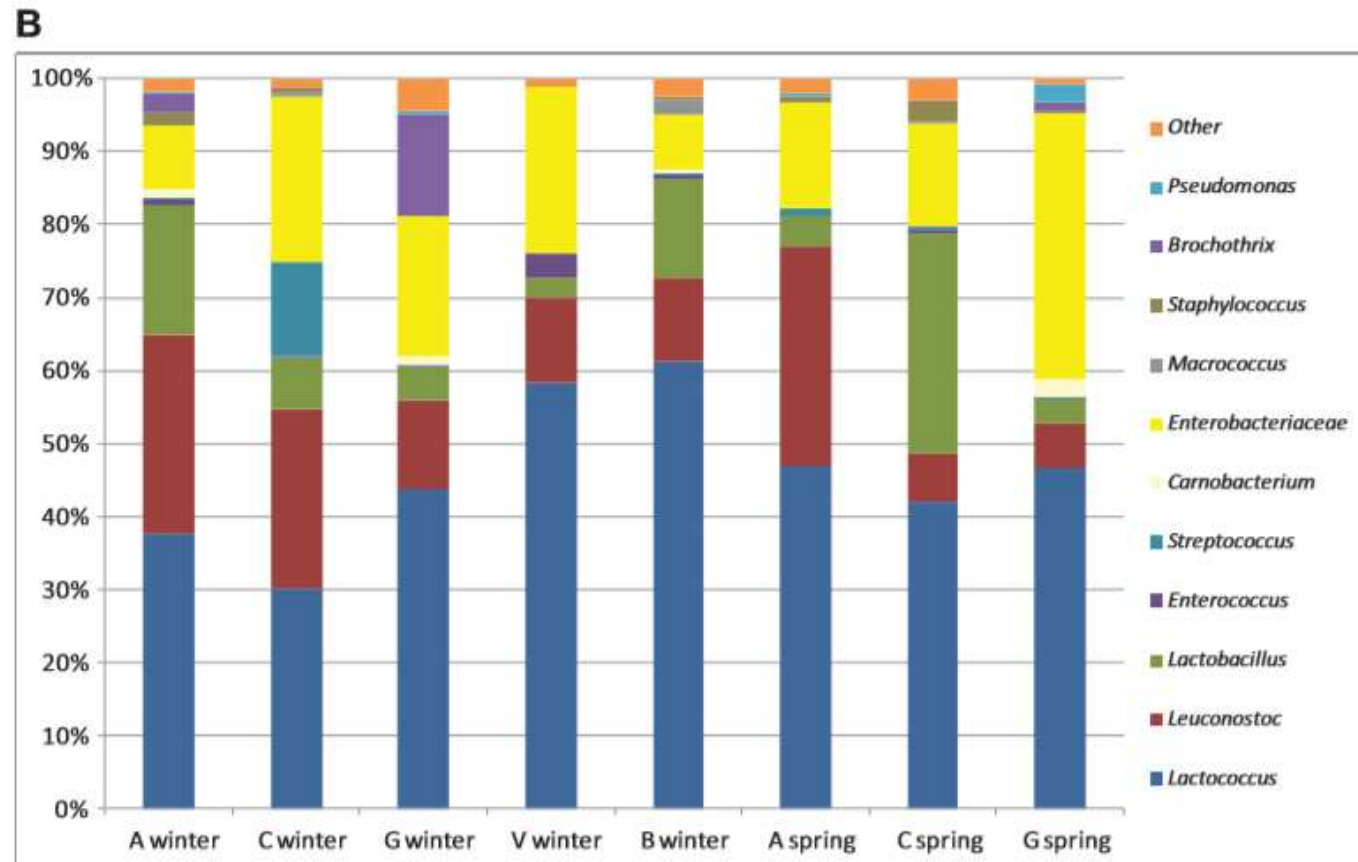
A)



