



## CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO PINGO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTAGONISTA FRENTE A *LISTERIA MONOCYTOGENES*

MICROBIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF PINGO AND EVALUATION OF ANTAGONISTIC ACTIVITY AGAINST *LISTERIA MONOCYTOGENES*

Josiane da Silva Costa<sup>1\*</sup>, Carlos Henrique Gomes de Sousa Lima<sup>2</sup>, Élder Pacheco da Cruz<sup>3</sup>,  
Nádia Carbonera<sup>4</sup>, Elizabete Helbig<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Doutora em Nutrição e Alimentos pelo Programa de Pós-graduação em Nutrição e Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas (RS), Brasil; <sup>2</sup>Mestre em Nutrição e Alimentos pelo Programa de Pós-graduação em Nutrição e Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas (RS), Brasil; <sup>3</sup>Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas (RS), Brasil; <sup>4</sup>Docente do Centro de Ciências, Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas (RS), Brasil. <sup>5</sup>Docente do Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas (RS), Brasil.

\*Autor correspondente: Josiane da Silva Costa - Email: [josileonina0508@gmail.com](mailto:josileonina0508@gmail.com)

Recebido: 26 dez. 2024

Aceito: 09 jun. 2025

Editores-chefes: Dr. Leonardo Pestillo de Oliveira e Dr. Mateus Dias Antunes

Este é um artigo publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Attribution (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), que permite uso, distribuição e reprodução em qualquer meio, sem restrições desde que o trabalho original seja corretamente citado.



**RESUMO:** O pingo é composto predominantemente de bactérias ácido lácticas contribuindo na coagulação e maturação, inibindo a presença de microrganismos indesejáveis, influenciando também, atributos sensoriais. O objetivo deste estudo foi caracterizar o pingo e avaliar sua atividade antagonista frente a *Listeria monocytogenes*. Aos sessenta dias de maturação, todas as amostras estavam de acordo com a legislação vigente para *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. *Staphylococcus* coagulase positiva apenas o tratamento com leite cru refrigerado (controle), apresentou resultado acima da legislação. Setenta e cinco por cento das amostras se enquadraram em queijos de baixa umidade apresentando diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ). Os valores de pH, acidez, cinzas, cloretos e sólidos totais apresentaram diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre o 1 e 60 dias de maturação. A adição do pingo possibilitou decréscimo nas contagens de deterioradores e potencialmente patogênicos, mas não a eliminação de *Listeria monocytogenes*.

**PALAVRAS-CHAVE:** Bactérias. Maturação. Microrganismos. Produto artesanal.

**ABSTRACT:** Pingo is predominantly composed of lactic acid bacteria contributing to coagulation and maturation, inhibiting the presence of undesirable microorganisms, also influencing sensory attributes. The aim of this study was to characterize dripmy and evaluate its antagonistic activity against *Listeria monocytogenes*. At sixty days of maturation, all samples were in accordance with the current legislation for *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. Coagulase-positive *Staphylococcus* only treatment with refrigerated raw milk (control) presented results above the legislation. Seventy-five percent of the samples were low moisture cheeses, with a significant difference ( $p \leq 0.05$ ). The values of pH, acidity, ash, chlorides and total solids showed significant differences ( $p \leq 0.05$ ) between 1 and 60 days of maturation. The addition of pingo allowed a decrease in the counts of spoilage and potentially pathogenic, but not the elimination of *Listeria monocytogenes*.

**KEYWORDS:** Bacteria. Maturation. Microorganisms. Artisanal product.

## INTRODUÇÃO

Queijos artesanais elaborados com leite cru devem ser maturados, reduzindo assim, microrganismos deteriorantes e patogênicos como *Listeria monocytogenes* (LM), visando o consumo de um alimento seguro e de qualidade. A listeriose, é uma doença rara, mas grave, com forma variada de sintomas, sendo não invasiva, ou invasiva, quando se espalha para além dos intestinos. Outra problemática são os alimentos refrigerados prontos para o consumo, contaminados com *Listeria*, uma vez que o patógeno se multiplica mesmo em temperaturas de refrigeração<sup>1</sup>.

A maturação envolve queda de pH e umidade, aumento na concentração de sal, além de contribuir para o desenvolvimento de microrganismos benéficos como as bactérias ácido lácticas (BAL), responsáveis por atributos como sabor e textura dos queijos. Este grupo de bactérias têm sido amplamente estudado como bioconservantes em pesquisas realizadas mundialmente, demonstrando que a produção de substâncias antimicrobianas e sua ação antagonista sobre patógenos presentes em queijos artesanais<sup>2</sup>.

O pingo é composto, majoritariamente, de BAL dos gêneros *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* e *Lactococcus*, influenciando benéficamente no processo fermentativo durante a produção de queijos artesanais, direcionando a coagulação, além de inibir microrganismos indesejáveis, como os deteriorantes e patogênicos, de forma a minimizar surtos alimentares<sup>3,4</sup>. Neste sentido, o objetivo deste experimento foi a adição do pingo em queijos, para avaliar a atividade antagonista de BAL frente à LM.

## MATERIALE MÉTODOS

### OBTENÇÃO DO PINGO E AMOSTRAS DE QUEIJO

Produziu-se 8 amostras de 500 g de queijo, a partir de leite cru. Aqueceu-se o leite a 37°C, acrescentou-se coalho (8 ml/10 L leite), repouso por 45 minutos, corte da massa, repouso por 25 minutos e aquecimento até 40°C. Colocou-se em formas de polietileno revestidas por tecido e posterior salga na proporção 2% (10 g/500 g de massa). Em 12 horas, ocorreu a segunda salga. Recolheu-se o pingo após 24 horas e congelou-se em frascos estéreis.

Para a obtenção dos queijos, utilizou-se o volume de 12 L de leite, de modo a obter-se duplicatas de 3 amostras de 200 g de queijo, sendo 6 tratamentos (leite cru, leite cru/LM/, leite cru/LM/pingo; leite pasteurizado, leite pasteurizado/LM e leite pasteurizado/LM/pingo).

