



EVALUACIÓN DE LA DIVERSIDAD DE BACTERIAS LÁCTICAS Y LEVADURAS EN QUESOS FRESCOS DE CABRA DE LA QUEBRADA DE HUMAHUACA.

ANCASI, E. G¹; MALDONADO, S ¹.; OLISZEWSKI, R.²

¹Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Jujuy. Alberdi 47- (4600). San Salvador de Jujuy. Jujuy. Argentina. Email: gustyancasi@hotmail.com.

²CONICET - Fac. Agronomía y Zootecnia. (4000). Universidad Nacional de Tucumán. Tucumán. Argentina.

1. Resumen

Los quesos frescos de cabra artesanales de la Quebrada de Humahuaca son elaborados con leche cruda, cuya maduración genera sabores, aromas y texturas característicos de la región.

Los objetivos de este estudio fueron identificar y caracterizar bacterias lácticas (BAL) y levaduras nativas, aisladas de quesos frescos de esta zona productora. De un total de 36 muestras sembradas en agar Sabouraud, agar MRS y M17, se obtuvieron 128 levaduras y 39 lactobacilos, los que fueron identificados fenotípicamente y evaluadas las siguientes propiedades tecnológicas: pH a la coagulación, tasa de acidificación, proteólisis en agar leche, lipólisis en agar triacetina, producción de acetoína en leche reconstituida y asimilación del citrato en agar citrato. *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Lb. casei subsp. pseudoplanarum*, *Lb. plantarum var. arabinosus*, *Lb. plantarum var. plantarum*, *Lb. casei subsp. rhamnosus*, *Lb. acidophilus*, *Lb. helveticus*, *Lb. fermentum*, *Lb. brevis var. brevis*, *Lactococcus sp.* y *Enterococcus sp.* fueron las bacterias lácticas identificadas. Del total de los aislamientos, 41,6% coagularon la leche en 10 horas y 33% en 5 horas. *Lb. helveticus* coaguló la leche a pH de 5,40 en 5 horas, hasta alcanzar un valor final de 4,16 en 24 h, mientras que *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus* y *Lb. fermentum* iniciaron la coagulación en 5 horas, con valores de pH iniciales de 4,81 y 4,92 hasta valores finales de 4,19 y 4,21 respectivamente. *Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Lb. plantarum var. arabinosus*, *Lb. fermentum*, *Lb. casei subsp. rhamnosus*, *Lb. casei subsp. pseudoplanarum*, *Lb. brevis var. brevis*, en orden descendente, demostraron tener capacidad acidificante. *Lb. fermentum* y *Lb. casei subsp. pseudoplanarum* desarrollaron actividad proteolítica y sólo *Lb. plantarum var. plantarum* demostró tener actividad lipolítica. Las levaduras aisladas fueron *Debaryomyces hansenii*, *Zygosaccharomyces rouxii*, *Kluyveromyces lactis*, *Wickerbamiela domerquiaie*,



Dekkera bruxellensis, *Candida valdiviana*, *Candida novakii*, *Dekkera bruxellensis*, *Candida versatilis*, *Candida magnoliae*, *Candida albicans*, *Pichia anómala*, *Dekkera anómala* y *Rodotorula sp.* Cepas de *D. hansenii*, *C. magnoliae*, *Z. rouxii*, *C. versatilis* y *K. lactis* tuvieron actividad proteolítica y lipolítica, y una cepa de *W. domerquia* tuvo solamente actividad proteolítica. Algunas cepas de *K. lactis* produjeron acetoína y *D. bruxellensis* y *C. versatilis* metabolizaron el citrato, hidrolizaron la caseína y tuvieron actividad lipolítica.

Los resultados obtenidos en este estudio muestran que la composición de las poblaciones de BAL y levadura en quesos artesanales es específica de la región. Los conocimientos adquiridos en este estudio podrían ser utilizados para la obtención de cultivos iniciadores con cepas de BAL y levaduras específicas de la región, destinados a la producción de quesos frescos con origen geográfico específico.

