Conjecturas

DOI: 10.53660/CONJ-2032-MP16

Impacto dos diferentes tipos de transferidores de leite na metagenômica do queijo minas artesanal Canastra

Impact of different types of milk transfers on the metagenomic analysis of artisanal Minas Canastra cheese

Thayane Sabino Nogueira[1]*, Sônia de Oliveira Duque Paciulli[1], Gustavo Augusto Lacorte[1], Gaby Patricia Terán Ortiz[1], Ariane Flávia do Nascimento[1]

RESUMO

O queijo Canastra está entre os mais conhecidos e produzidos do grupo de queijo tipo Minas Artesanal. O queijo em si é produzido de forma artesanal, e sua matéria prima, o leite, é obtido a partir de ordenha manual ou mecânica, esta última vem sendo cada vez mais utilizada por proporcionar uma maior comodidade ao animal e ao produtor. No sistema mecanizado, o leite obtido passa por muitos estádios com atmosfera modificada, ou seja, interage com fatores físicos diversificados como a queda de pressão, rotação, pulsação e entre outros, garantindo o funcionamento da linha de ordenha. Face ao exposto, objetivou-se avaliar a influência dos diferentes tipos de transferidores de leite na qualidade microbiológica e físico-química do leite e seu impacto sobre a produção do queijo artesanal. Amostras de leite, pingo e queijo obtidas por cada tratamento foram encaminhadas para as análises físico-químicas, microbiológicas e metagenômica. Os diferentes trasferidores de leite utilizados no sistema de ordenha alteraram a CPP e os teores de gordura do leite, e a diversidade microbiológica resultante foi alterada quanto ao número de bactérias dos diferentes gêneros presentes nas amostras.

Palavras-chave: Leite cru; Pingo; Queijo Canastra.

ABSTRACT

Canastra cheese is among the most famous and produced from the Minas Artesanal cheese group. The cheese itself is produced in an artisanal way, and its raw material, milk, is obtained from manual or mechanical milking, the latter being increasingly used for providing greater comfort to the animal and the producer. In the mechanized system, the milk obtained passes through many stages with modified atmosphere, that is, interact with diverse physical factors such as pressure drop, rotation, pulsation and among others, guaranteeing the operation of the milking line. In view of the above, the objective was to evaluate the influence of different types of milk transfers on the microbiological and physicochemical quality of milk and its impact on the production of artisanal cheese. Samples of milk, natural lactic starter culture and cheese obtained by each treatment were sent for physicochemical, microbiological and metagenomic analyses. The different milk transfers used in the milking system altered the CPP and the milk fat contents, and the final microbiological diversity was altered in terms of the number of microorganisms of the different genera present in the samples.

Keywords: Raw milk, Natural lactic culture, Canastra cheese.

[1] Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais.
*E-mail: thayanesabinonogueira@gmail.com

INTRODUÇÃO

Na região da Serra da Canastra em Minas Gerais, a produção do queijo artesanal é um fator cultural de significativa importância socioeconômica para grande parte das famílias rurais. É relevante a presença da agricultura familiar, por meio da diversificação dos produtos e do consequente envolvimento na atividade leiteira (EMATER, 2011). Devido ao reconhecimento, ao aumento da procura e busca por qualidade, produtores de queijo Canastra vêm cada vez mais investindo em novas tecnologias de obtenção do leite. Portanto, a maneira de ordenhar os animais em uma propriedade leiteira segue uma evolução natural, no sentido de ganhar eficiência, assegurar a qualidade do leite, e aumentar a lucratividade do produtor.

Esta evolução é acompanhada pela evolução dos equipamentos utilizados para a ordenha. Atualmente existem duas formas de ordenha, a ordenha manual e a mecânica. De acordo com a Emater (2011), a grande maioria das propriedades rurais produtoras de leite na Canastra para produção do queijo artesanal, utilizam ordenhadeiras e em apenas algumas a coleta é ainda realizada manualmente. A ordenha mecânica, pode ser classificada em balde ao pé (móvel ou fixo) ou circuito fechado (canalizada).

