

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

DIEGO SARTORI

Utilização de probióticos para a inibição de *Staphylococcus aureus* e
Escherichia coli em queijo Minas Frescal

Pirassununga

2023

DIEGO SARTORI

Utilização de probióticos para a inibição de *Staphylococcus aureus* e
Escherichia coli em queijo Minas Frescal

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia de Alimentos

Área de Concentração: Ciências da Engenharia de Alimentos

Orientador: Prof. Dr. Carlos Humberto Corassin

Pirassununga

2023

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S251u Sartori, Diego
Utilização de probióticos para a inibição de
Staphylococcus aureus e Escherichia coli em queijo
Minas Frescal / Diego Sartori ; orientador Carlos
Humberto Corassin. -- Pirassununga, 2023.
59 f.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação
em Engenharia de Alimentos) -- Faculdade de
Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade
de São Paulo.

1. MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS. 2. PRODUTOS
LÁCTEOS ver LATICÍNIOS. 3. PROBIÓTICOS. 4.
PRESERVAÇÃO DE ALIMENTOS ver CONSERVAÇÃO DE
ALIMENTOS. I. Corassin, Carlos Humberto, orient.
II. Título.

AGRADECIMENTOS

Inicialmente gostaria de agradecer meus pais e irmão pelo suporte e estrutura que me permitiu a dedicação aos estudos.

Ao meu amigo Mikhail Mamere por sempre estar disponível para conversar.

Ao professor Doutor Carlos Humberto Corassin, meu orientador, por toda orientação e paciência que permitiu meu desenvolvimento acadêmico.

A todos professores e colegas de estudo.

À Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, pela oportunidade de realização do curso de mestrado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

“A beginning is the time for taking the most delicate care that the balances are correct.”

Frank Herbert

RESUMO

SARTORI, D. **Utilização de probióticos para a inibição de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* em queijo Minas Frescal**. 2023. 59 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2023.

O presente trabalho teve como objetivo o estudo da utilização dos probióticos *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactiplantibacillus plantarum* e *Lactobacillus acidophilus* como método de biopreservação de queijos, avaliando a capacidade inibitória para *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* em queijo Minas Frescal através da utilização destes probióticos. O experimento para verificação da inibição de *S. aureus* e *E. coli* foi realizado utilizando 32 queijos produzidos na planta experimental de produtos lácteos da Universidade de São Paulo, campus de Pirassununga, foram utilizados em 8 tratamentos com inoculações bacterianas com 4 duplicatas por tratamento, onde foi observado a inibição das bactérias patogênicas em diferentes tratamentos no período de 21 dias de armazenamento. A adição dos probióticos não alterou os parâmetros físico-químicos dos queijos, não houve efeito significativo ($P>0,05$), porém inibiu *S. aureus* até 1,23 ciclo log quando isolada, quando em presença de *E. coli* inibiu 0,61 ciclo log enquanto no caso de *E. coli* isolada inibiu em 1,47 ciclo log e na presença de *S. aureus* em 0,76 ciclo log. Este estudo demonstram o potencial para a utilização de probióticos como biopreservantes, agindo conjuntamente aos métodos tradicionais de preservação de queijos, podendo serem avaliados como possíveis substitutos de aditivos químicos. São necessários estudos sobre os mecanismos envolvidos na competição entre as bactérias por substratos no alimento, bem como sua sobrevivência nas condições do TGI em ensaios *in vivo*.

Palavras-chave:

Bactérias ácido lácticas, biopreservação, produtos lácteos

ABSTRACT

SARTORI, D. **Probiotics use as inhibitors to *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* growth in Minas Frescal Cheese.** 2023. 59 f. M. Sc. Dissertation – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2023.

The present study has as objective the use of the probiotics *Lacticaseibacillus rhamnosus*, *Lactiplantibacillus plantarum* and *Lactobacillus acidophilus* as a method of biopreservation of cheeses, evaluating the inhibitory capacity for *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in Minas Frescal cheese using these probiotics. The experiment to verify the inhibition of *S. aureus* and *E. coli* was carried out using 32 cheeses produced in the experimental plant of dairy products at the University of São Paulo, Pirassununga campus, where 8 bacterial inoculation treatments with 4 duplicates each were used and observed in a 21 storage day period. The addition of probiotics did not change the physicochemical parameters of the cheeses, there was no significant effect ($P>0.05$), it inhibited *S. aureus* 1,23log cycles when isolated and when in the presence of *E. coli* it was inhibited in 0.61log cycle, *E. coli* was inhibited in 1.47 log cycles when isolated and when in the presence of *S. aureus* in 0.76 log cycle. This study demonstrates the potential for the use of probiotics as biopreservatives, acting in conjunction with traditional methods of preserving cheese, and can be evaluated as possible substitutes for chemical additives. Studies are needed on the mechanisms involved in the competition between bacteria for substrates in food, as well as their survival under GIT conditions in *in vivo* assays.

Key-words:

Acid lactic bacteria, biopreservation, dairy products

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Resultados para contagem de <i>S. aureus</i>	40
Figura 2 – Resultados para contagem de <i>E. coli</i>	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Tratamentos utilizados no experimento com queijo Minas Frescal adicionado de <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. plantarum</i> e <i>L. acidophilus</i> e/ou <i>E. coli</i> e/ou <i>S. aureus</i>	31
Tabela 2 – Resultados das análises de pH, Aw, umidade, proteína e teor de gordura dos queijos Minas Frescal	37
Tabela 3 – Contagens de <i>S. aureus</i> (expressos em Log UFC/g) nos queijos Minas Frescal durante 21 dias de armazenamento.....	38
Tabela 4 – Contagens de <i>E. coli</i> (expressos em Log UFC/g) nos queijos Minas Frescal durante 21 dias de armazenamento.....	42

LISTA DE ABREVEATURAS E SIGLAS

B. animalis – *Bifidobacterium animalis*

B. cereus – *Bacillus cereus*

B. lactis – *Bifidobacterium lactis*

C - Celsius

C. divergens - *Carnobacterium divergens*

E. coli - *Escherichia coli*

E. faecalis - *Enterococcus faecalis*

E. faecium – *Enterococcus faecium*

g - grama

L - Litro

L. acidophilus – *Lactobacillus acidophilus*

L. brevis – *Levilactobacillus brevis*

L. bulgaricus – *Lactobacillus bulgaricus*

L. casei – *Lacticaseibacillus casei*

L. curvatus – *Lactobacillus curvatus*

L. lactis - *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*

L. lactis subsp. *diacetylactis* – *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*

L. plantarum – *Lactiplantibacillus plantarum*

L. rhamnosus – *Lacticaseibacillus rhamnosus*

L. sakei – *Lactobacillus sakei*

ml – mililitro

P. acidilactici – *Pediococcus acidilactici*

P. pentosaceus – *Pediococcus pentosaceus*

S. aureus – *Staphylococcus aureus*

S. thermophilus – *Streptococcus thermophilus*

UFC – Unidade Formadora de Colônia

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	13
2.	REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1.	LEITE.....	20
2.2.	QUEIJO MINAS FRESCAL.....	22
2.3.	BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS E MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS.....	23
3.	OBJETIVOS.....	29
3.1.	OBJETIVO GERAL.....	29
3.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	29
3.3.	HIPÓTESE.....	30
4.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	30
4.1.	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	30
4.2.	CEPAS BACTERIANAS.....	31
4.3.	ELABORAÇÃO DO QUEIJO MINAS FRESCAL.....	32
4.4.	INOCULAÇÃO BACTERIANA NA SUPERFÍCIE DO QUEIJO.....	34
4.5.	ANÁLISE DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO QUEIJO.....	34
4.6.	ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DOS QUEIJOS.....	35
4.7.	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	35
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
6.	CONCLUSÃO.....	44
7.	BIBLIOGRAFIA.....	45

1. INTRODUÇÃO

Queijos são produzidos a partir de uma série de etapas tecnológicas e muitos destes passos podem ser realizados sem tratamentos eficazes para redução da carga microbiana inicial, com maior importância para queijos não maturados, sendo que a utilização de leite não pasteurizado também aumenta a ocorrência de bactérias patogênicas no produto final. Em queijos, as principais bactérias que podem estar presentes e associadas a doenças transmitidas por alimentos são *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella enterica* (DE OLIVEIRA et al., 2017).

No Brasil, um dos queijos mais consumidos é o Minas Frescal, que de acordo com a legislação vigente deve ser produzido com leite pasteurizado, porém diversos fatores podem contribuir para a contaminação do produto, como temperaturas de armazenamento, higiene de manipuladores e contaminação cruzada (VICTOR et al., 2021).

S. aureus é um dos mais comuns agentes de infecção alimentar, sendo que é um dos de maior importância nas doenças transmitidas por alimentos no Brasil. Na indústria de lácteos, esta bactéria pode ser introduzida em qualquer momento da produção, sendo que o leite cru pode conter esta bactéria devido a mastite que pode acometer as fêmeas lactantes (DITTMANN et al., 2017). *S. aureus* é uma bactéria Gram-positiva, não formadora de esporos e não móvel, sendo uma bactéria anaeróbia facultativa, catalase positiva. Esta bactéria tem o crescimento ótimo na faixa de 37°C, pH entre 6.0 e 7.0 e atividade mínima de água de 0.86. Sua capacidade de produzir toxinas ocorre numa faixa de temperatura de 40° a 45°C (DE OLIVEIRA et al., 2017). A contaminação por

toxinas estafilococicas pode ocorrer antes de processos de tratamento térmico e estas não são destruídas (OLIVEIRA et al., 2021).

E. coli é uma bactéria Gram-negativa, não formadora de esporos e catalase positiva. Esta bactéria tem o crescimento ótimo numa temperatura de 37°C, mas tem a capacidade de crescimento entre 7 e 46 °C, a atividade de água mínima para seu crescimento é de 0.93 e pH próximo da faixa de neutralidade (DE OLIVEIRA et al., 2017).

O impacto de microrganismos patogênicos para a indústria agrícola levou a pesquisa e desenvolvimento de métodos de controle destes sem efeitos adversos para os consumidores. O uso de probióticos para o controle biológico destes agentes pode ser considerado como uma alternativa viável para oferecer produtos finais seguros, porém a efetividade desta adição ainda tem eficiência limitada e possíveis impactos negativos ainda não são completamente conhecidos (HOSSAIN; SADEKUZZAMAN; HA, 2017).

Bactérias ácido lácticas produzem compostos como álcool, ácido láctico, ácido acético, peróxido de hidrogênio, dióxido de carbono, diacetil e bacteriocinas, podendo se tornar potenciais culturas protetoras para produtos lácteos, eficientes contra bactérias, diferentes fungos e protozoários (MOTALEBI MOGHANJOUGI et al., 2020; MOUSAVI KHANEGHAH et al., 2020).

Originalmente introduzido pelo pesquisador Élie Metchnikoff, a manipulação da saúde gastrointestinal através de dietas com produtos fermentados foi associada à longevidade. O termo probióticos foi cunhado no meio da década de 1970 como organismo que contribuem no equilíbrio microbiano intestinal (BRAHMA; SADIQ; AHMAD, 2019).

Inicialmente definido pela Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), a Organização Mundial da Saúde (WHO) e revisado por HILL et al (2014) para uma descrição mais gramaticalmente correta, probióticos são microrganismos vivos que, quando administrados em quantias adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro.

Como uma definição mais moderna para probióticos o conceito de culturas vivas de microrganismos únicos ou combinados a outras colônias, que quando utilizados na dieta humana ou animal traz benefícios à microbiota gastrointestinal, sendo que bactérias devem ser não patogênicas e preferencialmente de microbiotas saudáveis (GHATTARGI et al., 2022).

Características como concentração do probiótico deve ser considerado, assim como a matriz alimentar onde este será incluído, pois a interação entre estes componentes pode reduzir a viabilidade de uma cultura específica podendo levar até mesmo a alterações no produto final (MARKOWIAK; ŚLIŻEWSKA, 2017).

2. REVISÃO DE LITERATURA

Leite é uma secreção fluída expressada por todas as fêmeas mamíferas, que tem como função atender as necessidades nutricionais de neonatos. Constituído principalmente por proteínas e peptídeos, leite também possui compostos com funções orgânicas como enzimas, inibidores de enzimas, hormônios e agentes antibacterianos, assim como água e compostos inorgânicos. A composição do leite sofre alterações durante a lactação,

principalmente após o meio da lactação, devido à redução no fluxo sanguíneo e a involução da glândula mamária (GOULDING; FOX; O'MAHONY, 2019).