Dividiu-se o leite em três recipientes de inox, em volumes de 4 L com posterior aquecimento até atingir temperatura de 37 °C (para tratamentos com leite cru), e 75°C (tratamento com leite pasteurizado), posteriormente, foi adicionado o coalho (8ml/10 ml), o pingo (25 ml/10 L) e o inóculo de LM ( $2 \times 10^8$  UFC/ml).

### PREPARO E INOCULAÇÃO DE *LISTERIA MONOCYTOGENES*

Cepa padrão de LM (ATCC 7644), foi reativada em caldo *Brain Heart Infusion*, suplementado com 0,6% de extrato de levedura e inoculação em ágar Plate Count Ágar, a 37°C, por 24 horas. Transferiu-se alçadas para tubos contendo 9 ml de solução de Cloreto de sódio à 0,9%, atingindo turbidez equivalente a 0,5 pontos ( $10^8$  UFC/ml) na escala de *McFarland*. Para avaliar o decréscimo do crescimento de LM, foram inoculados 100 ul da solução cloreto em pontos aleatórios da massa dos queijos.

## PROCESSO DE MATURAÇÃO

As amostras ficaram por 60 dias em balcão de vidro com temperatura e umidade controladas 20°C e 60%, respectivamente. As análises foram realizadas em triplicatas, onde o pingo analisado em 24 horas e os queijos nos tempos (T) T0, T1, T2 e T3, sendo 1, 20, 40 e 60 dias de produção respectivamente.

## ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Transferiu-se 25 g/ml das amostras para tubos com diluente, seguido de diluições em água peptonada 0,1%. Enumerou-se *Staphylococcus* coagulase positiva (ECP), BAL e mesófilos conforme *American Public Health Association* (APHA)<sup>5</sup>, análise de *Salmonella spp* seguindo método da *Food and Administration/ Bacteriological Analytical* (FDA)<sup>6</sup>, *Escherichia coli* (EC), seguindo recomendações do método APHA e LM seguindo recomendações da *International Organization For Standardization* (ISO) 11290-1:1996 *Amendment 1:2004*<sup>7</sup>.

## ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Seguiu-se o descrito em *ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY* (AOAC)<sup>8</sup>. Teor de umidade, pesando-se 5 g de amostra, aquecimento em estufa à 105°C, e pesagem até obter-se peso constante; teor de cinzas, pesando-se 5 g de amostra, carbonizada em chapa elétrica e incinerada em mufla à 550° C até obter-se peso constante; pH, pesando-se 10 g de amostra e 100 ml de água, com leitura direta em pHmetro; cloretos por volumetria, utilizando-se a amostra proveniente da análise e cinzas titulando-se com solução de nitrato de prata 0,1 M e solução de cromato de potássio à 10% como indicador; determinação de acidez em ácido láctico, utilizando-se 10 g de amostra e álcool à 95%, posteriormente titulado com hidróxido de sódio 0,1 M e fenolftaleína como indicador.

## ANÁLISE DE DADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA

Utilizou-se a média de três repetições avaliadas por análise de variância (ANOVA) e diferenças de médias segundo o teste de *Tukey* utilizando-se o nível de significância de 5 %.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DO PINGO

Encontram-se na Tabela 1, onde observa-se ausência de *Salmonella spp.* e LM verificado em outros estudos no pingo<sup>9,10,11,12</sup>. Na avaliação de EC, observou-se o resultado de 3,96 log UFC.mL<sup>-1</sup>. Na literatura, foram encontrados 2,72 log UFC.mL<sup>-1</sup> e 1,60 log UFC.mL<sup>-1</sup><sup>13,14</sup>. Para ECP, obteve-se contagens de 3,79 log UFC.mL<sup>-1</sup>. Na literatura, observou-se 3 log UFC.mL<sup>-1</sup>, 1,68 log UFC.mL<sup>-1</sup>, 4,12 log UFC.mL<sup>-1</sup><sup>13,14,15</sup>. Neste estudo, o resultado para BAL foi de 5,95 log UFC.mL<sup>-1</sup>, sendo na literatura entre 3,9 e 7,67 log UFC.mL<sup>-1</sup><sup>16</sup>, 6,12 log UFC.mL<sup>-1</sup><sup>17</sup>, 6,27 log UFC.mL<sup>-1</sup><sup>18</sup>, entre 5,81 e 8,48 log UFC.mL<sup>-1</sup><sup>19</sup>. Para análise de mesófilos o valor encontrado foi 6,28 log UFC.mL<sup>-1</sup>. Estudos citam 5,32 a 8,40 log UFC.mL<sup>-1</sup><sup>16</sup>, 7,94 log UFC.mL<sup>-1</sup><sup>20</sup> e 6,62 log UFC.mL<sup>-1</sup><sup>15</sup>.

**Tabela 1.** Resultados para análises microbiológicas do fermento endógeno.

Bactérias (Log <sub>10</sub> UFC/mL <sup>-1</sup> )	Tempo (1dia)
Mesófilas	6,28±0,57
Bactérias lácticas	5,95±0,14
<i>Listeria monocytógenes</i>	Ausente
<i>Salmonella spp</i>	Ausente
<i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	3,79±0,25
<i>Escherichia coli</i>	3,96

Fonte: dados da pesquisa.

## ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DOS QUEIJS

Os resultados para mesófilos (tabela 2) apresentaram concentração inicial (8 log UFC.g<sup>-1</sup>) observa-se aumento desta contagem até 40 dias de fermentação, seguido de um decréscimo gradual ( $p \leq 0,05$ ) até atingir 5, 6 e 7 log UFC.g<sup>-1</sup> no final da maturação para todos os tratamentos. Verifica-se que as bactérias lácticas, apresentaram atividade inibidora sobre os microrganismos mesófilos nos tratamentos adicionados de LM e pingo.