Se de um lado o equipamento contribuiu enormemente para o desenvolvimento da moderna indústria de laticínios em vários países do mundo, por outro lado tem sido apontado por problemas relativos à saúde do animal ordenhado e da qualidade do leite. No sistema mecanizado, verifica-se que o leite obtido passa por muitos estádios com atmosfera modificada, ou seja, se depara com fatores físicos diversificados como a queda de pressão, rotação, pulsação e entre outros, afim de garantir o funcionamento da linha de ordenha. Sabe-se que esses fatores podem interferir no processo tecnológico de fabricação do queijo Minas Artesanal, entretanto, não se tem estudos sobre essas interferências.

Diante do exposto, objetivou-se neste estudo avaliar o reflexo da utilização de transferidores na qualidade do leite e do queijo artesanal, dessa forma os produtores de queijo Minas Artesanal poderão ser orientados sobre quais fatores advindos dos transferidores utilizados nas linhas de ordenha, podem influenciar sobre a carga microbiana do seu produto.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras analisadas foram coletadas em uma fazenda cadastrada no IMA, localizada na região da cidade de Medeiros-MG, a qual se encontra dentre as sete cidades que compõe a região da Serra da Canastra.

OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

Para a realização do experimento, selecionou-se um lote contendo 5 vacas, considerando o período de lactação e a idade dos animais e o leite foi distribuído para os três tratamentos. O leite proveniente deste lote foi submetido a ordenha mecanizada com os seguintes tratamentos: Tratamento A - o leite que não passa por nenhum transferidor, ou seja, é o leite obtido pela ordenha balde ao pé fixo; Tratamento B - o leite foi submetido a ordenha de circuito fechado, ou seja, a ordenha canalizada, onde em seu sistema há a presença de uma bomba cinética higiénico sanitária para a transferência automática do leite. No Tratamento C - o leite foi submetido a ordenha de balde ao pé, e após a captação do leite usou-se uma bomba cinética contendo um impulsor de seis pás, constituído de plástico, para transferência do leite até a queijaria. Fabricou-se queijo do leite obtido em cada tratamento em quatro repetições e após a identificação estes foram colocados para maturar, com cuidados de acabamento rotineiros da propriedade até atingirem 22 dias de maturação.

ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DO LEITE

As amostras de leite foram coletadas em quatro repetições para cada tratamento e encaminhadas para o Laboratório de Análise da Qualidade do Leite – LabUFMG, localizado na Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) para determinação da composição centesimal e contagem padrão em placas (CPP). As amostras foram acondicionadas em frascos estéreis contendo conservante Bronopol® para determinação da CCS e composição físico-química do leite, e em frascos contendo o conservante Azidiol para a análise de CPP. Após as coletas, as amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas com gelo reciclável e enviadas para o laboratório onde foram analisadas por citometria de fluxo em equipamentos eletrônicos *Bentley CombSystem* 2300® (Bentley Instruments Incorporated®, Chaska, EUA) para CCS (IDF, 1995), para determinação de gordura, proteína total, lactose, extrato seco total, extrato seco desengordurado e crioscopia (IDF, 2000). A contagem

bacteriana total, foi determinada por citometria de fluxo e realizada no equipamento *BactoCount IBC* (Bentley Instruments Incorporated®, Chaska, EUA).

ANÁLISE METAGENÔMICA

EXTRAÇÃO DE DNA

Para dar início às extrações nas amostras não líquidas, amostras de queijo, realizou-se a padronização do peso das amostras, de 0,25gr. Como podem ocorrer variações na microbiota da casca e no núcleo do queijo, teve-se o cuidado de recolher amostras abrangendo ambas as regiões. Após a pesagem, foi necessário ralar e macerar as amostras.

Para a preparação do leite para extração, foram colocados 1ml de leite em tubos de 2ml e adicionados 1 ml de Etanol a 20%. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 3000g por 5min, descartando-se o sobrenadante.

Realizou também a coleta do leite obtido por ordenha manual e do pingo proveniente do queijo de cada tratamento para conseguir uma maior identificação das espécies de microrganismos, onde a preparação destes materiais foram procedidas conforme descritas anteriormente para o leite.