As proteínas presentes no leite podem ser classificadas em dois grupos, sendo eles a caseína, que representam aproximadamente 75% das proteínas presentes no leite e são subdivididas em quatro tipos de caseína, e lactalbuminas, divididas em 2 tipos (KELLY; BACH LARSEN, 2010).

O leite utilizado para a fabricação de queijo deve apresentar características como baixa contagem de microrganismos e de células somáticas, assim como uma alta taxa proteica. Para isso, o leite deve ser oriundo de animais saudáveis, coletado e armazenado em temperatura adequada, pelo menor tempo possível, pois mesmo temperaturas baixas podem providenciar um ambiente ideal para o crescimento de microrganismos psicotróficos e alterar a composição do leite (SKEIE, 2010).

Em animais saudáveis o leite deveria ser estéril, porém durante a ordenha, transporte e armazenamento do leite apresentam potenciais focos de contaminação. Microrganismos como *Bacillus cereus*, *Campylobacter jejuni*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *S. aureus* e *Yersinia enterocolitica* podem estar presentes e apresentam riscos para a saúde de consumidores (WANG et al., 2018).

Desta forma os vários estágios que compõe a produção do leite e derivados, da ordenha até o consumo, devem ser controlados pela adesão à boas práticas agrícolas e de produção, assim como a análise de perigos e pontos críticos de controle para a adequação de sistemas de controle. Todas as medidas de controle são essenciais para que o leite e derivados mantenham

sua qualidade físico-química e microbiológica (TE GIFFEL; WELLS-BENNIK, 2010).

Alimentos fermentados estão presentes em todo o mundo, e este pode ser definido como processo metabólico que gera energia biológica sem oxidantes externos. A fermentação de alimentos é considerada como um dos métodos mais antigos de preservação de alimentos, que normalmente é obtido através da utilização de bactérias ácido lácticas e fermentos, e estes microrganismos levam a decomposição de proteínas e açúcares presentes no alimento com a subsequente produção de aminoácidos, ácido láctico e outras substâncias (RUL; ZAGOREC; CHAMPOMIER-VERGÉS, 2013).

Produtos lácteos são amplamente reconhecidos como boas matrizes para a utilização de bactérias ácido lácticas e probióticos. Desta forma diversos estudos demonstrando benefícios como redução em níveis de colesterol, inibição de microrganismos indesejados e auxílio na função imune pelo consumo de queijos, iogurtes, sorvetes e leites fermentados, porém a maioria dos produtos disponíveis utilizam *L. acidophilus* e *Bifidobacterium lactis* indicando um grande potencial para crescimento do mercado (ABDULLAH THAIDI; RIOS-SOLIS; HALIM, 2021; DE SOUZA DA MOTTA; NESPOLO; BREYER, 2021).

Alimentos são expressões de cultura e história, sendo a exploração científica uma ferramenta importante para o estudo e uso de alimentos fermentados tradicionais, que normalmente são produzidos por bactérias ácido lácticas (MUDGIL et al., 2022). Alimentos lácteos fermentados estão presentes no mundo inteiro, sendo componentes importantes de uma dieta humana balanceada desde tempos imemoriais (ZOUMPOPOULOU et al., 2020).

Bactérias ácido lácticas são normalmente associadas à alimentos fermentados, e estas podem ser encontradas em diversas fontes e regiões do mundo onde diferentes cepas são utilizadas sem efeitos negativos (TODOROV; HOLZAPFEL; NERO, 2021).

O consumo de queijos está em crescimento por diversos motivos, como flexibilidade de uso, grande diversidade de sabores e conveniência. Por estes motivos, queijos são considerados de extrema importância (EL-BAKRY; MEHTA, 2022).

Sendo um veículo eficiente para a sobrevivência e carreamento de microrganismos, queijos podem apresentar altos valores de pH e mantidos sob refrigeração, mas uma série de desafios ainda estão presentes à sua segurança e higiene (PISANO et al., 2022). Devido ao envolvimento de queijos em surtos de doenças transmitidas por alimentos diversas estratégias que visam oferecer aos consumidores alimentos seguros são desenvolvidos, sendo o uso de bactérias que inibem ou destroem microrganismos patogênicos uma destas estratégias (CAMPAGNOLLO et al., 2022; PISANO et al., 2022).

No Brasil, a produção de queijo é uma das principais atividades econômicas desenvolvidas pela indústria láctea, com grande impacto econômico e social, fazendo o Brasil o quinto maior produtor de leite e o primeiro em consumo na América do Sul. O queijo Minas Frescal é um dos mais populares no Brasil e o terceiro mais consumido pela população, produzido em todos os estados principalmente por indústrias de pequeno a médio porte (CRUZADO-BRAVO et al., 2020; DANTAS et al., 2016).

A contaminação de queijo Minas Frescal pode ocorrer em qualquer momento da sua produção a partir do processo de ordenha, para o

armazenamento dos ingredientes até o consumidor final. A saúde de rebanho e a qualidade do leite influenciam diretamente a contaminação do queijo, assim como o transporte, armazenamento e apresentação para os consumidores finais (SANTOS; OLIVEIRA; FRAGA, 2021).

Devido a restrições econômicas em relação à investimentos em programas educacionais e higiênicos, a qualidade microbiológica do queijo Minas Frescal é altamente variável. Coliformes são os principais contaminantes de leite e derivados lácteos, sendo responsáveis pela deterioração, fermentação não desejada de queijos assim como diminuição de índices produtivos e outros defeitos diversos (BARANCELI; OLIVEIRA; CORASSIN, 2015).

O uso de bactérias ácido lácticas em alimentos lácteos fermentados é um dos métodos mais antigos de biopreservação, demonstrado como eficaz na substituição de aditivos químicos e antibióticos devido a produção de compostos orgânicos como ácidos, peróxido de hidrogênio, dióxido de carbono e diversos peptídeos (HUSSAIN et al., 2021; MOHAMMED; ÇON, 2021; PUREVDORJ et al., 2021; SAIDI et al., 2019).

Historicamente a seleção de bactérias fermentativas era realizada apenas pelo sabor e aroma que estes traziam ao produto final, mas devido a uma série de riscos à saúde que a fermentação espontânea e não controlada pode trazer, mais estudos são realizados para melhor utilizar estes microrganismos (GAO et al., 2021).

E.coli pode estar presente em alimentos como leite e derivados como um indicador de práticas higiênicas deficientes. Nos seus grupos patogênicos, *E. coli* pode provocar alterações intestinais como diarreia, colite e enterite

hemorrágica (MAIA et al., 2019; OKURA; MARIN, 2014).

S. aureus, sendo considerado o microrganismo mais frequentemente encontrado em queijos e leite. *S. aureus* coloniza pele e a cavidade nasal, desta forma se práticas higiênicas não são corretamente adotadas, esta bactéria pode ser transmitida para o alimento, embalagens e superfícies em qualquer momento da produção. Leite cru também ser um método de introdução deste microrganismo, como consequência de mastite subclínica e clínica em gado (CARVALHO et al., 2021; DITTMANN et al., 2017).

2.1. LEITE

Com o crescimento da população humana, a demanda por alimentos seguros e em quantidades suficientes, juntos a uma pressão do mercado para a redução de aditivos químicos, a indústria de alimentos procura alternativas para métodos tradicionais de processamento que proporcionem a mesma qualidade microbiológica e vida de prateleira de alimentos processados de maneira tradicional sendo a biopreservação ou seja, o uso de microrganismos, um método em crescimento (LI et al., 2022; LUZ et al., 2021).

Produtos de origem animal possuem alto valor nutricional, umidade e normalmente pH neutro, os tornando altamente perecíveis. Todos os métodos de processamento têm como principal objetivo reduzir a carga microbiana inicial, sendo os métodos térmicos como pasteurização e congelamento os mais utilizados (IBRAHIM et al., 2021).

O processo de industrialização de alimentos pela história diversos métodos para a inibição de crescimento microbiano foram desenvolvidos,

sendo que a utilização de aditivos químicos é uma prática estabelecida e utilizada. Altas temperaturas são eficazes como método de controle de microrganismos patogênicos e deteriorantes, porém esta técnica apresenta efeitos negativos a características sensoriais dos alimentos (EL-SABER BATIHA et al., 2021).

Segurança microbiológica e aumento da vida de prateleira são fatores importantes para o mercado consumidor, desta forma a utilização de compostos químicos como ácido benzoico, ácido sórbico, potássio e cálcio são normalmente utilizados. Compostos naturais que podem substituir estes aditivos químicos são altamente desejáveis (ULPATHAKUMBURA et al., 2016).

No caso do leite, boas práticas de ordenha podem reduzir a concentração microbiológica inicial em até 90% quando comparado em situações em que estas práticas não são adotadas (CONDÉ et al., 2022; DOS SANTOS et al., 2022). O uso de práticas profiláticas de higiene também é importante no controle da contaminação microbiana secundária melhorando qualidade e produtividade (FANIN et al., 2022).

A produção de peptídeos como bacteriocinas são normalmente atingidas através de meios de cultura complexos, desta forma a utilização de subprodutos industriais é interessante para produções em alta escala. O uso de soro de leite, um substrato rico que normalmente é subutilizado, como meio de crescimento de *L. lactis* foi demonstrado como altamente eficiente para a produção de bacteriocinas que tem ação contra *L. monocytogenes* (CHAVES DE LIMA; DE MOURA FERNANDES; CARDARELLI, 2017).

A domesticação de animais foi o primeiro passo para que o leite se tornasse um recurso alimentar de humanos, próximo de 9000 A.E.C.

Ruminantes são capazes de converter gramíneas, um elemento sem outros usos, em produtos nutricionais que não somente carne (MACDONALD, 2010). Elementos versáteis como gorduras e proteínas presentes no leite o fazem uma fonte alimentar muito desejada, porém a disponibilidade destes elementos faz com que esta matriz alimentar necessite de diversos sistemas para a manutenção da sua estabilidade microbiológica, assim como evitar a contaminação deteriorante e patogênica (PERIN et al., 2018).

Leite contém proteínas de alta qualidade e excelentes propriedades funcionais para a formulação de alimentos (AFONSO; MOREIRA; DE ALMEIDA, 2022; KHANASHYAM et al., 2022; ROSARIO et al., 2021; STOBIECKA; KRÓL; BRODZIAK, 2022) e aproximadamente 80% da produção mundial de leite é de origem bovina, constituindo uma importante parte em dietas infantis (WOCHNER et al., 2018).

2.2. QUEIJO MINAS FRESCAL

O queijo Minas Frescal está entre os queijos de maior consumo no Brasil, possui alto rendimento e dispensa o período de maturação, possibilitando um rápido retorno de investimento (OLIVEIRA et al., 1998).

O queijo Minas Frescal é um queijo fresco obtido por coagulação enzimática do leite com coalho e/ou outras enzimas coagulantes, podendo ou não ser complementada com ação de bactérias lácticas específicas (BRASIL, 1997).

Os queijos possuem proteínas de alto valor biológico, cálcio, lipídeos, lactose e vitaminas lipossolúveis, sendo de fundamental importância para dieta

humana. O sabor, aroma e textura característicos do queijo Minas Frescal são atributos sensoriais que exercem importante influência sobre o consumidor.

A vida de prateleira é costumeiramente limitada a 20 dias e influenciada não só pela composição físico-química, como pelas condições de transporte, embalagem e temperatura em que é mantido na comercialização (RIBEIRO; SIMÕES; JURKIEWICZ, 2009). A composição química específica deste produto o deixa torna susceptível ao crescimento microbiano, sendo frequentemente um veículo de microrganismos patogênicos que podem causar toxiiinfecções alimentares.

Diversos autores (ARAÚJO et al., 2002; CAMPOS et al., 2006; CARRIQUE-MAS et al., 2003; PICOLI et al., 2006), citam que o queijo Minas Frescal é um ótimo meio para o desenvolvimento de microrganismos como *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella spp.*

2.3. BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS E MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS

Como observado por MARTÍN et al. (2022) o uso isolado de *L. plantarum* e uma cepa descrita como *Lactiplantibacillus spp.* em queijo maturado apresentou atividade inibitória para *L. monocytogenes* de uma contagem inicial de 5 log UFC/cm² para 1,35 e 0,7 UFC/cm² respectivamente. Com o uso combinado das bactérias ácido lácticas após 7 dias de incubação à 7°C, foi observado uma atividade inibitória para *L. monocytogenes*, com reduções de 0,6 a 2 log UFC/cm².