**Tabela 2.** Análises microbiológicas de queijos para Bactérias Mesófilas e Bactérias ácido-lácticas.

Bactérias (log UFC.g <sup>-1</sup> )	Tratamentos	Tempo(dias)			
		1	20	40	60
Mesófilas	Queijo L. cru	8,08±0,06 <sup>bBC</sup>	8,39±0,27 <sup>bB</sup>	7,86±0,07 <sup>dC</sup>	9,50±0,07 <sup>aA</sup>
	Queijo L. cru/LM	8,74±0,04 <sup>aAB</sup>	9,13±0,05 <sup>aA</sup>	8,28±0,01 <sup>bB</sup>	6,87±0,62 <sup>bC</sup>
	Queijo L.cru/LM/FE	8,71±0,22 <sup>aAB</sup>	9,13±0,28 <sup>aA</sup>	8,51±0,13 <sup>aB</sup>	5,80±0,04 <sup>cC</sup>
	Queijo L. past	7,06±0,03 <sup>CD</sup>	8,76±0,07 <sup>abB</sup>	8,03±0,06 <sup>cdC</sup>	9,57±0,04 <sup>aA</sup>
	Queijo L. past/LM	8,14±0,02 <sup>bA</sup>	8,38±0,27 <sup>bA</sup>	8,16±0,01 <sup>bcA</sup>	7,40±0,04 <sup>bB</sup>
	Queijo L past/LM/FE	8,56±0,22 <sup>aAB</sup>	8,60±0,05 <sup>abA</sup>	8,22±0,08 <sup>bcB</sup>	7,32±0,08 <sup>bC</sup>
Ácido lácticas	Queijo L. cru	7,92±0,08 <sup>aB</sup>	8,79±0,23 <sup>aA</sup>	7,91±0,04 <sup>eB</sup>	7,60±0,07 <sup>aB</sup>
	Queijo L. cru/LM	8,61±0,17 <sup>aA</sup>	8,82±0,06 <sup>aA</sup>	8,50±0,17 <sup>abA</sup>	7,47±0,09 <sup>aB</sup>
	Queijo L. cru/LM/FE	8,70±0,18 <sup>aA</sup>	8,97±0,17 <sup>aA</sup>	8,62±0,12 <sup>aA</sup>	2,22±3,85 <sup>bB</sup>
	Queijo L. past	6,35±0,65 <sup>bC</sup>	9,02±0,06 <sup>aA</sup>	8,18±0,01 <sup>cdAB</sup>	7,53±0,04 <sup>aB</sup>
	Queijo L. past/LM	8,17±0,02 <sup>aB</sup>	8,95±0,12 <sup>aA</sup>	8,02±0,04 <sup>deB</sup>	7,34±0,16 <sup>aC</sup>
	Queijo L past/LM/FE	8,36±0,08 <sup>aB</sup>	9,14±0,03 <sup>aA</sup>	8,34±0,08 <sup>bcB</sup>	7,35±0,15 <sup>aC</sup>

Fonte: dados da pesquisa.

Para os tratamentos controle, as amostras elaboradas a partir de leite pasteurizado, observa-se os valores de contagens médias de 7,06 log UFC.g<sup>-1</sup> como mínima (1 dia) e máxima de 8,76 log UFC.g<sup>-1</sup> (20 dias) de maturação, em 60 dias observa-se diferenças ( $p \leq 0,05$ ) no crescimento dos aeróbios mesófilos de 7,06 para 9,57 log UFC.g<sup>-1</sup>. De forma semelhante ao que se observou no tratamento controle com leite cru refrigerado, em 60 dias de maturação, houve um aumento ( $p \leq 0,05$ ), nas contagens de mesófilos de 2 log UFC.g<sup>-1</sup>. Verificou-se as menores contagens no tratamento com leite pasteurizado adicionado de pingo aos 60 dias de maturação, o valor encontrado foi de 5,80 log UFC/g<sup>-1</sup>. Esta redução pode estar relacionada às BAL que acidificam o pH do meio e podem produzir como as bacteriocinas, ácidos orgânicos, peróxidos e ácidos graxos<sup>21</sup>.

A *International Commission On Microbiological Specifications For Foods* (ICMSF), estabelece valor máximo de 7,0 log UFC.g<sup>-1</sup> ou mL<sup>-1</sup> como aceitável<sup>22</sup>. No presente estudo, o tratamento que apresentou menor contagem (5,80 log UFC.g<sup>-1</sup>), foi o queijo elaborado com leite cru/LM/pingo estando de acordo

com os padrões estabelecidos pela ICMSF. Na literatura observa-se os resultados entre 8 e 8,18 log UFC.g<sup>-1</sup>; 5,80 e 8,50 log UFC.g<sup>-1</sup>; 5,90 e 10,40 log UFC.g<sup>-1</sup> 23,24,25.

Avaliando os resultados para BAL (tabela 2) para os tratamentos com leite cru, onde foi adicionado o pingo, observa-se contagem de 8,70 UFC.g<sup>-1</sup>, mais elevada, que o tratamento controle no tempo de 1 dia, sendo o resultado de 7,92 UFC.g<sup>-1</sup>. Já aos sessenta dias de maturação observa-se o oposto, e as contagens mais elevadas no tratamento sem o pingo (controle), com contagens de 7,60 UFC.g<sup>-1</sup>, e, 7,22 UFC.g<sup>-1</sup>, onde o pingo foi adicionado. O mesmo ocorreu nos tratamentos com leite pasteurizado, onde no primeiro dia de maturação a contagem de BAL foi de 8,36 UFC.g<sup>-1</sup>, mais elevada que o tratamento sem a adição do pingo (controle), que foi de 6,35 UFC.g<sup>-1</sup>. Aos sessenta dias de maturação obteve-se contagem de 7,53 UFC.g<sup>-1</sup> onde o pingo foi adicionado, e o resultado de 7,35 UFC.g<sup>-1</sup> no tratamento controle. Observa-se que as BAL desempenharam papel importante na redução de bactérias mesófilas, aos sessenta dias de maturação, tanto nos tratamentos com leite cru, assim como, no tratamento com leite pasteurizado. Comparando os resultados entre controle e tratamento com adição de pingo, percebe-se a redução de contagens de mesófilas de 9,50 UFC.g<sup>-1</sup>, para 5,80 UFC.g<sup>-1</sup> (tratamento com leite cru e adição de pingo) e de 9,57 UFC.g<sup>-1</sup>, para 7,32 UFC.g<sup>-1</sup> (tratamento com leite pasteurizado e adição de pingo).

