

# POTENCIAL BIOPROTETOR DE *Latilactobacillus sakei* EM QUEIJO MINAS FRESCAL

Aline Moura Freire<sup>1</sup>, Maurilio Lopes Martins<sup>1</sup>, José Manoel Martins<sup>1</sup>, Nataly de Almeida Costa<sup>1</sup>, Wellingta C. A. do N. Benevenuto<sup>1</sup>, Bruno Ricardo de Castro Leite Júnior<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos (DCTA/IF Sudeste MG), Campus Rio Pomba; <sup>2</sup>Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA, UFV)

Contato/email: [bruno.leitejr@ufv.br](mailto:bruno.leitejr@ufv.br)

<https://doi.org/10.5281/zenodo.20110571>



*Latilactobacillus sakei* contribui para a estabilidade microbiológica do queijo Minas Frescal, mas não inibe *Escherichia coli*. A biopreservação é barreira complementar e não substitui o rigoroso controle higiênico-sanitário.

## INTRODUÇÃO

O queijo Minas Frescal apresenta elevada atividade de água e pH próximo à neutralidade, fatores que favorecem a multiplicação de microrganismos deteriorantes e patogênicos (Villas Boas *et al.*, 2020). Embora o rigor higiênico e a refrigeração sejam fundamentais, tecnologias como a biopreservação surgem como estratégias complementares para ampliar a segurança e a vida útil do produto. Essa tendência é impulsionada pelo movimento *clean label*, no qual consumidores demonstram crescente preferência por alimentos livres de aditivos químicos, fomentando o desenvolvimento de culturas bacterianas bioprotetoras.

Nesse cenário, as bactérias lácticas (BAL) destacam-se pela produção de metabólitos antimicrobianos. Estudos recentes indicam o potencial bioprotetor de *Latilactobacillus sakei* em diferentes matrizes alimentares (Barbieri *et al.*, 2022). Diante disso, este trabalho avaliou a eficácia da estirpe comercial LALCULT® Protect LS100 como barreira biológica, bem como sua influência sobre *E. coli* inoculada.

## DESENVOLVIMENTO E DISCUSSÃO

### Material e Métodos

Foram realizados quatro tratamentos experimentais, conduzidos em três repetições. A produção dos queijos Minas Frescal dos experimentos seguiu as etapas de fabricação adaptadas de Furtado (2022), conforme representado na Figura 1.

**Figura 1 - Fluxograma de fabricação e tratamentos aplicados aos queijos Minas Frescal do experimento.**



Fonte: próprio autor.

A cultura de *L. sakei* (LALCULT® Protect LS100) foi fornecida pela Globalfood®, sendo utilizada na contagem de  $10^8$  UFC/mL no leite pasteurizado destinado a produção dos queijos. Nos tratamentos com *E. coli*, utilizou-se suspensão padronizada da cepa ATCC 11775. O inóculo foi preparado a partir de cultura ativada em caldo BHI (37 °C/24 h), seguida de isolamento em meio sólido. Colônias foram então suspensas em solução salina estéril (0,85%) e ajustadas ao padrão 0,5 de McFarland ( $1,5 \times 10^8$  UFC/mL).

Foram realizadas análises microbiológicas de acordo com as metodologias oficiais da Food and Drug Administration (FDA, 2023), conforme descrito no Bacteriological Analytical Manual (BAM).

No dia 1 de armazenamento, foram realizadas análises microbiológicas de coliformes a 30 °C, *E. coli*, bolores e leveduras, *L. sakei*, estafilococos coagulase positiva, *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*. As contagens de coliformes a 30 °C, *E. coli*, bolores e leveduras e *L. sakei* foram monitoradas a cada 7 dias durante 28 dias de armazenamento.

Amostras de 25 g foram homogeneizadas em 225 mL de água peptonada 0,1% e submetidas a diluições seriadas. A enumeração de coliformes a 30 °C e *Escherichia coli* foi realizada em placas Petrifilm EC, enquanto bolores e leveduras foram determinados em Petrifilm YM e estafilococos coagulase positiva em Petrifilm STX.

A detecção de *Salmonella* spp. envolveu pré-enriquecimento em caldo lactosado, seguido de enriquecimento seletivo, isolamento em meios seletivos e confirmação por testes bioquímicos e sorológicos. A determinação de *L. monocytogenes* foi realizada por enriquecimento em caldos Half-Fraser e Fraser, plaqueamento em meios seletivos e confirmação bioquímica e sorológica.