Em um estudo conduzido por MARQUES et al. (2022) que avaliou a aplicação de *P. pentosaceus* em queijo Minas Frescal observou atividade

antagonista para *S. aureus*, *L. monocytogenes* e *Salmonella* Typhimurium. Através da técnica spot-on-the-lawn *P. pentosaceus* demonstrou halos de inibição de 23 a 26mm para *S. aureus*, 7 a 15mm para *L. monocytogenes* e 20 a 21mm para *S. Typhimurium*.

Isolado do queijo tradicional Kadri, cinco bactérias ácido lácticas foram encontradas como dominantes, *L. curvattus*, *L. sakei*, *L. plantarum*, *P. pentosaceus* e *E. faecium*. Estas bactérias ácido lácticas foram testadas para seu potencial antimicrobiano para *Micrococcus luteus*, *Salmonella* Typhi, *Proteus vulgaris*, *Clostridium perfringens*, *Enterococci faecalis*, *E. coli* e *S. aureus*. Foi observado que *L. sakei* demonstrou a maior atividade contra *C. perfringens* e *S. Typhi*; *L. plantarum* para *E. coli* e *C. perfringens*; e *L. curvatus* para *C. perfringens*, *S. Typhi* e *P. vulgaris*. Esta atividade antimicrobiana foi atribuída à produção de peptídeos e acidificação do leite (MUSHTAQ et al., 2021).

MORANDI et al.(2020) conduziram experimentos para determinar a eficácia de *L. lactis* e *C. divergens* como opções para biopreservantes para a inibição de diversas cepas de *L. monocytogenes* em queijo gorgonzola. Os testes foram conduzidos em disco de difusão em agar onde foi observado que cepas de *L. lactis* produziram nisina capaz de inibir crescimento de *L. monocytogenes*.

Em um experimento conduzido por TIRLONI et al. (2020) para determinar o potencial de inibição para *Bacillus cereus* pelo uso *L. lactis* spp. *lactis* e *L. lactis* ssp. *cremoris* em queijo fresco foi observado que a inibição da bactéria alvo foi atingida e atribuída ao rápido crescimento da microbiota

adicional, onde o consumo de nutrientes disponíveis pelas bactérias ácido lácticas foi mais rápido que os outros microrganismos presentes.

Utilizando o queijo tradicional Himalaio Kalari e cepas de *L. brevis*, *L. plantarum* com propriedades nutraceuticas, onde três destas bactérias ácido lácticas apresentaram potencial antimicrobiano para *E. coli*, *E. faecalis*, *M. luteus*, *P. vulgaris*, *Pseudomonas perfringens*, *S. typhi* e *S. aureus*. A atividade antimicrobiana foi associada à secreção de enzimas proteolíticas e subsequente formação de peptídeos durante o processo de fermentação das bactérias ácido lácticas (MUSHTAQ; GANI; MASOODI, 2019).

Utilizando cepas de *L. brevis*, *L. plantarum* e *E. faecalis* para a potencial atividade anti-listérica, CAMPAGNOLLO et al.(2018) observaram que estas bactérias ácido lácticas apresentaram atividade bacteriostática e inativação de *L. monocytogenes* em queijos produzidos com leite pasteurizado e cru.

Em um estudo envolvendo o isolamento de bactérias ácido lácticas de leite equídeo, cepas de *E. faecium* demonstraram atividade inibitória para *B. cereus*, *L. monocytogenes* e *S. aureus* pela produção de bacteriocinas em queijo fresco (ASPRI et al., 2017).

Cepas de *Lactobacillus* foram isoladas em queijo Mexicano cozido, em experimento conduzido por HEREIDA-CASTRO et al. (2015), aonde a atividade antibacteriana destas bactérias ácido lácticas foram testadas contra *S. aureus*, *Listeria innocua*, *S. Typhimurium* e *E. coli*. Foi observado que as bactérias ácido lácticas produziram substâncias similares à bacteriocinas eficazes para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

Para identificar diferentes cepas de bactérias ácido lácticas e seus possíveis usos como métodos de controle para *L. monocytogenes*, COELHO et

al. (2014) usaram queijo Pico artesanal para isolar diferentes cepas de *Lactococcus lactis* e *E. faecalis*, todas produtoras de bacteriocinas. A combinação destas diferentes bactérias ácido lácticas demonstrou considerável atividade inibitória para *L. monocytogenes* nos estágios iniciais de armazenamento.

Em estudo conduzido por ABADÍA-GARCÍA et al. (2013), trabalhando com queijo cottage, foi avaliada a viabilidade de *Bifidobacterium* spp., *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. rhamnosus* e *S. thermophilus* sob digestão simulada e inibição de *L. monocytogenes*. A partir de 14 dias de armazenamento, foi observado uma diminuição na presença da bactéria alvo quando comparado com queijos sem adição das bactérias ácido lácticas, sendo que um comportamento similar foi observado no dia 28 de armazenamento.

MORANDI e BRASCA (2012) identificando possíveis propriedades de bactérias ácido lácticas presentes em queijos Italianos tradicionais, coletaram 52 cepas de *Streptococcus thermophilus*. Para a verificação de atividade antimicrobiana foram utilizados *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. coli*, *E. faecalis*, *Clostridium sporogenes* e *Clostridium tyrobutyricum*. Estes autores observaram que 4 cepas coletadas de queijo Bitto e Valtellina Casera demonstraram atividade antimicrobiana contra *C. tyrobutyricum*.

Em um experimento para produção de queijos probióticos, MADUREIRA et al. (2011) adicionaram *Bifidobacterium animalis* e *L. casei* para verificação da possível inibição contra *L. innocua*, *Salmonella enteritidis*, *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *E. coli*. Estes autores observaram que *B. animalis* conseguiu inibir completamente *P. aeruginosa*, enquanto o *L. casei* inibiu *S.*

enteritidis e *L. innocua*, esta atividade foi atribuída a produção de ácidos orgânicos.

Em outro estudo, foram isoladas cepas de *L. lactis* ssp. *lactis*, *L. lactis* e *L. plantarum* em 389 amostras de queijos, essas bactérias ácido lácteas foram avaliadas em relação ao potencial antagonista para desenvolvimento de *L. monocytogenes*. Estes autores observaram que 18 destas bactérias ácido lácticas apresentaram atividade inibitória com halos maiores de 10mm, devido a produção de bacteriocinas e substâncias similares a bacteriocinas (ORTOLANI et al., 2010).

IZQUIERDO et al. (2009) usaram cepas de *E. faecium* para produção de bacteriocinas capazes de inibir *L. monocytogenes* em queijo Munster. Estes autores afirmam que a *L. monocytogenes* não foi capaz de crescer nos queijos inoculados com as bactérias ácido lácticas avaliadas.

Para determinar o potencial inibitório para *L. monocytogenes* em queijo cottage, LIU et al.(2008) usaram cepas de *L. lactis*, e determinaram que estas foram capazes de reduzir a *L. monocytogenes* devido a produção de enterocina A em queijos.

Um estudo utilizando queijo adicionado de diferentes cepas de *L. lactis* verificou a capacidade de inibição para *L. innocua*, onde foi observado que a presença destas bactérias ácido lácticas produziu bacteriocinas e a inibiu microrganismo alvo (REVIRIEGO; FERNÁNDEZ; RODRÍGUEZ, 2007).

Queijos coletados de diferentes regiões da Servia e Montenegro, TOPISIROVIC et al. (2006) foram usados para isolamento de bactérias ácido lácticas com potencial capacidade de biopreservação; As cepas de *L. lactis* subsp. *lactis* isoladas nestes queijos produziram bacteriocinas com atividade

antimicrobiana para *Micrococcus flavus*, *Salmonella paratyphi* e *S. aureus*.

Em um experimento conduzido por RODRÍGUEZ et al. (2005) para estudar seu potencial antimicrobiano para *E. coli*, *L. monocytogenes* e *S. aureus* com uso de diferentes cepas de *L. lactis* e *P. acidilactici* em queijo, foi observado que o uso das bactérias ácido lácticas diminuiu a contagem dos microrganismos alvos devido a produção de pediocina, depois de 30 dias de armazenamento.

Conforme demonstrado por MENDONZA-YEPES et al. (1999), uma cultura inicial com *L. lactis* subsp. *diacetylactis* em queijo Espanhol tradicional demonstrou inibição parcial para *Enterobacter cloacae* e inibição completa para *E. coli*, *L. monocytogenes* e *P. aeruginosa*.

A utilização de bactérias ácido lácticas e probióticos para a biopreservação pode ser observada em queijos por todo o mundo. Devido a novos métodos de identificação, novas bactérias ácido lácticas isoladas de diversas fontes lácteas.

Com base em estudos prévios foi observado que a acidificação combinada com bactérias capazes de produzir de forma eficiente diversos compostos orgânicos, como ácidos, é uma alternativa viável para a substituição de aditivos químicos para manutenção de qualidade microbiológica. A utilização de boas práticas de fabricação associadas à utilização de microbiotas específicas também foi demonstrada como essencial para este controle na segurança microbiológica dos queijos.

A inibição de microrganismos patogênicos e deteriorantes em queijos pode ocorrer devido a fatores como atividade de água, pH, disponibilidade de nutrientes, características físico-químicas da matriz alimentar, compostos

antimicrobianos, temperatura de armazenamento e tempo de armazenamento. O estudo da interação entre probióticos, bactérias ácido lácticas e as colônias iniciais deve ser aprofundado para que possíveis alterações ao produto final sejam conhecidos assim como a combinação otimizada para o controle de microrganismos específicos.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

O presente experimento tem como objetivo avaliar o efeito inibitório das bactérias probióticas *L. rhamnosus*, *L. plantarum* e *L. acidophilus* sobre o crescimento das bactérias *E. coli* e *S. aureus* em queijo Minas Frescal durante um período de armazenamento de 21 dias.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Elaborar queijos Minas Frescal experimentalmente adicionados das bactérias probióticas: *L. rhamnosus*, *L. plantarum* e *L. acidophilus* e das bactérias patogênicas: *E. coli* e/ou *S. aureus*.
- b) Determinar características físico-químicas dos queijos Minas Frescal com ou sem adição de bactérias probióticas durante o armazenamento por 21 dias a 7°C.
- c) Avaliar a sobrevivência das bactérias patogênicas (*E. coli* e *S. aureus*) nos queijos Minas Frescal, através da contagem destes microrganismos.

3.3. HIPÓTESE

A utilização de probióticos em produtos lácteos foi demonstrado anteriormente como eficiente na biopreservação através da produção de compostos bioativos, desta forma a adição de probióticos em queijo Minas Frescal pode levar a produção destes compostos levando a um aumento na vida de prateleira destes queijos, assim como oferecer um produto microbiologicamente seguro sem a adição de compostos químicos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento utilizado para verificação da ação inibitória de *L. rhamnosus*, *L. plantarum* e *L. acidophilus* sobre *E. coli* e *S. aureus*, inoculados na massa dos queijos, consistiu em um esquema fatorial 2x2x2, sendo 8 tratamentos com 4 repetições, conforme a Tabela 1.

Tabela 1 – Tratamentos utilizados no experimento com queijo Minas Frescal adicionado de *L. rhamnosus*, *L. plantarum* e *L. acidophilus* e/ou *E. coli* e/ou *S. aureus*

Tratamentos ^a	Adição ao queijo (Log UFC/g)		
	<i>Probioticos</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
Tratamento 1 (Controle)	0	0	0
Tratamento 2	0	5,0	0
Tratamento 3	0	0	5,0
Tratamento 4	0	5,0	5,0
Tratamento 5	9,0	0	0
Tratamento 6	9,0	5,0	0
Tratamento 7	9,0	0	5,0
Tratamento 8	9,0	5,0	5,0

^a n = 4 unidades de queijo Minas Frescal (aprox. 250 g cada) / tratamento.

4.2. CEPAS BACTERINAS

Cepas liofilizadas de *S. aureus* (ATCC 29213), *E. coli* (ATCC 25922) e os probióticos *L. rhamnosus*, *L. plantarum* (Lyofast SAB 440, SACCO Brasil) A e *L. acidophilus* (Lyofast LPR A, SACCO Brasil) disponíveis comercialmente foram utilizados neste estudo. A ativação de cada probiótico foi realizado seguindo as recomendações do fabricante (Sacco, Brasil). As cepas de *S. aureus* e *E. coli* foram ativadas por incubação em infusão BHI à 35°C por 48

horas. Depois deste período, as culturas foram diluídas utilizando a escala McFarland até a concentração aproximada de 10^9 células/ml de *L. rhamnosus*, *L. plantarum* e *L. acidophilus*, 10^5 células/ml de *S. aureus* e 10^5 células/ml de *E. coli*. Estas suspensões foram armazenadas à 3°C e reservadas para inoculação das superfícies dos queijos experimentais.