Palabras clave: *quesos frescos de cabra, capacidad acidificante, actividad proteolítica, actividad lipolítica.*

EVALUATION OF THE DIVERSITY OF LACTIC BACTERIA AND YEAST IN FRESH GOAT CHEESE OF THE QUEBRADA DE HUMAHUACA.

Abstract

Fresh cheeses artisanal goat of the Quebrada de Humahuaca are made with raw milk, the maturation produces flavors, aromas and textures characteristic of the region.

The objectives of this study were to identify and characterize lactic acid bacteria (LAB) and native yeasts isolated from fresh cheeses productive zone. A total of 36 samples seeded on agar Sabouraud agar MRS and M17, 128 yeast and 39 lactobacilli were obtained, which were phenotypically identified and evaluated the following technological properties: pH of the coagulation rate of acidification, proteolysis agar milk, lipolysis in triacetin agar, acetoin production in reconstituted milk and assimilation of citrate in citrate agar. *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lb. casei* subsp. *pseudopantarum*, *Lb. plantarum* var. *arabinosus*, *Lb. plantarum* var. *plantarum*, *Lb. casei* subsp. *ramnosus*, *Lb. acidophilus*, *Lb. helveticus*, *Lb. fermentum*, *Lb. brevis* var. *brevis*, *Lactococcus sp.* and *Enterococcus sp.* lactic acid bacteria were identified. Of all the isolates, 41.6% coagulated milk in 10 hours and 33% within 5 hours. *Lb. helveticus* coagulated milk to pH 5.40 in 5 hours, to a final value of 4.16 at 24 h, while *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Lb. fermentum*



initiated coagulation in 5 hours, with initial pH values of 4.81 and 4.92 up to final values of 4.19 and 4.21 respectively. *Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lb. plantarum* var. *arabinosus*, *Lb. fermentum*, *Lb. casei* subsp. *rhamnsosus*, *Lb. casei* subsp. *pseudopiantarum*, *Lb. brevis* var. *brevis*, in descending order, they were shown to have acidifying capacity. *Lb. fermentum* and *Lb. casei* subsp. *pseudopiantarum* developed proteolytic activity and only *Lb. plantarum* var. *plantarum* demonstrated lipolytic activity. The yeast isolates were *Debaryomyces hansenii*, *Zygosaccharomyces rouxii*, *Kluyveromyces lactis*, *Wickerbamiela domerquiaie*, *Dekkera bruxellensis*, *valdiviana Candida*, *Candida novakii*, *Dekkera bruxellensis*, *Candida versatilis*, *magnoliae Candida*, *Candida albicans*, *Pichia anomala*, *Dekkera anomala* and *Rodotorula* sp. *D. hansenii* strains, *C. magnoliae*, *Z. rouxii*, *C. versatilis* and *K. lactis* had proteolytic and lipolytic activity, and a strain of *W. domerquiaie* had only proteolytic activity. Some strains of *K. lactis* produced acetoin and *D. bruxellensis* and *C. versatilis* metabolize citrate, they hydrolyzed casein and had lipolytic activity.

The results obtained in this study show that the composition of the populations of BAL and baking artisan cheeses is specific to the region. The knowledge gained from this study could be used for the production of starter cultures with specific strains of LAB and yeasts in the region for the production of fresh cheeses with specific geographical origin.