A extração do DNA de cada amostra da etapa do processo foi realizada utilizando o kit comercial de extração de DNA DNeasy® PowerSoil Kit (Qiagen) e seguindo as recomendações do fabricante. O DNA obtido foi quantificado utilizando o Qubit 2.0, que é capaz de quantificar DNA, RNA e proteínas usando a alta sensibilidade à fluorescência. A leitura é revelada em ng/μL.

AMPLIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DO GENE DE RRNA 16

O gene do rRNA 16S bacteriano de cada amostra de DNA foi amplificado utilizando os primers universais F515 e R806, cobrindo a região hiper-variável V4 do gene. A PCR ocorreu conforme os protocolos do kit KAPA Library Quantification for Illumina. Os amplicons foram visualizados por meio de eletroforese em gel de agarose 2% corado com brometo de etídio (0,5μg/mL) e purificados. O gel foi submetido a uma corrente de 80 volts, por 60 minutos, e visualizado em transiluminador de luz ultravioleta.

Para a ligação dos adaptadores para sequenciamento, as sequências tiveram suas extremidades reparadas e ligadas a uma base de adenina. Em seguida, adaptadores

foram ligados às extremidades das sequências e uma nova eletroforese foi realizada para selecionar as sequências com base no comprimento. As bibliotecas foram quantificadas por PCR em tempo real (ABI SteOnePlus) e eletroforese microfluídica (Agilent 2100 bioanalyzer). Logo após, foram enriquecidas e tiveram os índices (barcodes) ligados por PCR antes de serem normalizadas e sequenciadas usando a estratégia paired-end de 100pb na plataforma ilumina HiSeq2000.

ESTRUTURAÇÃO E AMPLITUDE TAXONÔMICA DOS GRUPOS ACESSADOS

Para comparação e análise estatística das amostras, as matrizes de abundância de OTUs foram convertidas para o formato.biome, exploradas com o pacote Phyloseq no programa estatístico R. Para normatização das amostras, utilizou-se o comando "rarefy_even_depth", que permite identificar a amostra com menor número de sequências e "re-amostrar" todas as outras amostras para que possuam o mesmo número de sequências. A fim de verificar se o esforço amostral realizado foi suficiente para capturar as taxas mais abundantes e inferir o quanto são diversos cada uma das amostras e os grupos estudados, foram construídas curvas de rarefação (nº de sequências X nº de OTUs) das amostras analisadas. A curva de rarefação consiste em uma análise que fraciona aleatoriamente e repetitivamente uma amostra para que a média do número de espécies encontradas em cada subamostra possa ser calculada (HUGHES et al., 2001).

Análises de amplitude taxonômica e distribuição de reads, gêneros e OTUs por amostras foram feitas através de contagem total do produto da análise metagenômica, com o auxílio de tabelas e histogramas gerados no programa Microsoft Excel 2013.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO LEITE

A CPP e CCS são análises consideradas indicadoras de qualidade higiênicosanitária do leite, uma vez que refletem as condições de higiene no momento da ordenha, das instalações e também conseguem indicar a condição de saúde do úbere da vaca (SOUZA et al.,2010).

Os resultados obtidos para os diferentes tratamentos para a contagem de células somáticas (CCS) e Contagem Padrão em Placas (CPP) estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Resultados da contagem de células somáticas (CCS) e Contagem Padrão em Placas (CPP) das amostras obtidas com a aplicação do sistema de ordenha modificando o tipo de transferidor do leite aplicado em propriedade rural da Região de Medeiros-MG.

	Análise (log_{10})	**Tratamento A**	**Tratamento B**	**Tratamento C**
Médias	CCS (células mL^{-1})	6,13±0,28	6,05±0,26	4,57±0,16
	CPP (ufc/ mL)	6,07±0,12	4,59±0,14	4,65±0,11

Fonte: Autores

Alta contagem de células somáticas no leite reduz a qualidade e o rendimento dos produtos lácteos, assim como a vida de prateleira. O aumento na CCS do leite está relacionado com alterações nos componentes do leite, como redução dos teores de lactose, gordura, caseína, cálcio e fósforo, aumento da albumina sérica e ácidos graxos livres de cadeia curta, e incremento da atividade proteolítica e lipolítica no leite (GARGOURI et al., 2013) e pode ser ocasionada por diversos fatores, ligados ao sistema de ordenha e manejo dos animais. O valor médio de CCS observado nos tratamentos para as amostras obtidas dos tratamentos A e B se encontram acima dos valores estabelecidos pela legislação vigente que é de 5,7 log10células/ml^{-1} (BRASIL, 2018). A amostra C se encontra dentro dos padrões exigidos pela legislação pertinente. O leite proveniente de animais com mastite subclínica.