4.3. ELABORAÇÃO DO QUEIJO MINAS FRESCAL

O queijo Minas Frescal foi produzido no Laticínio-Escola da Universidade de São Paulo no Campus de Pirassununga. O leite cru foi pasteurizado (65°C por 30 minutos) em um tanque de aço inox com camisa dupla (Mec Milk, Brasil) e resfriado próximo à 34°C. Cloreto de cálcio (250 mg/l) e coalho líquido (4,5 ml/l Christian-Hansen, Brasil) foram adicionados ao leite pasteurizado e incubados à 34°C por aproximadamente 35 minutos. O coágulo foi cortado em pequenos cubos de aproximadamente 1,0 cm e manualmente misturado por 25 minutos. Com a retirada do soro e a massa coalhada foi removida do tanque e transferida para moldes (250 g). Os queijos foram salgados, invertidos três vezes em intervalos de 15 minutos e armazenados à 4°C por 24 horas. Após este período, os 32 queijos foram removidos dos moldes, pesados e imediatamente designados para os tratamentos do presente estudo e armazenados em estufa B.O.D. sob refrigeração a 7°C por 21 dias.

O leite pasteurizado utilizado na produção dos queijos foi analisado para coliformes, bactérias aeróbias e anaeróbias facultativas mesófilas e psicotróficas, *L. monocytogenes* e *S. aureus*. As análises microbiológicas foram realizadas de acordo com os procedimentos descritos pela AMERICAN

PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (2004). Para determinação de bactérias mesófilas e psicotróficas, alíquotas de 1 mL foram transferidas para tubos contendo 9 mL de água peptonada a 0,1% obtendo-se diluições decimais até 10^{-2} . Em seguida foi realizada a semeadura em meio de cultura Ágar Padrão para Contagem (PCA). As placas foram incubadas invertidas em estufa de cultura a 35°C por 48 horas (mesófilos) e a 7°C por 10 dias (psicotróficos). Para determinação de coliformes, após homogeneização foram selecionadas 3 diluições adequadas da amostra e alíquotas de 1 mL transferidas para tubos contendo caldo lauryl sulfato triptose (LST) contendo tubos de Duhran invertidos. Após incubação a 35°C por 48 horas, dos tubos que apresentaram turvação e produção de gás, foi realizado teste confirmativo para coliformes termotolerantes e confirmação de *E. coli*. A partir do número de tubos positivos, procedeu-se a leitura na tabela de MacGrady (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 2004), sendo os resultados expressos em número mais provável por mL de amostra (NMP/mL). A determinação da presença de *L. monocytogenes* e *S. aureus* no leite pasteurizado foi realizada semeando-se alíquotas de 0,1 mL da diluição 10^{-1} na superfície de ágar Oxford e Bair-Parker, respectivamente, seguida da incubação a 35°C por 48 horas (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 2004).

Microrganismos psicotróficos não foram detectados no leite pasteurizado, e a contagem média de mesófilos foi de $1,1 \times 10^2$ unidades formadoras de colônia (UFC)/ ml, indicando que o processo de pasteurização foi realizado com sucesso.

4.4. INOCULAÇÃO BACTERIANA NA SUPERFÍCIE DO QUEIJO

Durante a etapa final de processamento dos queijos foram inoculadas na superfície dos queijos Minas Frescal alíquotas de 3,0 mL de suspensão salina (0,85%) contendo *S. aureus* (10^5 UFC/ml), *E. coli* (10^5 UFC/ml) e a mistura probiótica (*L. rhamnosus*, *L. plantarum* e *L. acidophilus*, cada um a 10^9 UFC/ml). Este processo foi realizado de modo aleatorizado nos 8 tratamentos e 4 replicatas por tratamento. Os tratamentos foram: T1) Controle (0,85% solução salina estéril); T2) *E. coli*; T3) *S. aureus*; T4) *E. coli* e *S. aureus*; T5) Mistura probiótica; T6) *E. coli* seguido pela mistura probiótica; T7) *S. aureus* seguida pela mistura probiótica; e T8) *E. coli* seguida por *S. aureus* e a mistura probiótica. O processo de inoculação foi realizado em sob fluxo laminar, onde os queijos foram mergulhados em cada suspensão bacteriana por 30 segundos. Após a inoculação os queijos foram individualmente embalados à vácuo em sacos estéreis de polietileno e armazenados à 7°C por 21 dias.

4.5. ANÁLISE DE CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO QUEIJO

O impacto da adição dos probióticos nas características físico-químicas do queijo Minas Frescal foi avaliado pela análise em duplicata de amostras dos tratamentos T1 a T8. Amostras dos queijos armazenados coletados nos dias 1, 7, 14 e 21 foram submetidas a análises de pH, atividade de água, umidade, proteína total e gordura (LANARA, 1981; INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

4.6. ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DOS QUEIJOS

As análises para *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* e *S. enterica* no queijo Minas Frescal foram realizados em todos os tratamentos nos dias 1, 7, 14 e 21 de armazenamento. Alíquotas de 25 gramas foram removidas da superfície do queijo (profundidade de aproximadamente 2 centímetros) e pesadas em um saco plástico estéril. Após adição de 225ml de água peptonada à 0,1%, as amostras foram homogeneizadas em stomacher e 5 diluições seriais foram preparadas.

Para cada diluição seriada uma alíquota de 10 µg foi coletada e acondicionada em diferentes placas Compact Dry® (Nissui Pharmaceutical Co. Tokyo) para *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* e *S. entérica*, invertidas e armazenadas em estufa incubadora por 24 horas (+/- 2 horas) à 37°C (+/- 0,5°C) e subsequentemente lidas. Os diferentes microrganismos foram identificados de acordo com diferentes cores das colônias.

4.7. ANÁLISES ESTÁTISTICAS

O delineamento experimental utilizado (esquema fatorial 2 x 2 x 2) contemplou 8 tratamentos constituídos pela presença ou ausência de probióticos, *E. coli* ou *S. aureus*, analisados em 4 tempos de armazenagem (1, 7, 14 e 21 dias). As contagens de bactérias foram convertidas para log. Os resultados obtidos nas análises microbiológicas e físico-químicas foram submetidos à ANOVA de acordo com procedimentos estabelecidos de acordo com General Linear Model do SAS (Instituto SAS), para a verificação de

diferenças estatisticamente significativas nas variáveis estudadas nos queijos produzidos no experimento. Para a comparação entre as médias, quando aplicável, empregou-se o teste de Tukey, adotando-se, como nível de rejeição, $\alpha = 0,05$.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 2 apresenta os valores médios das características físico-químicas observadas nos queijos experimentais. Não houve efeito significativo ($P > 0,05$) dos tratamentos sobre os parâmetros físico-químicos analisados, demonstrando que adição dos probióticos não afetou as características do queijo Minas Frescal, em relação ao grupo controle.

Foi observado uma variação das médias de pH entre 6,60 e 6,71, atividade de água entre 0,98 e 0,99, teor de umidade entre 70,28 e 72,27, proteína entre 14,76 e 15,80 e gordura entre 10,86 e 11,32, durante o período experimental, contudo nenhuma destas variações foram estatisticamente diferentes ($P > 0,05$). Esses dados são coerentes com os encontrados por outros autores (BURITI; DA ROCHA; SAAD, 2005) que determinaram variação do pH de 6,1 a 5,3 durante os 21 dias do período de armazenamento. Com relação a atividade de água e o teor de umidade, os resultados também demonstram que não houve diferença estatística ($P > 0,05$) entre os diferentes tratamentos. Os teores de umidade encontrados no presente estudo estão em conformidade com a legislação brasileira em vigor.

Tabela 2 – Resultados das análises de pH, Aw, umidade, proteína e teor de gordura dos queijos Minas Frescal

Tratamento	pH	Aw	Umidade (%)	Proteína	Gordura (%)
T1	6,60±0.27	0,99±0.005	70,28±2.90	15,27±2,31	11,32±2.31
T2	6,64±0.25	0,99±0.005	70,55±1.82	15,31±1.76	11,28±1.42
T3	6,66±0.26	0,98±0.005	70,73±3.72	15,22±,2,42	10,86±2.04
T4	6,71±0.28	0,98±0.005	70,68±2.54	14,82±1,28	11,05±1.66
T5	6,69±0.26	0,99±0.005	70,70±3.27	14,76±1.24	10,97±1.81
T6	6,70±0.24	0,98±0.005	70,99±2.49	15,80±1,56	10,88±2.22
T7	6,65±0.27	0,98±0.005	71,36±3.19	14,92±1.44	11,27±1.74
T8	6,63±0.25	0,99±0.005	72,27±1.98	15,03±1.97	11,06±1.22

¹ Resultados expressos em médias ± desvio padrão de 4 amostras analisadas em duplicata nos dias 1, 7, 14 e 21 de armazenamento.

Não houve diferença significativa entre as médias de uma mesma coluna pelo teste de Tukey (P > 0,05).

As concentrações de proteína e o teor de gordura dos queijos não sofreram variações estatísticas significativas ao longo dos 21 dias de armazenamento e também estão em conformidade com a legislação brasileira. Na tabela 3 são apresentadas as contagens para *S. aureus*. Nos tratamentos 1, 2, 5 e 6 foi observada a ausência deste microrganismo, demonstrando a eficiência no tratamento térmico utilizado e a higiene no processo de produção, apesar de vários estudos indicarem que queijos Minas Frescal são contaminados com contagens de microrganismos acima do permitido pela legislação vigente (BRASIL, 2001).

Tabela 3 – Contagens de *S. aureus* (expressos em Log UFC/g) nos queijos Minas Frescal durante 21 dias de armazenamento¹

Tratamento	Dias de armazenamento			
	1	7	14	21
T1	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
T2	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
T3	3,96±0,04 ^a	4,82±0,18 ^b	4,84±0,21 ^b	4,83±0,25 ^b
T4	3,65±0,20 ^a	3,48±0,17 ^b	3,42±0,11 ^b	3,45±0,09 ^b
T5	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
T6	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
T7	3,52±0,36 ^a	2,38±0,12 ^b	2,32±0,27 ^b	2,29±0,20 ^b
T8	3,50±0,19 ^a	2,84±0,31 ^b	2,83±0,25 ^b	2,89±0,44 ^b

¹ Resultados expressos em média ± desvio padrão de 4 amostras analisadas em duplicata.

^{a,b} Médias seguidas de diferentes letras minúsculas nas colunas diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%.

^{A-C} Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas nas linhas diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%.

T1: Controle (solução salina estéril 0,85%); T2: *E. coli* (10⁵ unidades formadoras de colônia, UFC/mL); T3: *S. aureus* (10⁵ UFC/mL); T4: *E. coli* (10⁵ UFC/mL) e *S. aureus* (10⁵ UFC/mL); T5: Mistura probiótica (*L. rhamnosus*, *L. plantarum* e *L. acidophilus*, each one at 10⁹ UFC/mL); T6: *E. coli* (10⁵ UFC/mL) seguido por mistura probiótica; T7: *S. aureus* (10⁵ UFC /mL) seguido por e mistura probiótica e T8: *E. coli* (10⁵ UFC /mL), seguido por *S. aureus* (10⁵ UFC/mL) e mistura probiótica.

No tratamento 3 foi observado um crescimento aproximado de 1 log de *S. aureus* sem nenhuma competição. No tratamento 4, a presença de *S. aureus* e *E. coli* levou a uma leve inibição de *S. aureus* de aproximadamente 0,2 log quando comparado a contagem inicial a final, provavelmente devido a competição entre estes microrganismos.

A redução de 1,23 log de *S. aureus* foi observada no tratamento 7 após 21 dias de armazenamento, quando foi utilizado a mistura probiótica. Em estudo conduzido por PREZZI et al (2020) que utilizou somente *L. rhamnosus* foi observado uma redução de 1,89 log, sendo este resultado superior ao atingido no presente estudo. Em um estudo conduzido por KHALIL et al (2022) utilizando queijo tipo Domiati, uma redução em *S. aureus* através da utilização de *L. plantarum* também foi observada entre 0,9 a 1,6 log aproximadamente.

O tempo de vida de prateleira dos queijos, principalmente os do tipo Minas Frescal, está altamente ligado à qualidade da matéria-prima, o processo produtivo e a contagens de microrganismos presentes. Todos esses fatores podem inferir diretamente na higiene na fabricação do queijo.