Keywords: *fresh goat cheese, acidifying capacity, proteolytic activity, lipolytic activity.*

*Para citar este artículo: Ancasi EG et al.. EVALUACIÓN DE LA DIVERSIDAD DE BACTERIAS LÁCTICAS Y LEVADURAS EN QUESOS FRESCOS DE CABRA DE LA QUEBRADA DE HUMAHUACA. Bistua.2015.13(1):03-15

Recibido: Septiembre 10 de 2014 Aceptado: Febrero 08 de 2015

Ancasi EG et al.. EVALUACIÓN DE LA DIVERSIDAD DE BACTERIAS LÁCTICAS Y LEVADURAS EN QUESOS FRESCOS DE CABRA DE LA QUEBRADA DE HUMAHUACA. Bistua.2015.13 (1):03-15

Introducción

La Quebrada de Humahuaca, en la provincia de Jujuy, constituye una región geográfica con características propias del noroeste argentino, con una larga tradición en la producción regional de productos lácteos a través de fermentación de leche de cabra. En esta región los quesos frescos de origen artesanal, se fabrican sin el uso de cultivos iniciadores comerciales. Estos productos son elaborados con leche no pasteurizada y la composición del estárter natural depende únicamente de la microbiota presente en la leche cruda o del entorno local. Estos microorganismos son responsables del sabor, aroma y textura del queso, otorgándole características únicas al producto. Topisirovic y colaboradores (2006) informaron que las BAL aisladas de muestras de quesos autóctonos tienen un considerable potencial genético, metabólico y tecnológico a través de características como: buena coagulación de las proteínas de la leche, acidificación acelerada, producción de proteinasas, exopolisacáridos, precursores de aroma y sabor, así como las propiedades que promueven la salud. Las BAL dominantes están representadas por varias especies de lactobacilos: *Leuconostocs*,

enterococos, *Streptococcus thermophilus* y *Lactococcus lactis*.

Las especies de levaduras generalmente representan la microbiota secundaria en quesos y entre ellos *Kluyveromyces marxianus*, *Debaryomyces hansenii* y *Saccharomyces cerevisiae*, entre otras, son las predominantes (Chebenová-Turcovská et al., 2011).

Por otra parte, estudios recientes han indicado que levaduras de origen alimentario tales como *D. hansenii* y *Yarrowia lipolytica* podrían ser utilizadas como parte de los cultivos iniciadores para la manufactura de quesos, mejorando el desarrollo del sabor durante la maduración (Sørensen et al, 2011). En relación a lo anterior el objetivo de este estudio fue caracterizar bacterias lácticas (BAL) y levaduras nativas, aisladas de quesos frescos de esta zona productora, con miras al desarrollo de un cultivo iniciador que conserve las características de los quesos locales.

Materiales y Métodos

Toma de Muestra

Se tomaron 36 muestras de quesos de cabra de diferentes puntos de la Quebrada de Humahuaca de la Provincia de Jujuy, directamente de los productores. Las muestras se



7
trasladaron inmediatamente al laboratorio en un contenedor que permitió mantener la temperatura de refrigeración. En el laboratorio las muestras se conservaron a 4 °C por un tiempo no mayor a 1 día hasta su análisis.

Aislamiento e identificación de BAL

El aislamiento de las BAL a partir de los quesos se realizó siguiendo el método según TerzicVidojevic (2007). Para el análisis microbiológico se tomaron 25 g de cada muestra, se transfirió a 225 ml de solución estéril de citrato de sodio al 2% (w/v) y se homogeneizó manualmente durante 10 minutos. Se realizaron diluciones decimales y se sembraron en los medios apropiados para cada BAL: a) para lactobacilos, en agar MRS pH 5,5 e incubados a 30 °C y 45°C durante 72 h en condiciones de microaerofilia, b) para lactococos, sobre agar M17 pH 7,2 a 30 °C durante 72 h (Mannu et al., 2002). Se tomó un promedio de 24 colonias al azar por muestra, de las placas de agar MRS (30 °C y 45 °C) y agar M17, correspondientes a la dilución más alta a la que se produjo el crecimiento. La morfología de las células de todas las cepas de BAL se

determinó por microscopía y se consideraron aquellos bacilos y cocos Gram positivos y catalasa negativa para su posterior análisis tecnológico e identificación según metodología propuesta por Bergey (2000). Para una correcta conservación, los lactobacilos fueron almacenados en caldo MRS 30% de glicerol (v/v) a -20 °C (Herrero et al., 2003).