As BAL viáveis foram quantificadas em ágar Man Rogosa & Sharp (MRS), incubadas a 36 °C por 48–72 h em microaerofilia (jarras de anaerobiose), com confirmação por coloração de Gram e teste de catalase, sendo consideradas BAL as Gram-positivas e catalase-negativas. A identificação das colônias de *L. sakei* foi baseada na observação microscópica da morfologia das células quando comparadas com a cultura pura de *L. sakei* (LALCULT® Protect LS100), sendo os resultados das contagens expressos em UFC/g.

### **Resultados**

Constatou-se ausência de *Salmonella* spp. e de *L. monocytogenes* em 25 g e contagem de estafilococos coagulase positiva  $<1,0$  log UFC/g nas amostras de queijo Minas Frescal dos quatro tratamentos. Embora tenha sido observada diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) apenas no 14º dia, a adição de *L. sakei* contribuiu para a redução do crescimento de coliformes a 30 °C ao longo do armazenamento, mantendo as contagens dentro do limite estabelecido pela legislação brasileira (Brasil, 1996) (3 log UFC/g) por até 28 dias, com valor de 2,50 log UFC/g ao final do período. Em contraste, o tratamento controle ultrapassou esse limite a partir do 14º dia (5,25 log UFC/g), atingindo 5,85 log UFC/g no 28º dia.

Não houve crescimento de *E. coli* nos tratamentos sem inoculação da mesma. No tratamento inoculado com *E. coli*, o microrganismo permaneceu viável ao longo de toda a vida de prateleira, atingindo 4,67 log UFC/g ao final do armazenamento. Já no tratamento com *L. sakei* + *E. coli*, as contagens foram mais elevadas, alcançando 6,93 log UFC/g após 28 dias. Embora não tenha havido diferença estatística significativa entre os tratamentos com *E. coli*, observou-se tendência de maior crescimento na co-inoculação, sugerindo possível interação sinérgica entre os microrganismos.

Em relação a bolores e leveduras, a partir do 21º dia, o controle apresentou maior crescimento fúngico, atingindo 4,33 log UFC/g, enquanto os tratamentos contendo *L. sakei* mantiveram contagens menores, variando entre 2,55 e 3,12 log UFC/g ao final de 28 dias. Embora não tenham sido observadas diferenças estatísticas, a redução indica influência positiva de *L. sakei* na inibição de bolores e leveduras.

A cultura bioprotetora (*L. sakei* LALCULT® Protect LS100) manteve-se viável ao longo de 28 dias (entre 6,0–7,0 log UFC/g), evidenciando sua estabilidade na matriz do queijo.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A cultura bioprotetora *L. sakei* LALCULT® Protect LS100 contribuiu para a estabilidade microbiológica do queijo Minas Frescal. A inibição do crescimento de coliformes autóctones em comparação com o queijo sem adição da cultura possibilitou atendimento ao padrão da legislação, demonstrando o potencial da mesma como barreira adicional de segurança em queijos frescos.

Por outro lado, a ausência de efeito inibitório em amostras com elevada contaminação inicial por *E. coli* evidencia que a aplicação da cultura não substitui práticas fundamentais de controle higiênico-sanitário, devendo ser integrada a um sistema de qualidade que inclua leite de boa qualidade microbiológica, pasteurização adequada e rigoroso cumprimento das boas práticas de fabricação.

## REFERÊNCIAS

BARBIERI, F. *et al.* Insights into the Metabolomic Diversity of *Latilactobacillus sakei*. **Foods**, vol. 11, n° 3, 2022. <https://doi.org/10.3390/foods11030477>

VILLAS BOAS, A. F. V. *et al.* Qualidade microbiológica de queijos Minas frescal artesanais e industrializados / microbiological quality assessment of house made and industrialized minas frescal cheese. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 10, p.83536–83552, 2020.

<https://doi.org/10.34117/bjdv6n10-696>

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Portaria nº 146, de 7 de março de 1996.

**Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos.** Diário Oficial da União, Brasília, 1996. <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal/legislacao/Port1461996RTqueijomanteigacremedeleitegorduralctealeitefluido.pdf>

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). **Bacteriological Analytical Manual (BAM)**. Silver Spring: FDA, 2023. <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bacteriological-analytical-manual-bam>

FURTADO, M. M. **Receituário brasileiro de queijos**. 1. ed. São Paulo: Ed. Ativaonline, 2022. 331 p.