No tratamento 8 foi observado uma redução no sétimo dia de armazenamento de 0,6 log que se manteve até o final dos 21 dias do estudo. Em experimento conduzido, utilizando queijo Mozzarella, MENG et al (2021) alcançou reduções de 5 a 7 log para *E. coli*, *L. monocytogenes*, *S. aureus* e *S. enteritidis*, essa redução foi atingida pelo uso de *L. acidophilus*, sendo estes resultados bem superiores aos atingidos no presente experimento.

Na figura 1 são apresentados os resultados das contagens de *S. aureus* para os diferentes tratamentos no período de 21 dias.

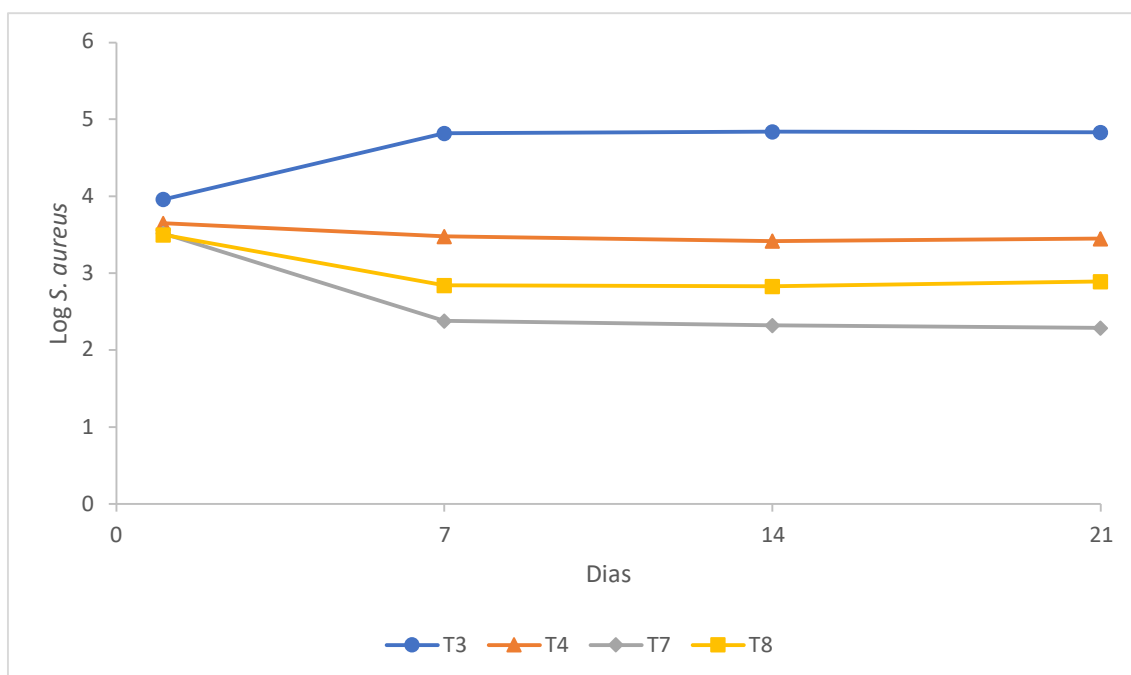


Figura 1 – Contagens de *S. aureus* (expressos em Log UFC/g) nos queijos Minas Frescal durante 21 dias de armazenamento.

O crescimento de *S. aureus* pode ser observado no tratamento 3, sem a presença da mistura probiótica e no tratamento 4 com a presença de *E. coli*. A ação da mistura probiótica sobre a inibição do crescimento de *S. aureus* pode ser observada nos tratamentos 7 e 8. GUEDES NETO et al. (2005) encontraram resultados parecidos avaliando *L. rhamnosus* e *L. lactis* para inibição do crescimento de *S. aureus* em testes *in vitro*. Já SERIDAN et al. (2012), ao estudarem o crescimento de *S. aureus* em queijos adicionados de *L. rhamnosus*, constataram que este microrganismo não foi capaz de impedir o desenvolvimento de *S. aureus*.

Na comparação entre os tratamentos 3 e 7, é possível observar a considerável diminuição na contagem de *S. aureus*. No tratamento 4 onde ambas as bactérias estudadas estavam presentes não foi observado um crescimento tão grande quando no tratamento 3, possivelmente pela

competição de nutrientes disponíveis. A maior redução de *S. aureus* observada foi atingida pelo tratamento 7.

Na tabela 4 as contagens para *E. coli* são apresentadas. Similarmente aos dados observados na tabela 2, nos tratamentos 1, 3, 5 e 7 não foi observada a presença de *E. coli*. A presença de *E. coli* e *S. aureus* sem a adição da mistura probiótica levou a uma redução inicial de 0,42 log no dia 7 de armazenamento e ao final do experimento uma redução de 0,36 log, conforme demonstrado pelo tratamento 4. A presença de *E. coli* nos queijos pode tornar este produto impróprio para consumo conforme seu tempo de armazenamento.

Em um estudo que utilizou *L. acidophilus* em queijo Mozzarella foi observado que *E. coli*, *S. aureus* e *S. typhimurium* foram inibidas, não sendo observadas após 15 dias de armazenamento (MUKHTAR; YAQUB; UL HAQ, 2020). Este estudo utilizou o probiótico microencapsulado e demonstrou resultados melhores aos obtidos no presente experimento, demonstrando o potencial tecnológico desta técnica para potencializar o uso de probióticos.

Para estudar o potencial inibitório de *E. coli*, *S. aureus* e *B. cereus* em queijo fresco, os probióticos *L. acidophilus* e *L. casei* foram utilizados. Foi observado que *E. coli* foi inibido pela presença de *L. acidophilus* em 1,5 log em 14 dias de armazenamento (HAFEZ; SOBEIH; MANSOUR, 2019) resultados levemente superiores aos obtidos no presente estudo.

Na figura 2 são apresentados os resultados das contagens de *E. coli* para os diferentes tratamentos no período de 21 dias. *E. coli* teve crescimento sem nenhuma competição no tratamento 2, enquanto no tratamento 4 *S. aureus* também estava presente, o que levou a uma menor presença de *E. coli* provavelmente pelo consumo de nutrientes disponíveis. A adição da mistura

probiótica foi realizada nos tratamentos 6 e 8, onde 6 teve a maior redução observada no experimento.

Tabela 4 – Contagens de *E. coli* (expressos em Log UFC/g) nos queijos Minas Frescal durante 21 dias de armazenamento¹

Tratamento	Dias de armazenamento			
	1	7	14	21
T1	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
T2	3,08 ±0,51 ^a	3,19 ±0,35 ^b	3,21 ±0,28 ^b	>3,38 ^c
T3	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
T4	3,06±0,20 ^a	2,64±0,84 ^b	2,66±0,11 ^b	2,70±0,14 ^b
T5	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
T6	3,06 ±0,26 ^a	2,20±0,64 ^b	1,96±0,48 ^c	1,59 ±0,32 ^d
T7	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
T8	3,05±0,19 ^a	2,38±0,12 ^b	2,32±0,27 ^b	2,29±0,20 ^b

¹ Resultados expressos em média ± desvio padrão de 4 amostras analisadas em duplicata.

^{a,b} Médias seguidas de diferentes letras minúsculas nas colunas diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%.

T1: Controle (solução salina estéril 0,85%); T2: *E. coli* (10⁵ unidades formadoras de colônia, UFC/mL); T3: *S. aureus* (10⁵ UFC/mL); T4: *E. coli* (10⁵ UFC/mL) e *S. aureus* (10⁵ UFC/mL); T5: Mistura probiótica (*L. rhamnosus*, *L. plantarum* e *L. acidophilus*, each one at 10⁹ UFC/mL); T6: *E. coli* (10⁵ UFC/mL) seguido mistura probiótica; T7: *S. aureus* (10⁵ UFC /mL) seguido por e mistura probiótica e T8: *E. coli* (10⁵ UFC /mL), seguido por *S. aureus* (10⁵ UFC/mL) e mistura probiótica.

A atividade antagônica dos probióticos deve estar restrita aos microrganismos patogênicos, e a inibição dessas bactérias imposta por competição por substrato é desejável. É importante que as culturas probióticas proporcionem atributos de proteção ao produto.

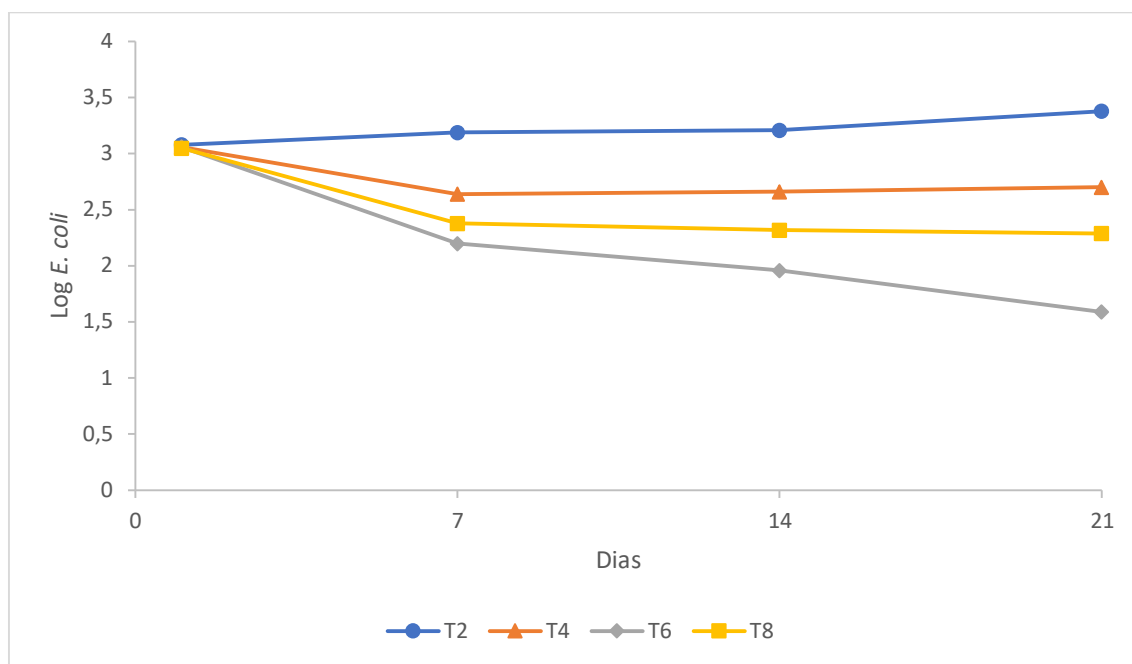


Figura 2 – Contagens de *E. coli* (expressos em Log UFC/g) nos queijos Minas Frescal durante 21 dias de armazenamento.

Não foi determinada a presença de *Listeria spp.* e *Salmonella*. ARAÚJO-RODRIGUES et al. (2021) demonstrou que a adição de *L. plantarum* em queijo levou a inibição para algumas cepas de *Listeria spp.*, *B. cereus*, *S. Choleraesuis* e *S. aureus*.

Diferentes cepas de *L. lactis* e *L. plantarum*, isoladas de produtos lácteos artesanais da Sardenha, foram utilizados em queijos experimentais fabricados a partir de leite ovino e contaminados com *L. monocytogenes*. Após um período de armazenamento de 7 dias à 10°C as contagens de *L. monocytogenes* foram

reduzidas em aproximadamente 3 a 4 log pela utilização destes probióticos (PISANO et al., 2022). De forma similar JESUS et al (2016) observaram que a presença de *L. acidophilus* e *B. lactis* em queijo Cottage com redução de sódio levou a concentrações de *L. monocytogenes* abaixo dos níveis de quantificação, enquanto esta bactéria teve crescimento observado nos queijos que não continham os probióticos.

A vantagem proporcionada pela concorrência por substrato por bactérias probióticas deve ser mais bem estudada para uma ampla aplicação nos laticínios.

6. CONCLUSÃO

Em função dos resultados obtidos no presente estudo e considerando os objetivos que foram propostos, conclui-se com relação aos queijos Minas Frescal armazenados por 21 dias a 7°C os seguintes itens:

- As variáveis físico-químicas dos queijos Minas Frescal experimentais que tiveram a adição de probióticos mantiveram-se semelhantes aos queijos sem adição da bactéria probiótica durante o armazenamento;
- A utilização de cultura probiótica apresenta um potencial para inibição de *E. coli* e/ou *S. aureus* na fabricação de queijos Minas Frescal.
- Futuros estudos são necessários para uma melhor compreensão dos mecanismos envolvidos e a determinação das dosagens ideais de inclusão dos probióticos.