Aislamiento e identificación de levaduras

Para el aislamiento de levaduras se tomaron porciones de 25 g de cada queso, los cuales fueron homogenizados en 225 ml de solución estéril de citrato de sodio al 2% (w/v) durante 10 minutos. De las suspensiones se realizaron diluciones decimales (10⁻¹ a 10⁻⁶) con el mismo diluyente. De cada dilución se tomaron alícuotas de 100 µl y se esparcieron en agar Sabouraud (peptona de carne 10%, glucosa 40%, agar 20%) con cloranfenicol (0,01%). Las placas se incubaron por 5 días a 25 °C. Transcurrido el tiempo de crecimiento se tomaron colonias elegidas en base a su morfología (superficies lisas, rugosidad de bordes, consistencia, color, etc.), repicadas en caldo YPD (1% extracto de levadura, 2% de dextrosa y 2% de peptona) e incubadas 48 hs a 25°C,



8
para su posterior análisis tecnológico e identificación, según metodología propuesta por Barnett (2007). Para su correcta conservación las levaduras se preservaron en caldo YPD con 20% (v/v) de glicerol.

Caracterización fisiológica y tecnológica de los aislados

Las bacterias lácticas fueron pre cultivadas en caldo MRS a 30 °C durante 24 h, para obtener 106 ufc/ml, luego sometidas a las siguientes pruebas: pH a la coagulación (IDF, 1980), velocidad de acidificación expresadas como Δ pH/h según Medina (2001), capacidad lipolítica en agar triacetina y capacidad proteolítica en Agar leche descremada con la aparición de zonas transparentes alrededor de la colonia en ambos casos (Moulay et al., 2006). Los aislados de levaduras fueron cultivados en caldo YPD durante 24-48 hs a 25-28 °C y sometidos a las siguientes pruebas: producción de acetoína, inoculando al 0,1% tubos con 10 ml de leche descremada reconstituida estéril (10% P/V), incubadas a 25-28°C durante 24 horas (Mac Faddin, 1980); asimilación del citrato en agar citrato según Galeslod (1961); la actividad proteolítica extracelular y la actividad

lipolítica fue determinada según Kurtzman y Fell (2011).

Resultados y Discusión

Aislamiento e identificación de BAL y levaduras

La identificación de los aislamientos reveló la presencia de tres géneros: Enterococcus(41,82%), Lactobacillus (29,40) y Lactococcus (28,91), de los cuales se seleccionaron 39 cepas de lactobacilos. Se identificaron como bacilos Gram-positivos, catalasa negativa y se clasificaron en las siguientes especies: *Lb. delbrueckii* supesp. *bulgaricus* (5,13%), *Lb. plantarum* var. *arabinosus* (23,1%), *Lb. casei* subesp. *pseudopantarum* (12,8%), *Lb. casei* subesp. *rhamnosus* (17,9 %), *Lb. acidophilus* (23,1%), *Lb. helveticus* (5,13%), *Lb. fermentum* (10,3%) y *Lb. brevis* (2,6%). *Lb. plantarum* fue una de las especies predominantes en las identificaciones de bacilos, lo que concuerda con trabajos similares realizados en leche de cabra (Badis et al., 2004). Olarte y colaboradores (2000) demostraron la presencia de *Lb. plantarum* en otras variedades de queso de cabra. Mathara (2004) identificó a *Lb. plantarum*, *Lb. acidophilus*, *Lb. rhamnosus* y *Lb. fermentum* en productos lácteos fermentados y puso de manifiesto



9

que estas especies representan más del 60% de los lactobacilos aislados. Además, Medina (2001) demostró que el 8% de Lactobacilos aislados a partir de leche de oveja y queso en el norte de Argentina pertenecían a *Lb. acidophilus*. De las 128 cepas de levaduras, las especies encontradas en un mayor porcentaje fueron *Candida versatilis* (13,27%), *Candida etchellsii* (13,27%), *Pichia anómala* (11,50%), *Debaryomyces hansenii* (8,88%), entre otras. La frecuencia de las especies restantes estuvo entre 0,88 y 6,19%. Varios autores han demostrado que las levaduras prevalentes asociados típicamente con los quesos son *D. hansenii*, *K. marxianus*, *Yarrowia lipolytica* y varias especies de *Candida* (Boreli et al., 2006, Mehlomakulu, 2011).