A elevação da CCS no leite indica a ocorrência de mastite, a qual reduz a quantidade de leite produzido pelo animal e causa redução considerável na concentração dos componentes nobres do leite, como gordura, caseína e lactose, assim como também o aumento nas concentrações de sódio, cloro e proteínas do soro. Em termos econômicos, a elevada CCS traz grandes prejuízos ao produtor, pois tal aumento gera redução na produção diária de leite por partes dos animais infectados (SANTOS et al., 2007) diminuindo por consequência a produção de Queijo Minas Artesanal Canastra na propriedade, alterando também as características de textura da massa e consequentemente as de sabor e aroma, além do rendimento dos queijos.

Em relação as condições de higiene no momento da ordenha e de higiene das instalações e equipamentos dos tratamentos A e B estão em bom estado pois os valores encontrados para a análise de CPP atende o valor estipulado pela IN 76 (BRASIL, 2018), que estabelecem valores de no máximo 5,5 log10ufc/ mL^{-1} . Enquanto a amostra A, onde o leite que não passa por nenhum transferidor, ou seja, é o leite obtido pela ordenha balde ao pé fixo e ocorre o transporte manual até a queijeira, ocorre um aumento da carga microbiana. Esse aumento está ligado diretamente ao modo de transferência do leite. No tratamento B, onde o leite foi submetido a ordenha de circuito

fechado, ou seja, a ordenha canalizada, onde em seu sistema há a presença de uma bomba cinética higiénico sanitária para a transferência automática do leite, a contagem bacteriana é ligeiramente inferior àquela observada do tratamento C. Isto pode acontecer em função do fato do leite ser transferido para queijaria por uma bomba com maior dificuldade de higienização.

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE

Os resultados mostram que as análises físico-químicas (Tabela 2) para as amostras do tratamento A e C atendem os valores correspondentes a Legislação para leite cru (BRASIL, 2018). Enquanto que os resultados obtidos no tratamento B, para gordura, lactose, sólidos totais e desengordurado estavam abaixo do determinado pela legislação vigente (BRASIL, 2018).

Tabela 2: Resultados da composição físico-química das amostras obtidas com a aplicação do sistema de ordenha modificando o tipo de transferidor do leite aplicado em propriedade rural da Região de Medeiros-MG.

Análise	**Tratamento A**	**Tratamento B**	**Tratamento C**
	Média ± DP	**Média ± DP**	**Média ± DP**
Gordura (g/100g)	3,80±2,42	2,70±0,66	2,75±0,99
Proteína (g/100g)	3,31±0,06	3,07±0,23	3,28±0,08
Lactose (g/100g)	4,54±0,06	4,22±0,32	4,54±0,07
EST (g/100g)	12,58±2,35	10,95±1,08	11,49±0,87
ESD (g/100g)	8,78±0,09	8,24±0,55	8,75±0,13
pH	6,55±0,06	6,63±0,10	6,58±0,05
Acidez (ºDornic)	16,75±0,96	16,75±0,50	16,25±0,05

Fonte: Autores.