7. BIBLIOGRAFIA

ABADÍA-GARCÍA, Lucía; CARDADOR, Anaberta; MARTÍN DEL CAMPO, Sandra T.; ARVÍZU, Sofía M.; CASTAÑO-TOSTADO, Eduardo; REGALADO-GONZÁLEZ, Carlos; GARCÍA-ALMENDAREZ, Blanca; AMAYA-LLANO, Silvia L. Influence of probiotic strains added to cottage cheese on generation of potentially antioxidant peptides, anti-listerial activity, and survival of probiotic microorganisms in simulated gastrointestinal conditions. **International Dairy Journal**, [S. l.], v. 33, n. 2, p. 191–197, 2013. DOI:

10.1016/j.idairyj.2013.04.005. Disponível em:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.04.005>.

ABDULLAH THAIDI, Nur Imanina; RIOS-SOLIS, Leonardo; HALIM, Murni.

Fermented Milk: The Most Famous Probiotic, Prebiotic, and Synbiotic Food Carrier. [s.l.] : Elsevier Inc., 2021. DOI: 10.1016/b978-0-12-819662-

5.00012-4. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819662-5.00012-4>.

AFONSO, R. B.; MOREIRA, R. H. R.; DE ALMEIDA, P. L. R. Can ozone be used as antimicrobial in the dairy industry? A systematic review. **Journal of Dairy Science**, [S. l.], v. 105, n. 2, p. 1051–1057, 2022. DOI: 10.3168/jds.2021-20900.

ARAÚJO-RODRIGUES, Helena; DOS SANTOS, Maria Teresa P. G.; RUIZ-MOYANO, Santiago; TAVARIA, Freni K.; MARTINS, António P. L.; ALVARENGA, Nuno; PINTADO, Manuela E. Technological and protective performance of LAB isolated from Serpa PDO cheese: Towards selection and development of an autochthonous starter culture. **Lwt**, [S. l.], v. 150, n. June, 2021. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.112079.

ARAÚJO, V. S.; PAGLIARES, V. A.; QUEIROZ, M. L. P.; FREITAS-ALMEIDA, A. C. Occurrence of Staphylococcus and enteropathogens in soft cheese commercialized in the city of Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Applied Microbiology**, [S. l.], v. 92, n. 6, p. 1172–1177, 2002. DOI: 10.1046/j.1365-2672.2002.01656.x.

ASPRI, Maria; FIELD, Des; COTTER, Paul D.; ROSS, Paul; HILL, Colin; PAPADEMAS, Photis. Application of bacteriocin-producing Enterococcus

faecium isolated from donkey milk, in the bio-control of *Listeria monocytogenes* in fresh whey cheese. **International Dairy Journal**, [S. l.], v. 73, p. 1–9, 2017.

DOI: 10.1016/j.idairyj.2017.04.008. Disponível em:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.idairyj.2017.04.008>.

BARANCELI, Giovana V; OLIVEIRA, Carlos A. F.; CORASSIN, Carlos H. Occurrence of *Escherichia coli* and Coliforms in Minas Cheese Plants from São Paulo, Brazil. **Advances in Dairy Research**, [S. l.], v. 02, n. 02, p. 2–5, 2015.

DOI: 10.4172/2329-888X.1000120. Disponível em:

<http://www.esciencecentral.org/journals/occurrence-of-escherichia-coli-and-coliforms-in-minas-cheese-plants-from-so-paulo-brazil-2329-888X.1000120.php?aid=32693>.

BRAHMA, Sandrayee; SADIQ, Muhammad Bilal; AHMAD, Imran. Probiotics in Functional Foods. *In*: **Reference Module in Food Science**. [s.l.] : Elsevier, 2019. p. 1–17. DOI: 10.1016/B978-0-08-100596-5.22368-8. Disponível em:

<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.22368-8>.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução – RDC no 12 de 2 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União, Brasília: 02 jan. 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria da Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade do leite e produtos lácteos. Portaria nº 352 de 04 de setembro de 1997. Diário Oficial da União de 08/09/1997, seção 01, p.19684. Brasília, 1997.

BURITI, Flávia C. A.; DA ROCHA, Juliana S.; SAAD, Susana M. I. Incorporation of *Lactobacillus acidophilus* in Minas fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties during storage. **International Dairy Journal**, [S. l.], v. 15, n. 12, p. 1279–1288, 2005. DOI: 10.1016/j.idairyj.2004.12.011.

CAMPAGNOLLO, Fernanda B. et al. Selection of indigenous lactic acid bacteria presenting anti-listerial activity, and their role in reducing the maturation period and assuring the safety of traditional Brazilian cheeses. **Food Microbiology**, [S. l.], v. 73, p. 288–297, 2018. DOI: 10.1016/j.fm.2018.02.006.

CAMPAGNOLLO, Fernanda B.; PEDROSA, Geany T. S.; KAMIMURA, Bruna A.; FURTADO, Marianna M.; BAPTISTA, Rafaela C.; NASCIMENTO, Henry M.; ALVARENGA, Verônica O.; MAGNANI, Marciane; SANT'ANA, Anderson S. Growth potential of three strains of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* in Frescal and semi-hard artisanal Minas microcheeses: Impact of the addition of lactic acid bacteria with antimicrobial activity. **Lwt**, [S. l.], v. 158, 2022. DOI: 10.1016/j.lwt.2022.113169.

CAMPOS, Maria Raquel Hidalgo; KIPNIS, André; ANDRÉ, Maria Cláudia Dantas Porfírio Borges; VIEIRA, Carla Atavila Da Silva; JAYME, Liana Borges; SANTOS, Patrícia Pimentel; SERAFINI, Álvaro Bisol. Caracterização fenotípica pelo antibiograma de cepas de *Escherichia coli* isoladas de manipuladores, de leite cru e de queijo “Minas Frescal” em um laticínio de Goiás, Brasil. **Ciencia Rural**, [S. l.], v. 36, n. 4, p. 1221–1227, 2006. DOI: 10.1590/S0103-84782006000400027.

CARRIQUE-MAS, J. J. et al. Febrile gastroenteritis after eating on-farm manufactured fresh cheese - An outbreak of listeriosis? **Epidemiology and Infection**, [S. l.], v. 130, n. 1, p. 79–86, 2003. DOI: 10.1017/S0950268802008014.

CARVALHO, Lucas Guzella; ALVIM, Mariana Massi Afonso; FABRI, Rodrigo Luiz; APOLÔNIO, Ana Carolina Moraes. *Staphylococcus aureus* biofilm formation in Minas Frescal cheese packaging. **International Journal of Dairy Technology**, [S. l.], v. 74, n. 3, p. 575–580, 2021. DOI: 10.1111/1471-0307.12783.

CHAVES DE LIMA, Elvira de Lourdes; DE MOURA FERNANDES, Janaína; CARDARELLI, Haíssa Roberta. Optimized fermentation of goat cheese whey with *Lactococcus lactis* for production of antilisterial bacteriocin-like substances. **LWT - Food Science and Technology**, [S. l.], v. 84, p. 710–716, 2017. DOI: 10.1016/j.lwt.2017.06.040. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2017.06.040>.

COELHO, M. C.; SILVA, C. C. G.; RIBEIRO, S. C.; DAPKEVICIUS, M. L. N. E.; ROSA, H. J. D. Control of *Listeria monocytogenes* in fresh cheese using protective lactic acid bacteria. **International Journal of Food Microbiology**,

[S. l.], v. 191, p. 53–59, 2014. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2014.08.029.

Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.08.029>.

CONDÉ, Patrícia Rodrigues; DE OLIVEIRA PINTO, Cláudia Lúcia; GANDRA, Scarlet Ohana; CAMPOS, Renata Cristina Almeida Bianchini; DA SILVA, Roselir Ribeiro; DA COSTA, Jhonatan Faria; MARTINS, Maurilio Lopes.

Identification of the contaminating psychrotrophic bacteria in refrigerated bulked raw milk and the assessment of their deteriorating potential. **Semina: Ciências**

Agrarias, [S. l.], v. 43, n. 2, p. 739–750, 2022. DOI: 10.5433/1679-0359.2022v43n2p739.

CRUZADO-BRAVO, Melina L. M.; BARANCELLI, Giovana V.; DINI ANDREOTE, Ana Paula; SALDAÑA, Erick; VIDAL-VEUTHEY, Boris; COLLADO, Luis; CONTRERAS-CASTILLO, Carmen J. Occurrence of *Arcobacter* spp. in Brazilian Minas Frescal cheese and raw cow milk and its association with microbiological and physicochemical parameters. **Food**

Control, [S. l.], v. 109, n. September 2019, p. 106904, 2020. DOI:

10.1016/j.foodcont.2019.106904. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106904>.

DANTAS, Aline B. et al. Manufacture of probiotic Minas Frescal cheese with *Lactobacillus casei* Zhang. **Journal of Dairy Science**, [S. l.], v. 99, n. 1, p. 18–30, 2016. DOI: 10.3168/jds.2015-9880. Disponível em:

<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-9880>.

DE OLIVEIRA, Carlos Augusto F.; CORASSIN, Carlos H.; LEE, Sarah H. I.; GONÇALVES, Bruna L.; BARANCELLI, Giovana V. Pathogenic Bacteria in Cheese, Their Implications for Human Health and Prevention Strategies. *In*:

Nutrients in Dairy and their Implications on Health and Disease. [s.l.] :

Elsevier, 2017. p. 61–75. DOI: 10.1016/B978-0-12-809762-5.00005-X.

Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-809762-5.00005-X>.

DE SOUZA DA MOTTA, Amanda; NESPOLO, Cássia Regina; BREYER, Gabriela Merker. Probiotics in milk and dairy foods. **Probiotics: Advanced Food and Health Applications**, [S. l.], p. 103–128, 2021. DOI: 10.1016/B978-0-323-85170-1.00004-X.

DITTMANN, Karen K.; CHAUL, Luíza T.; LEE, Sarah H. I.; CORASSIN, Carlos

H.; DE OLIVEIRA, Carlos A. Fernande.; DE MARTINIS, Elaine C. Pereir.; ALVES, Virgínia F.; GRAM, Lone; OXARAN, Virginie. Staphylococcus aureus in some Brazilian dairy industries: Changes of contamination and diversity.

Frontiers in Microbiology, [S. l.], v. 8, n. OCT, p. 1–12, 2017. DOI: 10.3389/fmicb.2017.02049.

DOS SANTOS, Marcelo Ament Giuliani; CASTELANI, Livia; MITSUNAGA, Thatiane Mendes; SOARES, Weber Vilas Boas; GIGLIOTI, Rodrigo; JÚNIOR, Luiz Carlos Roma. Evaluation of forestripping milk and its effects on milk quality. **Acta Veterinaria Brasilica**, [S. l.], v. 16, n. 1, p. 47–52, 2022. DOI: 10.21708/avb.2022.16.1.10334.

EL-BAKRY, Mamdouh; MEHTA, Bhavbhuti M. Overview of processed cheese and its products. **Processed Cheese Science and Technology**, [S. l.], p. 1–28, 2022. DOI: 10.1016/b978-0-12-821445-9.00006-6.

EL-SABER BATIHA, Gaber et al. Application of natural antimicrobials in food preservation: Recent views. **Food Control**, [S. l.], v. 126, n. March, 2021. DOI: 10.1016/j.foodcont.2021.108066.

FANIN, Mauricio; DOS SANTOS, Isabela Carvalho; GEROTTI, Geysiane Moreira; DE CUFFA MATUSAIKI, Camila; GONÇALVES, Daniela Dib; DE BRITO, Benito Guimarães; DE BRITO, Kelly Cristina Tagliari; BOEIRA, Jessika Fernanda; OTUTUMI, Luciana Kazue. Classification of dairy properties according to the geometric mean of the somatic cell count and its antimicrobial resistance profile. **Semina: Ciências Agrárias**, [S. l.], v. 43, n. 1, p. 141–157, 2022. DOI: 10.5433/1679-0359.2022v43n1p141.

GAO, Jie; LI, Xiyu; ZHANG, Guohua; SADIQ, Faizan Ahmed; SIMAL-GANDARA, Jesus; XIAO, Jianbo; SANG, Yaxin. Probiotics in the dairy industry—Advances and opportunities. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, [S. l.], v. 20, n. 4, p. 3937–3982, 2021. DOI: 10.1111/1541-4337.12755.

GHATTARGI, Vikas C.; SHOUCHE, Yogesh S.; DHAKEPHALKAR, Prashant K.; RAO, Praveen; RAMANA, Venkata; DHOTRE, Dhiraj P.; LANJEKAR, Vikram B. Probiotics: A Mainstream Therapy for the Disease Suppression. *In: Reference Module in Food Science*. [s.l.] : Elsevier, 2022. p. 1–17. DOI:

10.1016/B978-0-12-819265-8.00008-5. Disponível em:
<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-819265-8.00008-5>.