Leveduras ao nível da família



Primeiros resultados

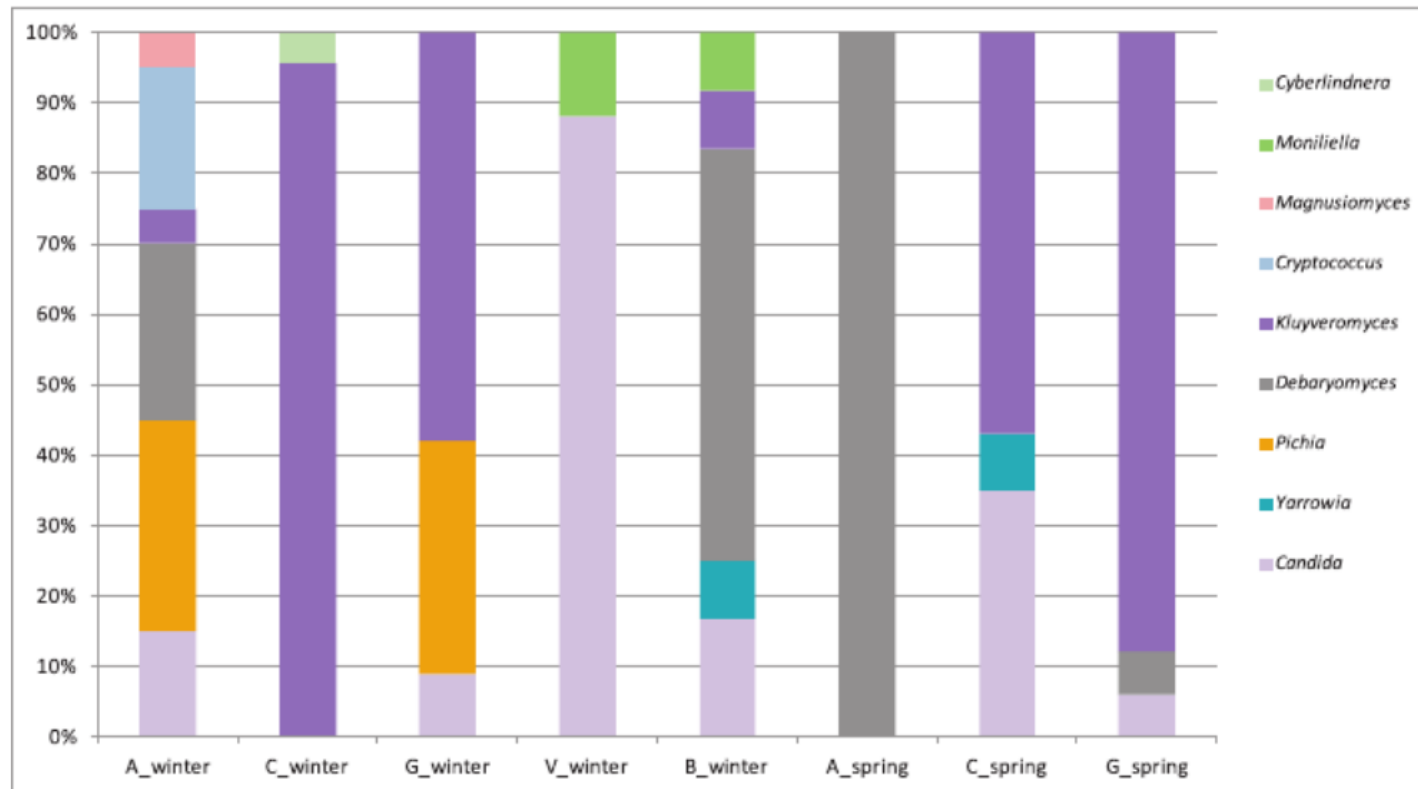


Bactérias ao nível do género



Primeiros resultados

B)