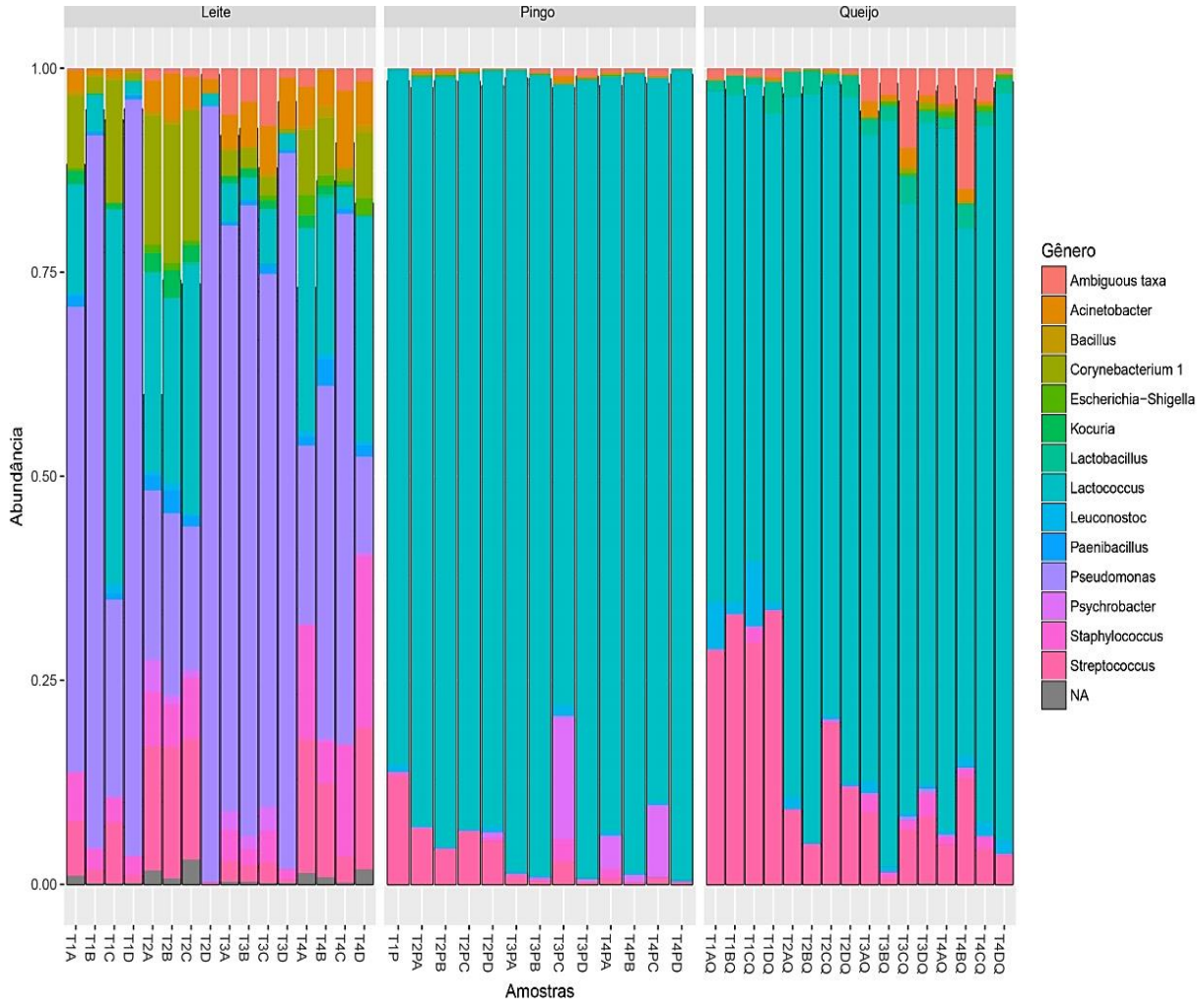
Os resultados das amostras A e C ficaram próximos dos valores obtidos por Santos (2008), que foram de 4,40% para o teor de lactose em leite cru. Os resultados de lactose do presente estudo foram mais elevados no tratamento A, quando foi observada uma maior CCS, entretanto há tendência de ocorrer redução nestes valores na medida que ocorre um aumento da CCS. No tratamento C, as amostras se encontram fora dos padrões para o teor de gordura, uma vez que, a legislação vigente, estabelece um mínimo de 3% para leite “in natura” (BRASIL, 2018). O menor teor de gordura observado nos tratamentos B e C em relação ao tratamento A podem estar ligados ao

sistema de transferência do leite. Necessita-se de maiores estudos quanto a determinação do tamanho dos glóbulos de gordura para avaliar essas alterações.

CARACTERIZAÇÃO METAGENÔMICA

Foram identificados 14 gêneros dominantes presentes nas amostras de leite, pingo e queijo (Figura 1).

Figura1: Abundância relativa de gêneros de bactérias para as amostras de leite, pingo e queijo.



Fonte: Autores.