GOULDING, D. A.; FOX, P. F.; O'MAHONY, J. A. **Milk proteins: An overview**. [s.l: s.n.]. DOI: 10.1016/B978-0-12-815251-5.00002-5.

GUEDES NETO, L. G.; SOUZA, M. R.; NUNES, A. C.; NICOLI, J. R.; SANTOS, W. L. M. Atividade antimicrobiana de bactérias ácido-lácticas isoladas de queijos de coalho artesanal e industrial frente a microrganismos indicadores. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [S. l.], v. 57, n. suppl 2, p. 245–250, 2005. DOI: 10.1590/s0102-09352005000800017.

HAFEZ, Yaser; SOBEIH, Azza; MANSOUR, Nehal. PIVOTAL ROLE OF LACTOBACILLUS STRAINS IN IMPROVEMENT OF SOFT CHEESE QUALITY AND INHIBITING THE GROWTH OF HARMFUL AND DANGEROUS BACTERIAL PATHOGENS. **SLOVENIAN VETERINARY RESEARCH**, [S. l.], v. 56, n. 22- Suppl, p. 657–663, 2019. DOI: 10.26873/SVR-804-2019. Disponível em: <https://slovetres.si/index.php/SVR/article/view/804>.

HEREDIA-CASTRO, Priscilia Y.; MÉNDEZ-ROMERO, José I.; HERNÁNDEZ-MENDOZA, Adrián; ACEDO-FÉLIX, Evelia; GONZÁLEZ-CÓRDOVA, Aarón F.; VALLEJO-CORDOBA, Belinda. Antimicrobial activity and partial characterization of bacteriocin-like inhibitory substances produced by *Lactobacillus* spp. isolated from artisanal Mexican cheese. **Journal of Dairy Science**, [S. l.], v. 98, n. 12, p. 8285–8293, 2015. DOI: 10.3168/jds.2015-10104.

HILL, Colin et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, [S. l.], v. 11, n. 8, p. 506–514, 2014. DOI: 10.1038/nrgastro.2014.66. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/nrgastro.2014.66>.

HOSSAIN, Md Iqbal; SADEKUZZAMAN, Mohammad; HA, Sang-Do. Probiotics as potential alternative biocontrol agents in the agriculture and food industries: A review. **Food Research International**, [S. l.], v. 100, n. Pt 1, p. 63–73, 2017. DOI: 10.1016/j.foodres.2017.07.077. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.077>.

HUSSAIN, Nazar; TARIQ, Muhammad; SARIS, Per Erik Joakim; ZAIDI, Arsalan. Evaluation of the probiotic and postbiotic potential of lactic acid bacteria from artisanal dairy products against pathogens. **Journal of Infection in Developing Countries**, [S. l.], v. 15, n. 1, p. 102–112, 2021. DOI: 10.3855/jidc.13404.

IBRAHIM, Salam A.; AYIVI, Raphael D.; ZIMMERMAN, Tahl; SIDDIQUI, Shahida Anusha; ALTEMIMI, Ammar B.; FIDAN, Hafize; ESATBEYOGLU, Tuba; BAKHSHAYESH, Reza Vaseghi. Lactic acid bacteria as antimicrobial agents: Food safety and microbial food spoilage prevention. **Foods**, [S. l.], v. 10, n. 12, p. 1–13, 2021. DOI: 10.3390/foods10123131.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas analíticas de Instituto Adolfo Lutz. 4. ed. Sao Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2005. 1018 p.

IZQUIERDO, Esther; MARCHIONI, Eric; AOUDE-WERNER, Dalal; HASSELMANN, Claude; ENNAHAR, Saïd. Smearing of soft cheese with *Enterococcus faecium* WHE 81, a multi-bacteriocin producer, against *Listeria monocytogenes*. **Food Microbiology**, [S. l.], v. 26, n. 1, p. 16–20, 2009. DOI: 10.1016/j.fm.2008.08.002.

JESUS, Ana Laura T.; FERNANDES, Meg S.; KAMIMURA, Bruna A.; PRADO-SILVA, Leonardo; SILVA, Ramon; ESMERINO, Erick A.; CRUZ, Adriano G.; SANT'ANA, Anderson S. Growth potential of *Listeria monocytogenes* in probiotic cottage cheese formulations with reduced sodium content. **Food Research International**, [S. l.], v. 81, p. 180–187, 2016. DOI: 10.1016/j.foodres.2015.12.030. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2015.12.030>.

KELLY, A. L.; BACH LARSEN, L. **Milk biochemistry**. [s.l.] : Woodhead Publishing Limited, 2010. v. 1 DOI: 10.1533/9781845699420.1.3. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1533/9781845699420.1.3>.

KHALIL, Noha; KHEADR, Ehab; EL-ZINEY, Mohamed; DABOUR, Nassra. *Lactobacillus plantarum* protective cultures to improve safety and quality of wheyless Domiati-like cheese. **Journal of Food Processing and Preservation**, [S. l.], v. 46, n. 4, p. 1–14, 2022. DOI: 10.1111/jfpp.16416.

KHANASHYAM, Anandu Chandra; SHANKER, M. Anjaly; KOTHAKOTA,

Anjineyulu; MAHANTI, Naveen Kumar; PANDISELVAM, R. Ozone Applications in Milk and Meat Industry. **Ozone: Science and Engineering**, [S. l.], v. 44, n. 1, p. 50–65, 2022. DOI: 10.1080/01919512.2021.1947776. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/01919512.2021.1947776>.

LI, Qingxiang; YU, Shuna; HAN, Jinzhi; WU, Jiulin; YOU, Lijun; SHI, Xiaodan; WANG, Shaoyun. Synergistic antibacterial activity and mechanism of action of nisin/carvacrol combination against *Staphylococcus aureus* and their application in the infecting pasteurized milk. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 380, n. December 2021, p. 132009, 2022. DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.132009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.132009>.

LIU, L.; O'CONNOR, P.; COTTER, P. D.; HILL, C.; ROSS, R. P. Controlling *Listeria monocytogenes* in Cottage cheese through heterologous production of enterocin a by *Lactococcus lactis*. **Journal of Applied Microbiology**, [S. l.], v. 104, n. 4, p. 1059–1066, 2008. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2007.03640.x.

LUZ, Carlos; QUILES, Juan M.; ROMANO, Raffaele; BLAIOTTA, Giuseppe; RODRÍGUEZ, Lorena; MECA, Giuseppe. Application of whey of Mozzarella di Bufala Campana fermented by lactic acid bacteria as a bread biopreservative agent. **International Journal of Food Science and Technology**, [S. l.], v. 56, n. 9, p. 4585–4593, 2021. DOI: 10.1111/ijfs.15092.

MACDONALD, H. Bishop. **The role of milk in the diet**. [s.l.] : Woodhead Publishing Limited, 2010. DOI: 10.1533/9781845699437.1.3. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1533/9781845699437.1.3>.

MADUREIRA, A. Raquel; PINTADO, Manuela E.; GOMES, Ana M. P.; MALCATA, F. Xavier. Incorporation of probiotic bacteria in whey cheese: Decreasing the risk of microbial contamination. **Journal of Food Protection**, [S. l.], v. 74, n. 7, p. 1194–1199, 2011. DOI: 10.4315/0362-028X.JFP-10-217.

MAIA, Darla Silveira Volcan; HAUBERT, Louise; DOS SANTOS SOARES, Kauana; DE FÁTIMA RAUBER WÜRFEL, Simone; DA SILVA, Wladimir Padilha. *Butia odorata* Barb. Rodr. extract inhibiting the growth of *Escherichia coli* in sliced mozzarella cheese. **Journal of Food Science and Technology**, [S. l.], v. 56, n. 3, p. 1663–1668, 2019. DOI: 10.1007/s13197-019-03686-w.

MARKOWIAK, Paulina; ŚLIŻEWSKA, Katarzyna. Effects of Probiotics,

Prebiotics, and Synbiotics on Human Health. **Nutrients**, [S. l.], v. 9, n. 9, p. 1021, 2017. DOI: 10.3390/nu9091021. Disponível em: <http://www.mdpi.com/2072-6643/9/9/1021>.

MARQUES, Juliana de Lima et al. Evaluation of probiotic potential of *Pediococcus pentosaceus* isolates and application in Minas Frescal cheese. **Journal of Food Processing and Preservation**, [S. l.], v. 46, n. 1, p. 1–10, 2022. DOI: 10.1111/jfpp.16166.

MARTÍN, Irene; RODRÍGUEZ, Alicia; ALÍA, Alberto; MARTÍNEZ-BLANCO, Mónica; LOZANO-OJALVO, Daniel; CÓRDOBA, Juan J. Control of *Listeria monocytogenes* growth and virulence in a traditional soft cheese model system based on lactic acid bacteria and a whey protein hydrolysate with antimicrobial activity. **International Journal of Food Microbiology**, [S. l.], v. 361, n. October 2021, 2022. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109444.

MENDOZA-YEPES, Maria J.; ABELLAN-LOPEZ, Olga; CARRION-ORTEGA, Jose; MARIN-INIESTA, Fulgencio. Inhibition of *Listeria monocytogenes* and other bacteria in Spanish soft cheese made with *Lactococcus lactis* subsp. *Diacetylactis*. **Journal of Food Safety**, [S. l.], v. 19, n. 3, p. 161–170, 1999. DOI: 10.1111/j.1745-4565.1999.tb00242.x. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1745-4565.1999.tb00242.x>.

MENG, Fanqiang; ZHU, Xiaoyu; ZHAO, Haizhen; NIE, Ting; LU, Fengxia; LU, Zhaoxin; LU, Yingjian. A class III bacteriocin with broad-spectrum antibacterial activity from *Lactobacillus acidophilus* NX2-6 and its preservation in milk and cheese. **Food Control**, [S. l.], v. 121, n. July 2020, p. 107597, 2021. DOI: 10.1016/j.foodcont.2020.107597. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107597>.

MOHAMMED, Sarhan; ÇON, Ahmet Hilmi. Isolation and characterization of potential probiotic lactic acid bacteria from traditional cheese. **Lwt**, [S. l.], v. 152, n. August, p. 112319, 2021. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.112319. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112319>.

MORANDI, S.; BRASCA, M. Safety aspects, genetic diversity and technological characterisation of wild-type *Streptococcus thermophilus* strains isolated from north Italian traditional cheeses. **Food Control**, [S. l.], v. 23, n. 1, p. 203–209,

2012. DOI: 10.1016/j.foodcont.2011.07.011. Disponível em:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.07.011>.

MORANDI, Stefano; SILVETTI, Tiziana; VEZZINI, Vito; MOROZZO, Elena; BRASCA, Milena. How we can improve the antimicrobial performances of lactic acid bacteria? A new strategy to control *Listeria monocytogenes* in Gorgonzola cheese. **Food Microbiology**, [S. l.], v. 90, n. March, p. 103488, 2020. DOI: 10.1016/j.fm.2020.103488. Disponível em:
<https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103488>.

MOTALEBI MOGHANJOUGI, Zahra; REZAZADEH BARI, Mahmoud; ALIZADEH KHALEDABAD, Mohammad; ALMASI, Hadi; AMIRI, Saber. Bio-preservation of white brined cheese (Feta) by using probiotic bacteria immobilized in bacterial cellulose: Optimization by response surface method and characterization. **LWT**, [S. l.], v. 117, n. September 2019, p. 108603, 2020. DOI: 10.1016/j.lwt.2019.108603. Disponível em:
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108603>.

MOUSAVI KHANEGHAH, Amin et al. Interactions between probiotics and pathogenic microorganisms in hosts and foods: A review. **Trends in Food Science & Technology**, [S. l.], v. 95, n. June 2019, p. 205–218, 2020. DOI: 10.1016/j.tifs.2019.11.022. Disponível em:
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.11.022>.

MUDGIL, Priti; ALDHAHERI, Fatima; HAMDANI, Marwa; PUNIA, Sneha; MAQSOOD, Sajid. Fortification of Chami (traditional soft cheese) with probiotic-loaded protein and starch microparticles: Characterization, bioactive properties, and storage stability. **Lwt**, [S. l.], v. 158, p. 113036, 2022. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.113036. Disponível em:
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.113036>.

MUKHTAR, Hamid; YAQUB, Saima; UL HAQ, Ikram. Production of probiotic Mozzarella cheese by incorporating locally isolated *Lactobacillus acidophilus*. **Annals of Microbiology**, [S. l.], v. 70, n. 1, 2020. DOI: 10.1186/s13213-020-01592-7.