Bactérias lácticas tem a capacidade de produzir ácido láctico, entre outros metabólitos, como peróxido de hidrogênio, diacetil e bacteriocinas, que antagonizam e inibem o crescimento de microrganismos competidores e patogênicos<sup>21</sup> auxiliando na conservação e segurança de alimentos, além de possibilitarem alterações físicas e sensoriais no produto final. A atividade inibitória dessas bactérias justifica-se devido à competição por nutrientes e sítios de adesão, produção de ácidos orgânicos e bacteriocinas<sup>26</sup>.

Para ECP (tabela 3) observa-se que os resultados mais elevados foram encontrados aos 40 dias de maturação, sendo o maior valor no tratamento controle com leite pasteurizado, que foi de 6,88 log UFC.g<sup>-1</sup>. Aos 60 dias de maturação, todas as amostras demonstraram resultados em acordo com a legislação vigente (3 log UFC.g<sup>-1</sup>), com exceção do tratamento controle com o leite cru refrigerado que apresentou resultado de 5 log UCF.g<sup>-1</sup>, acima do limite estabelecido pela IN 161<sup>27</sup>.

**Tabela 3.** Análises microbiológicas de queijos para *Staphylococcus* coagulase positiva e *Listeria monocytogenes* (gram positivas).

Bactérias (log UFC.g <sup>-1</sup> )	Tratamentos	Tempo(dias)			
		1	20	40	60
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	Queijo L. cru	5,12±0,06 <sup>aA</sup>	Ausência	Ausência	5,00±0,18 <sup>aA</sup>
	Queijo L. cru/LM	Ausência	4,19±0,22 <sup>aB</sup>	5,87±0,01 <sup>cA</sup>	Ausência
	Queijo L. cru/LM/FE	Ausência	4,42±0,04 <sup>aB</sup>	6,18±0,06 <sup>bA</sup>	1,00±0 <sup>cC</sup>
	Queijo L. past	3,45±0,36 <sup>bB</sup>	Ausência	6,88±0,02 <sup>aA</sup>	3,00±0 <sup>bB</sup>
	Queijo L. past/LM	3,10±0,18 <sup>bB</sup>	Ausência	6,79±0,02 <sup>aA</sup>	3,00±0 <sup>bB</sup>
	Queijo L. past/LM/FE	4,69±0,62 <sup>aA</sup>	3,58±0,30 <sup>bB</sup>	5,16±0,13 <sup>dA</sup>	3,00±0 <sup>bB</sup>
<i>Listeria</i> <i>monocytogenes</i>	Queijo L. cru	Ausência	2,42±0,10 <sup>dA</sup>	2,92±2,53 <sup>abA</sup>	2,07±0,10 <sup>abA</sup>
	Queijo L. cru/LM	4,56±0,54 <sup>bA</sup>	4,00±0 <sup>bAB</sup>	Ausência	3,07±0,68 <sup>aB</sup>
	Queijo L. cru/LM/FE	4,53±0,20 <sup>bA</sup>	2,00±0 <sup>eC</sup>	Ausência	2,96±0,20 <sup>aB</sup>
	Queijo L. past	Ausência	4,11±0,13 <sup>bA</sup>	3,12±2,70 <sup>abA</sup>	1,67±0,49 <sup>bA</sup>
	Queijo L. past/LM	5,65±0,03 <sup>aA</sup>	3,63±0,12 <sup>cB</sup>	5,77±0,02 <sup>aA</sup>	3,03±0,24 <sup>aC</sup>
	Queijo L. past/LM/FE	5,40±0,04 <sup>aA</sup>	5,77±0,16 <sup>aA</sup>	5,78±0,03 <sup>aA</sup>	2,06±0,50 <sup>abB</sup>

Fonte: dados da pesquisa.

A presença de *Staphylococcus* em queijos é frequente pois pode estar presente no leite, na pele, mucosas de animais e humanos, em superfícies de equipamentos e ambiente de ordenha<sup>28</sup>. Sendo este produto bastante manipulado, se as Boas Práticas de Fabricação não são aplicadas corretamente,

possibilita o aumento do potencial de transferência do patógeno de manipuladores e utensílios, para o produto final<sup>29</sup>. A enumeração de *Staphylococcus*, normalmente é utilizada como indicador de manipulação e BPF de alimentos processados<sup>30</sup>. Algumas cepas, podem causar intoxicações alimentares devido à capacidade de produzirem as enterotoxinas estafilocócicas (EE), que são termoestáveis e estão relacionadas à multiplicação do patógeno no alimento<sup>31,32</sup>. Na literatura observou-se valores de 5,20 log UFC.g<sup>-1</sup><sup>33</sup> e 3,50 log UFC.g<sup>-1</sup><sup>25</sup>.

O comportamento da LM (tabela 3) foi avaliado durante o período de 60 dias de maturação. Observou-se que houve maior decréscimo com variação significativa ( $p \leq 0,05$ ) nas contagens do patógeno, no tratamento com leite pasteurizado adicionado de pingo com valores de 5,40 (1 dia), e 2,06 log UFC.g<sup>-1</sup> (60 dias) de maturação. No tratamento com leite cru adicionado apenas de LM, observou-se contagens de 4,56 log UFC.g<sup>-1</sup> (1 dia) e 3,07 log UFC.g<sup>-1</sup> (60 dias), enquanto que no tratamento adicionado de pingo foram encontrados valores equivalentes 2,96 log UFC.g<sup>-1</sup> (60 dias), não apresentando variação significativa ( $p \geq 0,05$ ) entre estes dois tratamentos.