As análises microbiológicas do leite mostraram maior diversidade de gêneros em todos os tratamentos, quando comparado com os dados obtidos para pingo e queijo. Isto indica que, o tratamento para obtenção do leite não influencia diretamente na seleção de microrganismos. Os microrganismos presentes nas amostras de cada tratamento são,

majoritáriamente, de gêneros iguals, diferenciando apenas na porcentagem com que se apresentam. Os gêneros com maior abundância nas amostras de leite foram *Pseudomonas*, *Lactococcus*, *Corynebacterium* e *Streptococcus* que são grupos comumente encontrados em leite e produtos lácteos (O'SULLIVAN et al., 2015; QUIGLEY, et al., 2013; MASOUD et al., 2012; DALMASSO et al., 2016; MALLET et al., 2012; DESMASURES; GUEGUEN, 1997; VUYST; TSAKALIDOU, 2008).

A abundância de gêneros para pingo e queijo, semelhantemente, apresentou menor riqueza. *Lactococcus*, exprimiu uma maior abundância quando comparado com os demais gêneros presentes.

Martins (2006) define o "pingo" como sendo o soro fermentado com sal, que age como inibidor de algumas fermentações indesejáveis. Ele é composto por uma complexa associação microbiana de comunidades de bactérias e de leveduras (PARENTE et al., 1997). Por se tratar de uma "atmosfera modificada", onde pH, atividade de água dentre outras características físico-químicas únicas há uma competição bacteriana quanto ao ambiente, ou seja, ocorre a seleção de bactérias sobrevivendo apenas as que conseguem se adaptar as condições específicas do pingo. O leite apresenta uma maior variedade de gêneros que o pingo resultante do processamento de queijo deste mesmo leite, já o pingo apresenta menor variedade de gênero, porém os gêneros estão presentes em maior abundância.

Os gêneros observados pela análise de abundância relativa demonstram que o leite, que é a matéria-prima inicial do processo de fabricação do queijo e que possui a comunidade bacteriana mais rica, contribui para o processo até a fase de queijo frescal, de forma que, à medida que o processo de maturação se perfaz, os grupos bacterianos do leite, predominantes no início da maturação, vão sendo reduzidos, mantendo-se aqueles grupos predominantemente advindos do "pingo". Embora existam várias fontes de novas bactérias para o produto, aquela que mais contribui microbiologicamente para o produto final é o "pingo", logo o tipo de obtenção do leite não interfere na caracterização microbiológica do queijo.

CONCLUSÃO

Diante do exposto, conclui-se que os diferentes tipos de transferidores utilizados no sistema de ordenha para transferência de leite para as queijarias alteram a CPP e os teores de gordura do leite. A CCS e CPP foram mais elevadas no leite que é obtido pela

ordenha balde ao pé fixo e transferido manualmente até a queijeira. Evidenciando, neste caso, a necessidade da adoção de medidas higiênico-sanitárias a fim de que o leite possa atender às exigências da legislação quanto a CPP. Quando utilizamos bomba higiênico sanitária e cinética para transferência do leite até a queijaria, a, composição centesimal sofre alterações. Principalmente ao parâmetro gordura, que quando utilizamos esses processos, não atende aos requisitos mínimos estabelecidos pela legislação brasileira. Entretanto, ainda são necessárias outras avaliações de cunho microbiológico ou físico para conseguir comprovar os tipos de alterações ocasionadas na carga microbiológica do leite e sobre os glóbulos de gordura pelos transferidores de leite utilizados no sistema de ordenha.

A riqueza microbiológica quanto ao tipo de microrganismo presente não é alterada, entretanto o mecanismo de transferência de leite influencia na quantidade, abundância, dos gêneros encontrados no leite. A microbiota do pingo e do queijo não são afetadas pelo tipo de transferidor utilizado na propriedade.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Leite: INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 76, DE 26 DE NOVEMBRO DE 2018 INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 76, DE 26 DE NOVEMBRO DE 2018. Regulamentos Técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A, na forma desta Instrução Normativa e do Anexo Único. na forma desta Instrução Normativa e do Anexo Único. **Diário Oficial da União**, Brasília, n. 230, p. 09, 30 nov. 2018. Seção 1.