Leveduras o nível do género



Primeiros resultados

Identification Sequencing of 16S rRNA gene Species-Accession no. (% identity)	Industry							
	Winter				Spring			
	PDO		Non-PDO		PDO			
	A	C	G	V	B	A	C	G
	% of isolates on PCA*							
<i>Lh. paracasei</i> – CP013921.1/ <i>Lh. casei</i> – /KT897918.1 (100%)	26.6	71.4	61.8	30.1		47.2	35.4	32.5
<i>Lh. plantarum</i> – KT946604.1 (100%)	26.6		12.4		16.7			32.5
<i>Lh. brevis</i> – KP793171.1 (100%)				15.1	50.2		6.4	
<i>L. mesenteroides</i> – KP742818.1 (99%)						5.9	30.1	8.1
<i>E. faecalis</i> – KU321632.1 (100%)	17.8	5.1			8.3	6	5.9	
<i>E. faecium</i> – CP014449.1 (100%)						17.8		
<i>E. hinc</i> – LC122277.1 (100%)				15.1				
<i>Hafnia alvei</i> – KT767875.1 (100%)	29.2	23.6	25.9	21.7	13.5	23.1	23.1	26.8
<i>Escherichia coli</i> – CP015076.1 (99%)				18.1	11.3			
	% of isolates on MRS							
<i>Lh. paracasei</i> – CP013921.1/ <i>Lh. casei</i> – /KT897918.1 (100%)	37.5	100	71.4	40		61.3	50	40
<i>Lh. plantarum</i> – KT946604.1 (100%)	37.5		14.3		22.2			40
<i>Lh. pentosus</i> – KU945826.1 (100%)			14.3					
<i>Lh. curvatus</i> – KT763326.1 (100%)								10
<i>Lh. brevis</i> – KP793171.1 (100%)				20	66.7		8.3	
<i>L. mesenteroides</i> – KP742818.1 (99%)						7.7	41.7	10
<i>E. faecalis</i> – KU321632.1 (100%)	12.5				11.1	7.7		
<i>E. faecium</i> – CP014449.1 (100%)	12.5			20		23.2		
<i>E. hinc</i> – LC122277.1 (99%)				20				
	% of isolates on M17							
<i>Lh. paracasei</i> – CP013921.1 / <i>Lh. casei</i> – /KT897918.1 (100%)						50	14.3	
<i>Lh. plantarum</i> – LC125266.1 (100%)							14.3	
<i>Lh. brevis</i> – KT757228.1 (100%)	25							
<i>L. mesenteroides</i> – KP742818.1 (99%)			100			25	57.1	100
<i>Lc. lactis</i> – KT757263.1 (100%)							14.3	
<i>E. faecalis</i> – KU321632.1 (100%)	75	50		20	50	25		
<i>E. faecium</i> – CP014449.1 (100%)				40				
<i>E. hinc</i> – LC122277.1 (100%)		50		40	50			
	% of isolates on MSE							
<i>L. mesenteroides</i> - KP742818.1 (99%)	100	100	100	100	100	100	100	100
	% of isolates on SB							
<i>E. faecalis</i> – KU321632.1 (100%)	87.5	71.4			100	87.5	100	57.2
<i>E. faecium</i> – CP014449.1 (100%)		14.3						42.8
<i>E. hinc</i> – LC122277.1 (100%)	12.5	14.3	16.7	75				

*PCA: Plate count agar; MRS: de Man, Rogosa and Sharpe Agar; M17: M17 agar; MSE: Mayeux, Sandine and Elliker agar; SB: Slanetz and Bartley agar.

Bactérias ao nível da espécie



Primeiros resultados

Season	Winter					
	Industries	PDO			Non PDO	
		A	C	G	V	B
Identified species	<i>Debaryomyces hansenii</i>	25.0				58.4
	<i>Kluyveromyces marxianus</i>		71.5	32.0		8.3
	<i>Kluyveromyces lactis</i>	5.0	24.0	26.0		
	<i>Pichia fermentans</i>	15.0		33.0		
	<i>Pichia kudriavzevii</i>	15.0				
	<i>Candida pararugosa</i>	15.0				
	<i>Candida cabralensis</i>					16.7
	<i>Candida zeylanoides</i>				63.0	
	<i>Candida parapsilosis</i>			9.0	25.0	
	<i>Yarrowia lipolytica</i>					8.3
	<i>Cryptococcus oirensis</i>	20.0				
	<i>Magnusiomyces capitatus</i>	5.0				
	<i>Moniliella suaveolens</i>				12.0	8.3
	<i>Cyberlindnera jadinii</i>		4.5			