No que se refere ao tratamento com leite pasteurizado e adição do pingo, observa-se no final do tempo de maturação (60 dias) redução significativa ( $p \leq 0,05$ ) de 1 log UFC.g<sup>-1</sup> em relação ao tratamento em que não foi adicionado pingo, com valores de 3,03 UFC.g<sup>-1</sup>(sem pingo) e 2,06 UFC.g<sup>-1</sup> (com pingo). Este resultado possivelmente está associado à adição do pingo, composto majoritariamente por BAL, assim como, à redução de umidade e pH (tabela 6) ficando demonstrado a atividade antimicrobiana produzida pelos *Lactobacillus* e sua ação frente à LM.

A capacidade de sobreviver e/ou multiplicar-se em queijos e também no ambiente, pode possibilitar a formação de biofilmes persistentes<sup>33</sup>. Sanitização ineficiente pode possibilitar persistência de LM até mesmo por anos, multiplicando-se por meio de materiais de contato, em ambientes contaminados<sup>34,33</sup>. Pode crescer em ampla faixa de pH (4,3 a 9,6), temperaturas (0 e 45°) e concentrações salinas (10 e 20%). Não é resistente à pasteurização, suporta sucessivos congelamentos e descongelamentos, sendo um patógeno importante para a saúde pública envolvendo doenças infecciosas<sup>35</sup>. Estudos indicam que BAL podem inibir LM em queijos<sup>36,37,38</sup>. Pesquisadores observaram que em 60 dias de maturação, sob 4/5°C não houve redução nas contagens de LM, e em 120 dias sob 12°C, também não houve redução significativa do microrganismo<sup>39</sup>.

Resultados de 6,5, 8,09, 7,80 e 7,60 log UFC.g<sup>-1</sup>, foram observados na massa coalhada em 30, 40, 50 e 60 dias de maturação respectivamente, multiplicando-se em temperatura de 7,5°C<sup>40</sup>. Sete, de 10 cepas de BAL avaliadas (leite e queijo), apresentaram perfil antagonista frente à LM e produção de diacetil<sup>41</sup>. A influência do pingo frente a *Listeria innocua* foi avaliada, sendo necessários 32 dias de maturação para reduzir um ciclo logarítmico na população do patógeno e 44 dias de maturação onde não foi adicionado o pingo<sup>42</sup>. Ainda se observou que após 56 dias de maturação o microrganismo ainda estava presente, com contagens de 2 log UFC.g<sup>-1</sup>.

No presente estudo constatou-se ausência de *Salmonella spp.* (tabela 4), o que foi corroborado por outros estudos<sup>43,44,45</sup>.

A tabela 4 também expressa os resultados para análise de EC que, variaram (4,63 a 0,48 log NMP.g<sup>-1</sup>), evidenciando de forma geral que houve decréscimo nas contagens de EC ao decorrer do tempo de 60 dias de maturação. Com relação ao tratamento com leite pasteurizado, no tratamento controle observou-se que nos tempos 20 e 40 dias, os resultados foram mais elevados que os demais tratamentos, sendo 4,63 e 3,56 log NMP.g<sup>-1</sup> respectivamente. Aos 60 dias de maturação o resultado para todas as amostras, apresentaram decréscimos nas contagens estando em acordo legislação vigente IN 161 (3 log UFC.g<sup>-1</sup>)<sup>27</sup>. Para o tratamento com leite pasteurizado onde adicionou-se o pingo, também se observou resultado de 0,48 log NMP.g<sup>-1</sup>, aos 60 dias de maturação.

**Tabela 4.** Análises microbiológicas de queijos para *Salmonella* e *Escherichia coli* (gram negativas).

Bactérias (log UFC.g <sup>-1</sup> )	Tratamentos	Tempo(dias)			
		1	20	40	60
<i>Salmonella</i>	Queijo L. cru	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
	Queijo L. cru/LM	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
	Queijo L. cru/LM/FE	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
	Queijo L. past	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
	Queijo L. past/LM	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
	Queijo L. past/LM/FE	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
<i>Escherichia coli</i>	Queijo L. cru	<3,48	<3,48	<3,48	0,79
	Queijo L. cru/LM	<3,48	<3,48	<3,48	<0,48
	Queijo L. cru/LM/FE	3,96	<3,48	<3,48	<0,48
	Queijo L. past	<3,48	4,63	3,56	<0,48
	Queijo L. past/LM	<3,48	<3,48	<3,48	<0,48
	Queijo L. past/LM/FE	3,48	<3,48	<3,48	<0,48

Fonte: dados da pesquisa.

A EC é bastante utilizada para avaliar contaminações de origem trato-gastrointestinal em alimentos in natura<sup>32</sup>. Quando presente nos alimentos pode infectar o organismo, dependendo do sorotipo de EC, algumas espécies estão relacionadas a doenças diarreicas graves, colites e enterites, tornando-se um problema de saúde pública<sup>41</sup>. A IN 161 estabelece os níveis de EC para queijos de acordo com o teor de umidade (média, até 46% e alta, igual ou acima de 46%). A ausência da aplicação de BPF ou possíveis falhas podem ser evidenciadas quando há presença de EC no produto. Este patógeno pode ser considerado um indicativo de contaminação fecal, refletindo possível presença de patógenos entéricos no queijo<sup>46</sup>. Na literatura observou-se resultados entre 1,30 e 3,10 log NMP.g<sup>-1</sup>; 0,70 e 3,40 log NMP.g<sup>-1</sup>; 0,56 e 4,87 log NMP.g<sup>-1</sup><sup>23,47,48</sup>.

## ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DO PINGO

Conforme pode ser observado na tabela 5, o resultado para teor de umidade foi de 89,53%. Na literatura observou-se 94%<sup>49,50</sup> e entre 92 e 93%<sup>51</sup>. Para análise de pH obteve-se o valor de 6,94, já na literatura 5,06 e 5,49 e 5,72<sup>20,52,18</sup>. Para acidez observou-se nesse trabalho 0,06. Na literatura, os resultados observados foram entre 0,4 e 1,1, 1,76 e 0,55%<sup>14,50,16</sup>. O teor de cinzas observado foi 4,28%, na literatura 0,47, 0,51 e 0,57%<sup>49,50,51</sup>. Para cloretos observou-se 0,55%, sendo na literatura 0,19, 5,38 e 5,90,<sup>51,20,18</sup>. A pesquisa de sólidos totais resultou em 10,46% sendo observado na literatura os valores de 6,28 e 6,35<sup>49,53</sup>.

**Tabela 5.** Análises físico-químicas do fermento endógeno.

Análise (%)	Tempo (1 dia)
Umidade	89,53±1,87
Cinzas	4,28±1,95
Cloretos	0,55±0,04
pH	6,94±0,08
Sólidos totais	10,46±1,87

Fonte: dados da pesquisa.

## ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DOS QUEIJOS

Para análise de umidade (tabela 6), foram observados valores de 50,34% (1 dia) e 16,62% (60 dias), para queijo de leite cru refrigerado e de 56,13% (1 dia) e 18,93% (60 dias), para queijo de leite

pasteurizado, ambos, apresentando variação significativa ( $p \leq 0,05$ ). Entre os dias um e vinte dias de maturação observa-se maior perda de umidade ao comparar os períodos de maturação. No início do período de maturação há dois fenômenos envolvidos na perda de umidade dos queijos que são a evaporação superficial de água e também, a sinérese. A evaporação superficial continua a ocorrer com o avanço da maturação, em contrapartida há redução na drenagem de soro da massa até cessar<sup>17,53</sup>. Neste experimento 75% das amostras analisadas se enquadram como queijos de baixo teor umidade, e 12,5% como queijos de alto e muito alto teor de umidade<sup>54</sup>. Pode-se observar elevação com variação significativa ( $p \leq 0,05$ ) nos valores dos teores de cinzas, cloretos, acidez e sólido totais, por outro lado, verificou-se um declínio significativo ( $p \leq 0,05$ ) nos valores de umidade e pH.

**Tabela 6.** Análises físico-químicas para amostras de queijo de leite cru refrigerado e pasteurizado.

Amostras	Parâmetros (%)	Tempo (dias)			
		1	20	40	60
Queijo L. cru	Umidade	50,34±0,20 <sup>A</sup>	23,84±0,55 <sup>B</sup>	18,61±1,83 <sup>B</sup>	16,62±0,47 <sup>C</sup>
	pH	6,66±0,20 <sup>A</sup>	5,08±0,04 <sup>B</sup>	5,22±0,04 <sup>B</sup>	5,27±0,01 <sup>B</sup>
	Acidez	0,23±0,04 <sup>B</sup>	0,73±0,13 <sup>A</sup>	0,81±0,0 <sup>A</sup>	0,81±0,01 <sup>A</sup>
	Cinzas	3,00±0,02 <sup>C</sup>	4,38±0,03 <sup>B</sup>	5,66±0,17 <sup>A</sup>	5,82±0,01 <sup>A</sup>
	Cloretos	0,11±0,01 <sup>C</sup>	0,15±0,01 <sup>B</sup>	0,24±0,01 <sup>A</sup>	0,23±0,01 <sup>A</sup>
	Sólidos totais	49,65±0,20 <sup>C</sup>	76,15±0,55 <sup>B</sup>	81,38±1,83 <sup>A</sup>	83,38±0,47 <sup>A</sup>
Queijo L. pasteurizado	Umidade	56,13±0,17 <sup>A</sup>	23,21±0,93 <sup>B</sup>	16,77±0,15 <sup>D</sup>	18,93±0,75 <sup>C</sup>
	pH	6,63±0,02 <sup>A</sup>	5,55±0,06 <sup>B</sup>	5,50±0,03 <sup>B</sup>	5,26±0,03 <sup>C</sup>
	Acidez	0,06±0,01 <sup>C</sup>	0,54±0,01 <sup>B</sup>	0,67±0 <sup>A</sup>	0,66±0,01 <sup>A</sup>
	Cinzas	3,00±0,01 <sup>D</sup>	4,25±0,07 <sup>C</sup>	6,04±0,07 <sup>A</sup>	5,14±0,06 <sup>B</sup>
	Cloretos	0,11±0,01 <sup>D</sup>	0,15±0,01 <sup>C</sup>	0,26±0,02 <sup>A</sup>	0,22±0,01 <sup>B</sup>
	Sólidos totais	43,86±0,17 <sup>D</sup>	76,79±0,93 <sup>C</sup>	83,23±0,15 <sup>A</sup>	81,42±0,75 <sup>B</sup>

Fonte: dados da pesquisa.

Na produção não há padronização, variando-se salga e modo de prensagem<sup>55</sup>. Neste processo a umidade diminui, aumentam os teores de proteína e gordura, assim, o teor de sólidos totais é variável de acordo com o tempo de maturação, devido à perda de umidade<sup>56</sup>. A perda de umidade é um fenômeno intrínseco influenciado pela temperatura e umidade relativa da câmara de maturação<sup>57</sup>.

Alguns autores observaram resultados entre 56,0 e 63,70%; entre 44,22 e 47,11%; entre 30,39 e 49,92%<sup>58,59,60</sup>. O valor para pH foi de 6,66 (1 dia), 5,27 (60 dias) para queijo de leite cru refrigerado e 6,63 (1 dia), 5,26 (60 dias) queijo de leite pasteurizado, ambos apresentando variações significativa ( $p \leq 0,05$ ) corroborando com outros autores<sup>58,59,60</sup>. O valor ótimo de pH entre 4,0 e 5,5 a bactéria é estimulada a produzir mais descarboxilases como forma de defesa ao meio ácido<sup>14</sup>. As alterações do pH e acidez durante a maturação dos queijos, estão apresentadas na Tabela 6 onde são registradas reduções significativas de pH ( $p \leq 0,05$ ) com tendência à estabilização aos 20 dias de maturação.