Caracterización tecnológica de los aislados.

Tasa de acidificación y pH a la coagulación de BAL

Las pruebas de coagulación mostraron que el 100 % de las cepas aisladas coagularon la leche en menos a las 24 hs; 41,6 % dentro de las 10 horas y sólo el 33% dentro de las 5 horas. En orden descendente el valor de la velocidad de acidificación

de las cepas aisladas fue: *Lb. helveticus* (0,094), *Lb. delbrueckii* subesp. *bulgaricus* (0,093), *Lb. fermentum* (0,092), *Lb. plantarum* var. *arabinosus* (0,0921), *Lb. casei* subesp. *rhamnsosus* (0,091), *Lb. casei* subesp. *pseudopantarum* (0,085), *Lb. brevis* var. *brevis* (0,08). Este parámetro es considerado un factor fundamental en la elección de cepas iniciadoras, el que asegura que los quesos tengan un rápido descenso de pH y una adecuada degradación enzimática de la caseína (Oliszewski, 2006). La capacidad de acidificación, expresada como pH de la leche al momento de la coagulación, mostró que *Lb. helveticus* provocó un pH de 5,40 a las 5 horas, llegando a un pH final de 4,16 a las 24 hs; en tanto que *Lb. delbrueckii* subesp. *bulgaricus* y *Lb. fermentum* produjeron la coagulación de la leche a las 7 horas, con valores de pH de 4,81 y 4,92, obteniendo valores finales de pH de 4,19 y 4,21 respectivamente. Algunas de las especies estudiadas son similares a las obtenidas por Oliszewski (2006) y Cheriguene (2007).

Actividad proteolítica de BAL y levaduras

Entre las cepas que demostraron tener esta actividad se encuentran las siguientes: *Lb. delbrueckii* supesp.



10
bulgaricus (2 cepas), *Lb. casei* subesp. *pseudopantarum* (5 cepas), *Lb. plantarum* var. *arabinosus* (4 cepas), *Lb. casei* subesp. *ramnosus* (2 cepas), *Lb. acidophilus* (6 cepas), *Lb. helveticus* (1 cepa), *Lb. brevis* var. *brevis* (1 cepa) y *Lb. fermentum* (3 cepas). Sin embargo, se observaron diferencias en la eficiencia de la hidrólisis de la caseína, siendo *Lb. fermentum* (1 cepa) la que obtuvo una zona clara de 7 mm de diámetro, *Lb. casei* subesp. *pseudopantarum* (1 cepa) con 6,3 mm y *Lb. brevis* var. *brevis* (1 cepa) con 6,2 mm entre las cepas más relevantes. La actividad proteolítica de *Lb. casei* y *Lb. plantarum* concuerda con los resultados obtenidos por Herrero (2003). Settanni (2010) demostró que *Lb. brevis* y *Lb. plantarum*, dos especies clasificadas como NSLAB (Non Starter Lactic Acid Bacteria), con poca actividad proteolítica pueden poner en manifiesto el desarrollo de sabor en quesos. Entre las levaduras aisladas presentó mayor actividad proteolítica *Debaryomyces hansenii* (4 cepa; 5 mm) seguida por que *Wickerbamiella domerquiae* (1 cepa; 3,8 mm), *Zygosacharomyces rouxii* (2 cepas; 3,5 mm), *Cándida magnoliae* (2 cepas; 3 mm), *Pichia canadensis* (1 cepa; 2,5 mm) y *Kluyveromyces lactis*

(2 cepas; 2 mm). La actividad proteolítica de la especie *D. hansenii* es variable. Numerosos autores informaron la ausencia de esta especie (Welthagen and Vilijoen, 1998; Van den Tempel and Jakobsen, 2000), mientras que estudios recientes de Klein (2002) y Bintsis (2003), determinaron la actividad proteolítica intracelular en cepas aisladas de quesos.