MUSHTAQ, Mehvesh; GANI, Adil; MASOODI, F. A. Himalayan cheese (Kalari/Kradi) fermented with different probiotic strains: In vitro investigation of

nutraceutical properties. **Lwt**, [S. l.], v. 104, n. November 2018, p. 53–60, 2019. DOI: 10.1016/j.lwt.2019.01.024. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.01.024>.

MUSHTAQ, Mehvesh; GANI, Adil; NOOR, Nairah; MASOODI, F. A. Phenotypic and probiotic characterization of isolated LAB from Himalayan cheese (Kradi/Kalari) and effect of simulated gastrointestinal digestion on its bioactivity. **Lwt**, [S. l.], v. 149, n. May, p. 111669, 2021. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.111669.

Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111669>.

OKURA, Mônica Hitomi; MARIN, José Moacir. Survey of Minas Frescal cheese from Southwest Minas Gerais for virulence factors and antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolates. **Ciência Rural**, [S. l.], v. 44, n. 8, p. 1506–1511, 2014. DOI: 10.1590/0103-8478cr20131237. Disponível em:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782014000801506&lng=en&tlng=en.

OLIVEIRA, C. A.; MORENO, J. F.G.; MESTIERI, L.; GERMANO, P. M. L. Características físico-químicas e microbiológica de queijos minas Frescal e mussarela, produzidos em algumas fábricas de laticínios do estado de São Paulo. *Revista Higiene Alimentar, Mirandópolis*, v. 12, n. 55, p. 31-35, 1998.

OLIVEIRA, Monike da Silva; SANTOS, Isac Gabriel Cunha Dos; DIAS, Bianca Pereira; NASCIMENTO, Cristiane Alves; RODRIGUES, Ézio Machado; RIBEIRO JÚNIOR, José Carlos; ALFIERI, Amauri Alcindo; ALEXANDRINO, Bruna. Hygienic-health quality and microbiological hazard of clandestine Minas Frescal cheese commercialized in north Tocantins, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, [S. l.], v. 42, n. 2, p. 679–694, 2021. DOI: 10.5433/1679-

0359.2021v42n2p679. Disponível em:

<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/41052>.

ORTOLANI, M. B. T.; MORAES, P. M.; PERIN, L. M.; VIÇOSA, G. N.; CARVALHO, K. G.; SILVA JÚNIOR, A.; NERO, L. A. Molecular identification of naturally occurring bacteriocinogenic and bacteriocinogenic-like lactic acid bacteria in raw milk and soft cheese. **Journal of Dairy Science**, [S. l.], v. 93, n. 7, p. 2880–2886, 2010. DOI: 10.3168/jds.2009-3000. Disponível em:

<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2009-3000>.

PERIN, Luana M.; PEREIRA, Juliano G.; BERSOT, Luciano S.; NERO, Luís A. **The microbiology of raw milk**. [s.l.] : Elsevier Inc., 2018. DOI: 10.1016/B978-0-12-810530-6.00003-1. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-810530-6.00003-1>.

PICOLI, Simone Ulrich; BESSA, Marjo Cado; CASTAGNA, Sandra Maria Ferraz; GOTTARDI, Carina Philomena Tebich; SCHMIDT, Verônica; CARDOSO, Marisa. Quantificação de coliformes, *Staphylococcus aureus* e mesófilos presentes em diferentes etapas da produção de queijo Frescal de leite de cabra em laticínios. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [S. l.], v. 26, n. 1, p. 64–69, 2006. DOI: 10.1590/S0101-20612006000100011. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612006000100011&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt.

PISANO, Maria Barbara; FADDA, Maria Elisabetta; VIALE, Silvia; DEPLANO, Maura; MEREU, Federica; BLAŽIĆ, Marijana; COSENTINO, Sofia. Inhibitory Effect of *Lactiplantibacillus plantarum* and *Lactococcus lactis* Autochthonous Strains against *Listeria monocytogenes* in a Laboratory Cheese Model. **Foods**, [S. l.], v. 11, n. 5, p. 715, 2022. DOI: 10.3390/foods11050715. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/11/5/715>.

PREZZI, Ligia E. et al. Effect of *Lactobacillus rhamnosus* on growth of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in a probiotic Minas Frescal cheese. **Food Microbiology**, [S. l.], v. 92, n. April, p. 103557, 2020. DOI: 10.1016/j.fm.2020.103557. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103557>.

PUREVDORJ, Khatantuul; BUŇKOVÁ, Leona; DLABAJOVÁ, Andrea; ČECHOVÁ, Erika; PACHLOVÁ, Vendula; BUŇKA, František. The impact of cell-free supernatants of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* strains on the tyramine formation of *Lactobacillus* and *Lactiplantibacillus* strains isolated from cheese and beer. **Food Microbiology**, [S. l.], v. 99, n. April, 2021. DOI: 10.1016/j.fm.2021.103813.

REVIRIEGO, C.; FERNÁNDEZ, L.; RODRÍGUEZ, J. M. A food-grade system for production of pediocin PA-1 in nisin-producing and non-nisin-producing *Lactococcus lactis* strains: Application to inhibit *Listeria* growth in a cheese

model system. **Journal of Food Protection**, [S. l.], v. 70, n. 11, p. 2512–2517, 2007. DOI: 10.4315/0362-028X-70.11.2512.

RIBEIRO, Eliana Paula; SIMÕES, Luciana Guedes; JURKIEWICZ, Cynthia Hyppolito. Desenvolvimento de queijo minas Frescal adicionado de *Lactobacillus acidophilus* produzido a partir de retentados de ultrafiltração. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, [S. l.], v. 29, n. 1, p. 19–23, 2009. DOI: 10.1590/S0101-20612009000100004.

RODRÍGUEZ, E.; CALZADA, J.; ARQUÉS, J. L.; RODRÍGUEZ, J. M.; NUÑEZ, M.; MEDINA, M. Antimicrobial activity of pediocin-producing *Lactococcus lactis* on *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157:H7 in cheese. **International Dairy Journal**, [S. l.], v. 15, n. 1, p. 51–57, 2005. DOI: 10.1016/j.idairyj.2004.05.004.

ROSARIO, Anisio I. L. S.; CASTRO, Vinicius S.; SANTOS, Luis F.; LISBOA, Rodrigo C.; VALLIM, Deyse C.; SILVA, Maurício C. A.; FIGUEIREDO, Eduardo E. S.; CONTE-JUNIOR, Carlos A.; COSTA, Marion P. Shiga toxin–producing *Escherichia coli* isolated from pasteurized dairy products from Bahia, Brazil. **Journal of Dairy Science**, [S. l.], v. 104, n. 6, p. 6535–6547, 2021. DOI: 10.3168/jds.2020-19511. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002203022100429X>.

RUL, Françoise; ZAGOREC, Monique; CHAMPOMIER-VERGÉS, Marie Christine. **Lactic acid bacteria in fermented foods**. [s.l.] : Elsevier Inc., 2013. DOI: 10.1007/978-1-4614-5626-1_15. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-822909-5/00024-1>.

SAIDI, Navid; OWLIA, Parviz; MARASHI, Seyed Mahmoud Amin; SADARI, Horieh. Inhibitory effect of probiotic yeast *Saccharomyces cerevisiae* on biofilm formation and expression of α -hemolysin and enterotoxin A genes of *Staphylococcus aureus*. **Iranian Journal of Microbiology**, [S. l.], v. 11, n. 3, p. 246–254, 2019. DOI: 10.18502/ijm.v11i3.1331. Disponível em: <https://publish.kne-publishing.com/index.php/IJM/article/view/1331>.

SANTOS, Manelina Nunes Dos; OLIVEIRA, Gustavo Gomes De; FRAGA, Thiago Leite. Qualitative analysis of microbiological reports of Minas Frescal Cheese observed in a dairy from 2017 to 2020 in the municipality of Dourados-

MS. **International Journal of Advanced Engineering Research and Science**, [S. l.], v. 8, n. 4, p. 290–301, 2021. DOI: 10.22161/ijaers.84.35.

SERIDAN, B.; SOUZA, M. R.; NICOLI, J. R.; CARMO, L. S.; MENEZES, L. D. M.; OLIVEIRA, D. L. S.; ANDRADE, E. H. P. Viabilidade de *Staphylococcus aureus* FRI S-6 e produção de SEB em queijo elaborado com adição de *Lactobacillus rhamnosus* e *Lactococcus lactis*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [S. l.], v. 64, n. 2, p. 465–470, 2012. DOI: 10.1590/S0102-09352012000200029.

SKEIE, S. **Milk quality requirements for cheesemaking**. [s.l.] : Woodhead Publishing Limited, 2010. DOI: 10.1533/9781845699437.3.432. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1533/9781845699437.3.432>.

STOBIECKA, Magdalena; KRÓL, Jolanta; BRODZIAK, Aneta. Antioxidant Activity of Milk and Dairy Products. **Animals**, [S. l.], v. 12, n. 3, p. 245, 2022. DOI: 10.3390/ani12030245.

TE GIFFEL, M. C.; WELLS-BENNIK, M. H. J. **Good hygienic practice in milk production and processing**. [s.l.] : Woodhead Publishing Limited, 2010. v. 1 DOI: 10.1533/9781845699420.2.179. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1533/9781845699420.2.179>.

TIRLONI, Erica; BERNARDI, Cristian; GHELARDI, Emilia; CELANDRONI, Francesco; ANDRIGHETTO, Christian; ROTA, Nicola; STELLA, Simone. Biopreservation as a potential hurdle for *Bacillus cereus* growth in fresh cheese. **Journal of Dairy Science**, [S. l.], v. 103, n. 1, p. 150–160, 2020. DOI: 10.3168/jds.2019-16739. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2019-16739>.

TODOROV, Svetoslav Dimitrov; HOLZAPFEL, Wilhelm Heinrich; NERO, Luis Augusto. Safety evaluation and bacteriocinogenic potential of *Pediococcus acidilactici* strains isolated from artisanal cheeses. **Lwt**, [S. l.], v. 139, n. August 2020, p. 110550, 2021. DOI: 10.1016/j.lwt.2020.110550. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110550>.

TOPISIROVIC, Ljubisa; KOJIC, Milan; FIRA, Djordje; GOLIC, Natasa; STRAHINIC, Ivana; LOZO, Jelena. Potential of lactic acid bacteria isolated from specific natural niches in food production and preservation. **International**

Journal of Food Microbiology, [S. l.], v. 112, n. 3, p. 230–235, 2006. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2006.04.009.

ULPATHAKUMBURA, C. P.; RANADHEERA, C. Senaka; SENAVIRATHNE, N. D.; JAYAWARDENE, L. P. I. N. P.; PRASANNA, P. H. P.; VIDANARACHCHI, Janak K. Effect of biopreservatives on microbial, physico-chemical and sensory properties of Cheddar cheese. **Food Bioscience**, [S. l.], v. 13, p. 21–25, 2016. DOI: 10.1016/j.fbio.2015.12.003. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbio.2015.12.003>.

VICTOR, João; CAMPOS, Ferreira; RESENDE, Luiza Camattari; BASTOS, Acácio Freire; SILVA, Mariana Oliveira; ACURCIO, Leonardo Borges. Search for *Staphylococcus* spp . in “ Minas Frescal ” cheeses made with raw milk and commercialized in the city of Formiga - MG. [S. l.], v. 13, p. 1–5, 2021. DOI: 10.35699/2447-6218.2021.32993.

WANG, Xinmiao; DEMIRCI, Ali; GRAVES, Robert E.; PURI, Virendra M. **Conventional and emerging clean-in-place methods for the milking systems**. [s.l.] : Elsevier Inc., 2018. DOI: 10.1016/B978-0-12-810530-6.00005-5. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-810530-6.00005-5>.

WOCHNER, Katia Francine; BECKER-ALGERI, Tânia Aparecida; COLLA, Eliane; BADIALE-FURLONG, Eliana; DRUNKLER, Deisy Alessandra. The action of probiotic microorganisms on chemical contaminants in milk. **Critical Reviews in Microbiology**, [S. l.], v. 44, n. 1, p. 112–123, 2018. DOI: 10.1080/1040841X.2017.1329275. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/1040841X.2017.1329275>.

ZOUMPOPOULOU, Georgia et al. The microbiota of Kalathaki and Melichloro Greek artisanal cheeses comprises functional lactic acid bacteria. **Lwt**, [S. l.], v. 130, n. May, p. 109570, 2020. DOI: 10.1016/j.lwt.2020.109570. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109570>.