

## Identificação da população bacteriana em queijo colonial de Seara-SC através de sequenciamento genético do gene 16S rRNA

Natália Lima Myazaki<sup>1</sup>, Mariana Freitas Cardoso<sup>1</sup>, Marília Miotto<sup>1</sup>, Sheila Mello da Silveira<sup>2</sup>, Silvani Verruck<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>2</sup>Instituto Federal Catarinense-Campus Concórdia

\* e-mail: silvani.verruck@ufsc.br

### 1. INTRODUÇÃO

O Estado de Santa Catarina nos últimos anos tem se destacado no cenário de queijos artesanais por conta da alta produtividade leiteira e apoios jurídicos na comercialização, principalmente dos denominados queijos Coloniais (KAMIMURA *et al.*, 2019). Visando a melhor especificidade e identificação de bactérias nesse alimento, as ferramentas microbiológicas clássicas que dependem de cultivo estão dando espaço ao uso de ferramentas avançadas de identificação bacteriana, como o sequenciamento do genoma bacteriano (FRANCIOSA *et al.*, 2018). Essas por sua vez, permitem a compreensão completa da ecologia bacteriana destes produtos, podendo inclusive auxiliar no desenvolvimento de fermentos específicos com as espécies predominantes na variedade do produto (FRANCIOSA *et al.*, 2018).

### 2. OBJETIVOS

O objetivo deste estudo foi avaliar a microbiota bacteriana presente em queijo artesanal colonial produzido na cidade de Seara (SC), através da identificação e quantificação do microbioma bacteriano utilizando como base as regiões V3-V4 do gene 16S.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

A amostra de queijo Colonial comercializada no município de Seara-SC foi submetida a análise metagenômica. O queijo foi elaborado por um produtor que faz parte da Cooperativa de Produção e Consumo dos Produtores e das Agroindústrias Familiares de Seara (COOPASE). A diversidade bacteriana foi identificada utilizando-se o equipamento MiSeq Sequencing System (Illumina Inc., USA) e o kit V2. Para o sequenciamento de alto rendimento das regiões V3/V4 do gene 16S rRNA foi realizada a extração do DNA com a técnica de beads magnéticas, seguida da realização da reação de PCR em triplicata. Foram utilizados os primers 341F (CCTACGGGRSGCAGCAG), e 806R (GGACTACHVGGGTWTCTAAT), com 300 ciclos e sequenciamento single-end. As sequências foram analisadas por meio de um pipeline e bibliotecas preparadas (Neopropecta Microbiome Technologies, Brasil).

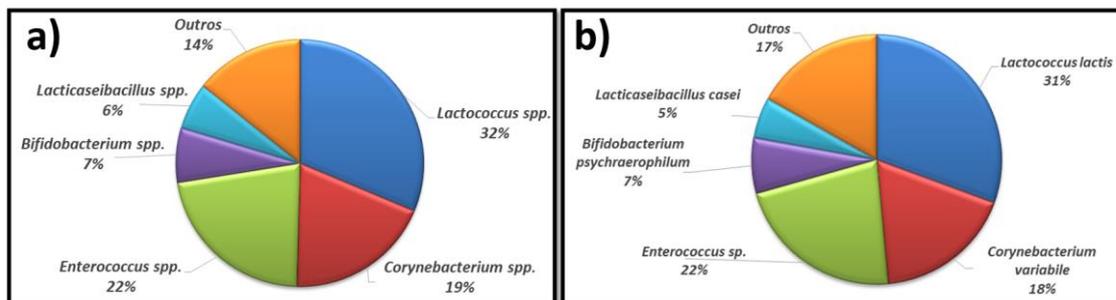
### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram encontrados 4 filos, 30 gêneros e 57 espécies na amostra. Os gêneros predominantes estão apresentados da Figura 1a. As espécies mais abundantes na amostra também estavam relacionadas aos gêneros predominantes, sendo elas *Lactococcus lactis* (30,6%), *Corynebacterium variabile* (17,9%), *Enterococcus* sp. (17,4%) – incluindo as espécies *E. italicus*, *E. saccharolyticus*, *E. durans*, *E. pseudoavium*, *E. thailandicus* e *E. casseliflavus* -, *Bifidobacterium psychraerophilum* (7,2%) e *Lactocaseibacillus casei* (5,3%) (Figura 1b).

*Lactococcus lactis* é reconhecida principalmente pelo seu papel como cultura iniciadora em produtos lácteos fermentados, sendo também utilizada industrialmente para tal finalidade. Esta espécie hidrolisa a caseína por ação da enzima lactocepina; fermentam a lactose por ação da fosfo-β-galactosidase, para produzir lactose-6-fosfato e glicose; e produzem ácidos orgânicos, principalmente o ácido lático (GAVANAGH *et al.*, 2013). Os metabólitos gerados são

essenciais para o desenvolvimento das características sensoriais do produto e para a segurança do alimento. Além disso, espécies de *Corynebacterium* não patogênicas como *C. variabile* apresentam a capacidade de metabolizar o lactato, produzir enzimas lipolíticas como lipases (lipA1 - lipA3) e hidrolases (SGNH-hidrolase) que provocam a liberação de compostos voláteis que também influenciam no sabor dos queijos (YVON; RIJNEN, 2001).

**Figura 1** - Abundância relativa dos gêneros (a) e das espécies (b) de bactérias identificadas no queijo colonial artesanal.



As espécies de *Enterococcus*, *Bifidobacterium* e *Lactocaseibacillus* (anteriormente *Lactobacillus*) encontradas neste estudo são descritas com frequência em produtos fermentados. Além da sua importante influência nas características sensoriais e de segurança do produto (produção de metabólitos), algumas destas também estão sendo estudadas em relação a sua funcionalidade, principalmente como probióticas de nova geração (BARROS *et al.*, 2020).

## 5. CONCLUSÕES

Neste estudo preliminar foi realizada a identificação genômica de espécies bacterianas presentes em queijo colonial artesanal do meio oeste de Santa Catarina pela primeira vez. Os resultados indicam um bacterioma complexo para o produto, com algumas espécies sendo as predominantes ao final da maturação. A partir do estudo de mais amostras espera-se estabelecer uma identidade bacteriana para o queijo Colonial. Por fim, essas espécies devem ser isoladas e estudadas com relação a sua influência direta nas características deste produto, bem como a possibilidade de seu uso como culturas iniciadoras ou probióticas.

## 6. REFERÊNCIAS

- BARROS, C. P. *et al.* Probióticos, Prebióticos, Paraprobióticos e Pos-Bióticos de Nova Geração. In: ZACARCHENCO, Patrícia Blumer (org.). **Probióticos e prebióticos (livro eletrônico) - desafios e avanços**. São Paulo: setembro Editora, 2020. Cap. 1. p. 24-51.
- CAVANAGH, D. *et al.* From field to fermentation: The origins of *Lactococcus lactis* and its domestication to the dairy environment. **Food Microbiology**, v. 47, p. 45–61, 2015.
- FRANCIOSA, I. *et al.* Sausage fermentation and starter cultures in the era of molecular biology methods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 279, p. 26–32, 2018.
- KAMIMURA, B. A. *et al.* Large-scale mapping of microbial diversity in artisanal Brazilian cheeses. **Food Microbiology**, v. 80, p. 40–49, jun. 2019. DOI: 10.1016/j.fm.2018.12.014.
- YVON, M.; RIJNEN, L. Cheese flavour formation by amino acid catabolism. **International Dairy Journal**, v. 11, n. 4-7, p. 185-201, 2001.