Recientemente, se ha demostrado que algunas especies de levaduras, tales como *D. hansenii* y *K.lactis*, con frecuencia aisladas de quesos, pueden formar péptidos biológicamente activos (Chaves-López et al., 2012) o con actividades antioxidantes y antígenotóxicas (Trotta et al., 2012).

Actividad Lipolítica de BAL y levaduras

En este estudio, la actividad lipasa extracelular se exhibió por sólo unas pocas cepas *Lb. plantarum* var. *arabinosus* (2 cepas), mientras que solo el 14,2% de las cepas de levaduras presentaron lipólisis. De estas cepas las que obtuvieron mayor actividad fueron *Dekkera bruxellensis* (4 cepas, 4 mm), *Pichia canadensis* (3 cepas, 3mm), *Debaryomyces hansenii* (2 cepas, 5 mm) y *Pichia anómala* (1 cepa, 2 mm). Suzii y



11

colaboradores (2001) han informado sobre la alta actividad lipolítica de las levaduras y su contribución a la maduración del queso. La especificidad de la lipasa y el posterior metabolismo de los ácidos grasos libres son importantes para la caracterización aromática de los quesos. El olor característico de los quesos frescos puede provenir de la fracción lipídica y de la cantidad de ácidos grasos libres, el ácido 4-metiloctanoico y el ácido 4-etiloctanoico pueden ser los principales responsables de esta característica (Gaborit et al., 2001).

Producción de acetoína y asimilación del citrato de levaduras

La mayoría de las cepas mostraron capacidad para fermentar la glucosa (42,5%), Las levaduras identificadas que presentaron mayor porcentaje de esta actividad fueron *Candida versatilis*, *Pichia anómala* y *Candida lactis-condensí*, las que fueron capaces de asimilar y fermentar la lactosa. La asimilación de lactato se observó en la mayoría de las cepas, mientras que la asimilación de citrato fue una característica de *Candida etchellsii*, y *Candida novakii*. Alternativamente, hay un gran interés en la posibilidad de la producción de

ácido cítrico por diferentes cepas de levadura. Las levaduras pertenecientes a especies *Yarrowia* (syn. *Candida*, *Saccharomycopsis*, *Endomycopsis*) *lipolytica*, *C. guillermondii* y *C. oleophila* son conocidas por ser capaces de producir un amplio espectro de ácidos orgánicos, incluidos los intermediarios del ciclo tricarbóxico, tales como ácido cítrico y ácido isocítrico, a partir de una amplia gama de fuentes de carbono, en particular, los n-alcanos, glucosa, glicerol, etanol y galactosa (Kamzolova et al., 2006). El citrato al igual que la producción de acetoina, son precursores importantes para los compuestos de sabor en ciertas variedades de quesos (Fox, 2000).

Conclusiones

La evaluación de la diversidad de BAL y de levaduras obtenidas en este estudio pone de manifiesto su fuerte influencia en los procesos tradicionales de producción y en las características organolépticas de los quesos regionales. Las cepas seleccionadas en base a su velocidad acidificante y capacidad de coagulación, tales como *Lb. helveticus*, *Lb.delbrueckii* subesp. *bulgaricus* y *Lb. fermentum*, podrían ser utilizadas como cepas iniciadoras, mientras que, *Lb. casei* subesp.