Leveduras ao nível da espécie



Primeiros resultados

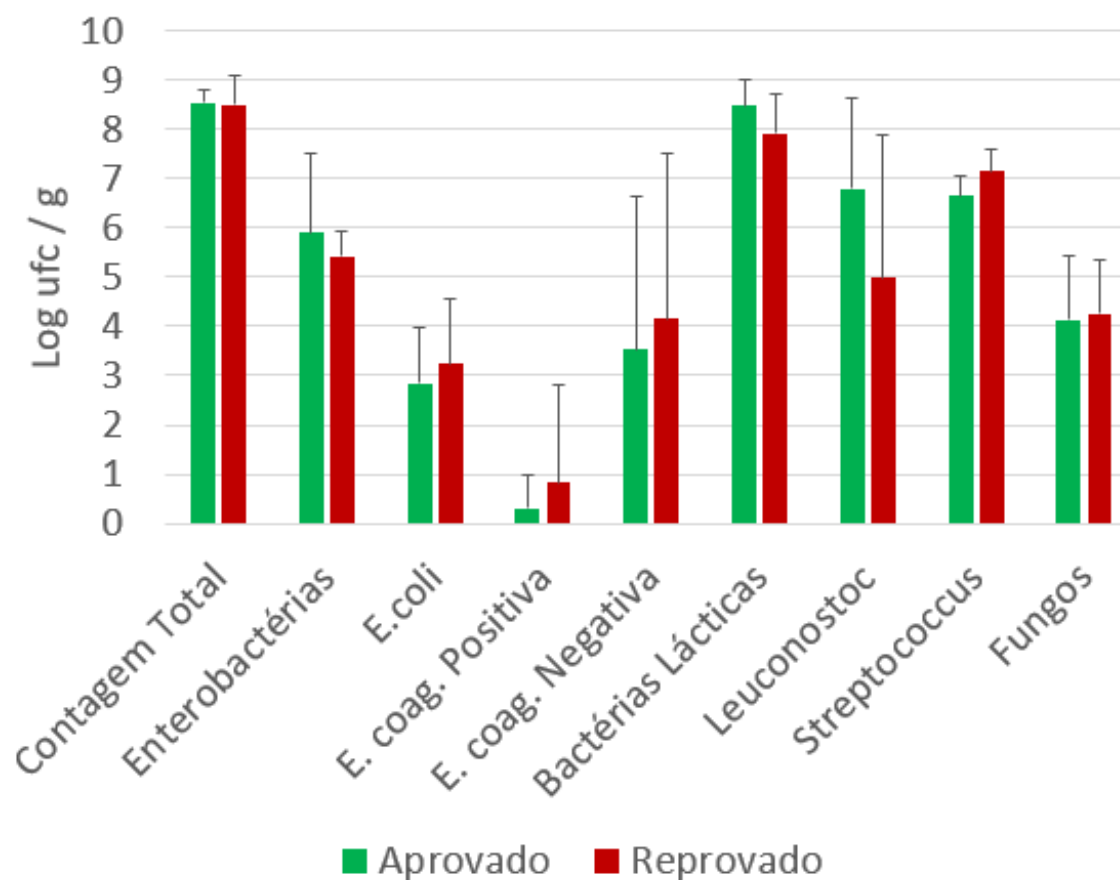
Season		Spring		
		PDO		
Industries		A	C	G
		Identified species	<i>Debaryomyces hansenii</i>	100.0
<i>Kluyveromyces marxianus</i>			28.5	
<i>Kluyveromyces lactis</i>			28.5	88.0
<i>Pichia fermentans</i>				
<i>Pichia kudriavzevii</i>				
<i>Candida pararugosa</i>				
<i>Candida cabralensis</i>				
<i>Candida zeylanoides</i>			35.0	6.0
<i>Candida parapsilosis</i>				
<i>Yarrowia lipolytica</i>			8.0	
<i>Cryptococcus ozeirensis</i>				
<i>Magnusiomyces capitatus</i>				
<i>Moniliella suaveolens</i>				
<i>Cyberlindnera jadinii</i>				

Bactérias ao nível da espécie



Primeiros resultados

Análise Microbiológica





Obrigado