A redução de pH ocorrerá em decorrência da ação de BAL no teor de lactose<sup>61</sup>. A produção de ácidos orgânicos pode resultar em diminuição do pH, importante na conservação de queijos limitando o crescimento de bactérias patogênicas e deteriorantes conforme visualizado na Tabela 5. Algumas BAL podem expressar genes codificadores de bacteriocinas com atividade antagônica frente a microrganismos potencialmente contaminantes durante a produção de queijos<sup>62,63</sup>. Fermentam a lactose produzindo ácido láctico, acético, butírico, propiônico e álcoois, sendo importantes culturas iniciadoras acidificando o leite, iniciam o processo de coagulação e liberam compostos enzimáticos contribuindo com sabores característicos<sup>64</sup>.

A acidez encontrada neste estudo foi de 0,23% (1 dia), 0,81% (60 dias) para queijos leite cru, 0,06% (1 dia), 0,66% (60 dias) em queijo de leite pasteurizado, ambos apresentando variações significativa ( $p \leq$

0,05). Sendo os valores encontrados na literatura entre 0,14% e 0,57%<sup>58</sup> e entre 0,27% e 0,67%<sup>59</sup>. Para cinzas os resultados foram entre 3,00% (1 dia) e 5,82% (60 dias) queijo leite cru. Já para queijo de leite pasteurizado o resultado variou entre 3,00% (1 dia) e 5,14% (60 dias) ambos apresentando variação significativa ( $p \leq 0,05$ ). Na literatura observou-se resultados para cinzas entre 6,72 e 7,90<sup>60</sup>.

A análise de cloretos para o leite cru refrigerado variou entre 0,11% (1 dia) e 0,23% (60 dias) sendo no queijo de leite cru e resultados variando entre 0,11% (1 dia) e 0,26% (40 dias) para amostra com leite pasteurizado ambos apresentaram variação significativa ( $p \leq 0,05$ ). Os resultados encontrados na literatura foram entre 0,7% e 1,4%<sup>58</sup> e 1,3% e 2,4%<sup>18</sup>. Sólidos totais encontrados para queijos de leite cru foram 49,65% (1 dia) e 83,38% (60 dias) e para queijo de leite pasteurizado 43,86% (1 dia) e 83,23% (40 dias), na literatura observou-se 42,10% e 71,20%<sup>18</sup> e 50,08% e 69,61<sup>60</sup>.

Este estudo proporciona maior visibilidade no que tange à elucidação do uso do pingo, que é majoritariamente composto de BAL, já amplamente estudadas, de forma a contribuir para novas métricas, padronizações e melhor compreensão da problemática envolvendo surtos alimentares, somando-se a outros estudos.

## CONCLUSÃO

Observou-se ausência de *Salmonella spp.* e ação inibitória das BAL frente a mesófilos. Aos sessenta dias de maturação estavam as amostras em acordo com legislação vigente para *Escherichia coli* e *Salmonella spp.* Já *Staphylococcus coagulase positiva*, o tratamento queijo com leite cru, apresentou resultado de 5 log UFC.g<sup>-1</sup>, estando em desacordo com a legislação.

A adição do pingo aliado ao período de maturação frente a *Listeria monocytógenes*, indicou decréscimo nas populações bacterianas, mas não foi eficiente para eliminação do patógeno em queijos artesanais. Ficou demonstrado que o pingo exerce efeito conservante na maturação dos queijos, eficiência na redução do pH e aumento da acidez em virtude do ácido láctico.

## REFERÊNCIAS

1. Pretto ÂN, Reck C, Menin Á, Sant'Anna V. Kinetic modeling of inactivation of foodborne bacterial pathogens in serrano artisanal cheese during ripening. *Brazilian Journal Food Technology*. 2021;24:e2019322. <http://doi.org/10.1590/1981-6723.32219>
2. Leclercq-Perlat MN, Sicard M, Perrot N, Trelea IC, Picque D, Corrieu G. Temperature and relative humidity influence the ripening descriptors of Camembert-type cheeses throughout ripening. *International Journal Dairy Technology*. 2015. 98(2):1325-35. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8916>
3. Ferraz KS, Gonçalves SM, Valentini HS, Rocha BAR, Monteiro LJM, Almeida AAP. Evaluation of bromatological parameters in Canastra cheese produced craftly. *Brazilian Journal of Development*. 2021; 7(6): 61444-61460. <https://doi.org/10.34117/bjdv7n6-492>
4. Pineda APA, Campos GZ, Pimentel-Filho NJ, Franco BDGM, Pinto UM. Brazilian Artisanal Cheeses: Diversity, Microbiological Safety, and Challenges for the Sector. *Frontiers in Microbiology*. 2021;12:666922. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.666922>
5. SALFINGER, Y, TORTORELLO, ML. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. American Public Health Association, 2015 [acesso em 02 abr 2025]; Disponível em: <https://ajph.aphapublications.org/doi/abs/10.2105/MBEF.0222>
6. Andrews W, Wang H, Jacobson A, Ge B, Zhang G, Hammack T. Bacteriological Analytical Manual (BAM) Chapter 5: Salmonella. 2023 [acesso em 02 abr 2025]; Available from: <https://www.fda.gov/media/172194/download?attachment>