DALMASSO, A.; DEL RIO M. D. S.; CIVERA, T.; PATTONO, D.; CARDAZZO, B.; BOTTERO, M. T. Characterization of microbiota in Plaisentif cheese by high-throughput Sequencing. **Food Science and Technology**. v. 69, n. 70, p. 490 – 496, 2016.

DESMASURES, N.; GUEGUEN, M. Monitoring the microbiology of high quality milk by monthly sampling over 2 years. **J Dairy Res**. v. 64, n. 2, p. 271–280, 1997.

EMATER. Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Minas Gerais. **Mapa do Queijo Minas Artesanal**. 2011. Disponível em: <http://www.emater.mg.gov.br/portal.cgi?flagweb=site_pgn_downloads_vert&grupo=135&menu=5 9> . Acesso em 22 jul.2018.

GARGOURI, A.; HAMED, H.; ELFEKI, A. Analysis of Raw Milk Quality at Reception and During Cold Storage: Combined Effects of Somatic Cell Counts and Psychrotrophic Bacteria on Lipolysis. **Journal of Food Science**. v. 78, n. 9, p. 1405-1411, 2013.

HUGHES, J. B.; HELLMAN J. J.; RICKETTS, T. H.; BOHANNAN, B. J. M. Counting the uncountable: statistical approaches to estimating microbial diversity. **Appl Environ Microbiol**. v. 67, n. 10, p. 4399 – 4406, 2001.

MALLET. A.; GUEGUEN, M.; KAUFFMANN, F.; CHESNEAU, C.; SESBOUE, A.; DESMASURES, N. Quantitative and qualitative microbial analysis of raw milk reveals substantial diversity influenced by herd management practices. **Int Dairy J**. v. 27, n. 1-2, p. 13–21, 2012.

MASOUD, W.; VOGENSEN, F. K.; LILLEVANG, S.; AL-SOUD, W. A.; SORENSEN, S. J.; JAKOBSEN, M. The fate of indigenous microbiota, inicializadora cultures, Escherichia coli, Listeria innocua and Staphylococcus aureus in Danish raw milk and cheeses determined by pyrosequencing and quantitative real-time (qRT)-PCR. **International Journal of Food Microbiology**. v. 153, n. 1-2, p. 192- 202, 2012.

O'SULLIVAN, D. J.; FALLICO, V.; O'SULLIVAN, O.; MCSWEENEY, P. L. H.; SHEEHAN, J. J.; COTTER, P. D.; GIBLIN, L. High-throughput DNA sequencing to survey bacterial histidine and tyrosine decarboxylases in raw milk cheeses. **BMC Microbiology**. v. 15, n. 266, p. 1 -12, 2015.

PARENTE, E.; ROTA, M.; RICCIARDI, A.; CLEMENTI, F. Characterization of natural inicializadora cultures used in the manufacture of Pasta Filata cheese in Basilicata (Southern Italy). **International Dairy Journal**. v. 7, n. 12, p. 775–783, 1997.

QUIGLEY, L.; O'SULLIVAN, O.; STANTON, C.; BERESFORD, T. P.; ROSS, R. P.; FITZGERALD, G. F.; COTTER, P. D. The complex microbiota of raw milk. **FEMS Microbiology Reviews**. v. 37, n. 5, p. 664 - 698, 2013.

SANTOS PA. Avaliação do leite cru refrigerado produzido na região sudoeste do estado de Goiás estocado por diferentes períodos [Tese de doutorado]. Goiânia, Goiás: Universidade Federal de Goiás, 2008. 50 pp.

SANTOS, Marcos Veiga dos; FONSECA, Luís Fernando Laranja da. Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite. 2007.

SOUZA, G.N.; CARVALHO, A. C.; MENDONÇA, l. C. Qualidade do leite. In: AUAD, A. M. [et al.]. **Manual de bovinocultura de leite**. Juíz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2010. Cap. 12, p. 541-606.

VUYST, L. D.; TSAKALIDOU, E. Streptococcus macedonicus, a multi-functional and promising species for dairy fermentations. **International Dairy Journal**. v. 18, n. 5, p. 476-485, 2008.

Recebido em: 15/10/2022

Aprovado em: 18/11/2022

Publicado em: 22/11/2022