12

pseudoplatantarum y *Lb. plantarum* var. *arabinosus* demostraron tener una buena actividad como co-iniciadores para la fabricación de quesos. En cuanto a las especies de levadura, fueron diversas y específicas de la zona. En particular, considerando que algunas cepas de *Debaryomyces hansenii*, *Dekkera bruxellensis*, *Candida versatilis* y *Candida etchellsii*, que proporcionaron características tecnológicas deseables como proteólisis, lipólisis y producción de acetoina, pueden ser utilizadas como parte de un estarter destinado a la producción de quesos frescos con origen geográfico específico.

Referencias Bibliográficas.

Badis A, Guetarni D, Boudjema MB, Henni DJ & Kihal M. Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian race. Food Microbiol. 2004; 21: 579-588.

Barnett, JA, Payne RW & Yarrow D. Yeast's characteristics and Identification. Third Edition. United Kingdom. Cambridge University Press. 2007

Bergey, & Holt, John G Bergey's manual of determinative bacteriology (9th ed). Lippincott, Williams & Wilkins, Baltimore. (2000).

Bintsis, T.; Vafopoulou-Mastrojiannaki, A.; Litopoulou-Tzanetaki, E. and Robinson, R.K. Protease, peptidase and esterase activities by lactobacilli and yeast isolates from Feta cheese brine. Journal of Applied Microbiology 2003; 95: 68–77.

Borelli, Beatriz M., Elaine G. Ferreira, Inayara C. A. Lacerda, Glória R. Franco, Carlos A. Rosa. Yeast populations associated with the artisanal cheese produced in the region of Serra da Canastra, Brazil. World Journal of Microbiology and Biotechnology. November. 2006. Volume 22, Issue 11, pp 1115-1119.

Chaves-López, C., Tofalo, R., Serio, A., Paparella, A., Sacchetti, G. and Suzzi, G. Yeasts from Colombian Kumis as source of peptides with Angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activity in milk. International Journal of Food Microbiology. 2012; 159: 39-46.

Chebenová-Turcovská, V., Zeniřová, K., Kuchta, T., Pangallo, D. and Brežná, B. Culture independent



13

detection of microorganisms in traditional Slovakian bryndza cheese. International Journal of Food Microbiology 2011; 150: 73–78..

Cheriguene A, Chougrani F, Bekada AMA, El Soda M, Bensoltane A. Enumeration and identification of lactic microflora in Algerian goat's milk. Afr. J. Biotechnol. 2007; 6(1 5): 1854-1861.

Fox P.F. Cheese overview II. Academic press, London. 2002.

Gaborit, P., Menard A., Morgan F. Impact of ripening strains on the typical flavour of goat cheeses. International Dairy Journal 2001;11: 315–325.

Herreros, M.A, J.M Fresno, M.J González Prieto, M.E Tornadijo. Technological characterization of lactic acid bacteria isolated from Armada cheese (a Spanish goats'milk cheese).International Dairy Journal. 2003; Volume 13, Issue 6, Pages 469–479.

Kamzolova, S.V., Morgunov, G.I., Aurich, A., Perevoznikova, O.A., Shishkanova, N. V.,Stottmeister, U. and Finogenova, T.V. Lipase Secretion and Citric Acid Production

in *Yarrowia lipolytica* Yeast Grown on Animal and Vegetable Fat. Food Technol. Biotechnol. 2006; 43 (2): 113–122.

Klein, N., Zourari, A., Lortal, S. Peptidase activity of four yeast species frequently encountered in dairy products and comparison with several dairy bacteria. International Dairy Journal 2002; 12: 853–861.

Kurtzman, C.P., Fell, J.W., Boekhout, T., Robert, V. Methods for isolation, phenotypic characterization and maintenance of yeasts, 5th edn. In: Kurtzman, C.P., Fell, J.W., Boekhout,T. (Eds.), The Yeasts, a Taxonomic Study. Elsevier, Amsterdam 2011; vol. 1.: pp. 87–110.

Mac Faddin, J.F. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Editorial Médica Panamericana. 1980.

Mannu, L., Riu, G., Comunian, R., Frozzi, M.C., Scintu, M.F. A preliminary study of lactic acid bacteria in whey starter culture and industrial Pecorino Sardo ewes, milk cheese: PCR-identification and evolution during ripening. International Dairy Journal. 2002; 12: 17–26.



14

Mathara JM, Schillinger U, Kutima PM, Mbugua SK, Holzapfel WH. Isolation, identification and characterization of the dominant microorganisms of kulenaoto: the Maasai traditional fermented milk in Kenya. *Int J Food Microbiol* 2004; 94:269–278.

Medina, R.; Katz, M.; González, S.; Oliver, G. Characterization of the lactic acid bacteria in ewe's milk and cheese from Northwest Argentina. *Journal of Food Protection*. 2001; 64: 559-563.

Mehlomakulu, Ngwekazi Nwabisa. Yeasts as adjunct starter cultures in cheese making. Tesis magister. Faculty of Natural and Agricultural Sciences. Department of Microbial, Biochemical and Food Biotechnology. University of the Free State. Bloemfontein. 2011.

Moulay, M., Aggad, H., Benmechernene, Z., Guessas, B., Henni, D.E. and Kihal, M. Cultivable Lactic Acid Bacteria Isolated from Algerian Raw Goat's Milk and Their Proteolytic Activity. *World Journal of Dairy & Food Sciences* 2006; 1 (1): 12-18.

Olarte, C., Sanz, S., González-Fandos, E., Torre, P. The effect of a commercial starter culture addition on the ripening of an artisanal goat's cheese (Cameros cheese). *Journal of Applied Microbiology*. 2000; 88: 421–429.

Oliszewski, R. Leche de cabra: su calidad y evaluación de starters lácticos caprinos regionales en la manufactura de productos fermentados. Tesis doctoral. Universidad Nacional de Tucumán. 2006.

Settanni, L. and Moschetti, G. Non-starter lactic acid bacteria used to improve cheese quality and provide health benefits. *Food Microbiology* 2010; 27: 691-697..

Sørensen, L.M., Gori, K., Petersen, M.A., Jespersen and L., Arneborg, N. Flavour compound production by *Yarrowia lipolytica*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Debaryomyces hansenii* in a cheese-surface model. *International Dairy Journal* 2011; 21: 970–978.

Suzzi, G., Lanorte, M. T., Galgano, F., Andrighetta, C., Lombardi, A., Lanciotti, R. & Guerzoni, M. E. Proteolytic, lipolytic and molecular characterization of *Yarrowia lipolytica*



14
isolated from cheesell. International Journal of Food Microbiology. 2001; 69: 69-77.

Terzic-Vidojevic, A., Vukasinovic, M., Veljovic, K., Ostojic, M. and Topisirovic, L. Characterization of microflora in homemade semi-hard white Zlatar cheese. International Journal of Food Microbiology. 2007; 14: 36–42.

Topisirovic, L., Kojic, M., Fira, D., Golic, N., Strahinic, I. and Lozo, J. Potential of lactic acid bacteria isolated from specific natural niches in food production and preservation. International Journal of Food Microbiology. 2006; 112: 230–235.

Trotta, F., Caldini, G., Dominici, L., Federici, E., Tofalo, R., Schirone, M., Corsetti, A.Suzzi,G. and Cenci, G. Food borne yeasts as DNA-bioprotective agents against model genotoxins. International Journal of Food Microbiology. 2012; 153: 275-280.

Van den Tempel, T.and Jakobsen, M. The technological characteristics of *Debaryomyceshansenii* and *Yarrowialipolytica* and their potential as starter cultures for production of

Danablu. International Dairy Journal.2000; 10(4): 263–270.

Welthagen, J. J. & Viljoen, B. C. The presence of yeasts in different cheese types. In Yeasts in the dairy industry: positive and negative aspects, Jakobsen, M., Narvhus, J., Viljoen,B.C. (Eds.), Copenhagen, Denmark. International Dairy Federation, Brussels, Belgium. 1998; 78-87.