7. 14:00-17:00. ISO 11290-1:1996/Amd 1:2004 [acesso em 02 abr 2025]; Available from: <https://www.iso.org/standard/35332.html>
8. AOAC. Official Methods of Analysis, 22nd Edition (2023). AOAC INTERNATIONAL. 2023 [acesso em 02 abr 2025]; Available from: <https://www.aoac.org/official-methods-of-analysis/>
9. Brumano ECC. Impacto do tipo de fermento endógeno na qualidade e tempo de maturação de queijo Minas artesanal produzido em propriedades cadastradas pelo IMA na região do Serro – MG. 2016 [acesso em 02 abr 2025]. Available from: [https://bdtd.ibict.br/vufind/Record/UFV\\_8273199750bdff0a458cce9031c1bb97](https://bdtd.ibict.br/vufind/Record/UFV_8273199750bdff0a458cce9031c1bb97)
10. Isidório WR. Caracterização da microbiota de queijos artesanais provenientes da Serra da Canastra - MG e da cultura iniciadora natural utilizada em sua produção. 2019 [acesso em 02 abr 2025]; Available from: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9131/tde-14102022-145043/en.php>
11. De Oliveira, HC. Caracterização funcional genômica dos micro-organismos predominantes no fermento endógeno “pingo” do queijo da Serra da Canastra. 2020 [acesso em 02 abr 2025]; Available from: <https://repositorio.usp.br/item/003036333>
12. Figueiredo RC. Qualidade microbiológica e físico-química de Queijo Minas artesanal da Canastra durante a maturação em estação chuvosa. 2022 [acesso em 02 abr 2025]; Available from: <https://repositorio.ufmg.br/handle/1843/67525>
13. Pimentel-Filho NJ, Martins JM, Cunha LR, LOPES J, FERNANDES P, FERREIRA C. Modulação de parâmetros microbiológicos e do pH pelo cloreto de sódio, no fermento endógeno utilizado na produção de queijo Minas artesanal do Alto Paranaíba. Revista Instituto Laticínios Cândido Tostes. 2005;345:295-298. <https://doi.org/10.1590/S1517-838246120131003>
14. Nóbrega JE, Ferreira CLLF, Dores MT das, Ferreira EM, Domingo E do C, Santos JPV. Diferenças sazonais no fermento endógeno utilizado na produção do queijo Minas artesanal, fabricado na Serra da Canastra, Minas Gerais. Revista Instituto Laticínios Cândido Tostes 2008;63(363):26–30.
15. Costa EA. Características microbiológicas e estudo da biodiversidade do queijo Minas artesanal da região das Entre Serras: da piedade ao caraça. 2021 [acesso em 02 abr 2025]; Available from: <https://locus.ufv.br/items/6245894b-8940-48ec-a39b-4e91c8542eac>
16. Rafael VC. Fenótipos da microbiota predominante do fermento endógeno (pingo) relevantes para as características e segurança microbiológica do queijo Minas artesanal da Serra da Canastra. 2017 [acesso em 02 abr 2025]; Available from: <https://locus.ufv.br/items/cf278c02-c8a5-4532-923f-c896936ef8d8>
17. Figueiredo RC. Perfil socioeconômico de agricultores familiares e caracterização de queijo Minas artesanal de Serra do Salitre (MG) em diferentes períodos de maturação e épocas do ano. 2018 [acesso em 02 abr 2025]; Available from: <https://repositorio.ufmg.br/handle/1843/SMOC-B6GP5C>
18. Valente GLC. Caracterização microbiológica e físico-química de água, leite cru, soro-fermento, swabs de superfícies e queijo Minas artesanal da região de Campo das Vertentes ao longo da maturação nas estações de seca e chuva. 2022 [acesso em 02 abr 2025]; Available from: <https://repositorio.ufmg.br/handle/1843/46129>
19. Dos Santos KB. Bioprospecção de bactérias lácticas isoladas do soro-fermento de queijo Porungo com potencial tecnológico. 2023 [acesso em 02 abr 2025]; Available from: <https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/18478?show=full>
20. Oliveira CP. Contagem de coliformes totais, termotolerantes e mesófilos aeróbios totais em leite cru, soro-fermento e queijo Minas artesanal em diferentes tempos de maturação produzido na região do cerrado patos de Minas . 2020 [acesso em 02 abr 2025]; Available from: <https://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/30636/4/ContagemColiformesTotais.pdf>
21. Aragon-Alegro LC, Lima EMF, Palcich G, Nunes TP, de Souza KLO, Martins CG, et al. *Listeria monocytogenes* inhibition by lactic acid bacteria and coliforms in Brazilian fresh white cheese. Brazilian Journal Microbiology. 2021;52(2):847–58. <http://doi: 10.1007/s42770-021-00431-4>
22. ICMSF [Internet]. ICMSF. 2017. Available from: <https://www.icmsf.org/>
23. Galinari É, Nóbrega JE da, Andrade NJ de, Ferreira CL de LF. Microbiological aspects of the biofilm on wooden utensils used to make a Brazilian artisanal cheese. Brazilian Journal Microbiology. 2014;45(2):713–20. <http://doi: 10.1590/s1517-83822014000200047>
24. Guedes GG, Domingos V, Vieira J, Paulo, Lucieny B, Sandro, et al. Segurança microbiológica de

- derivados lácteos de feiras públicas em Presidente Médici, RO, Amazônia Ocidental. Revista Brasileira Ciências Amazônia. 2023;12(3). <https://doi.org/10.47209/2317-5729.v.12.n.3.p.%25p>
25. Silva CB, Ferreira LM, Lima AR, Araújo KGL, Souza RM, Fonseca ABM, et al. Microbiological quality and cultivable bacterial community of fresh and ripened Minas cheeses made from raw and pasteurised milk. *International Journal Dairy Technology*. 2023;143:105662. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2023.105662>
  26. Özogul F, Hamed I. The importance of lactic acid bacteria for the prevention of bacterial growth and their biogenic amines formation: A review. *Revista Food Science Nutrition* 2018;58(10):1660–70. <http://doi: 10.1080/10408398.2016.1277972>
  27. AnvisaLegis [Internet]. Datalegis.net. 2025 [cited 2025 Apr 2]; Available from: [https://anvisaegis.datalegis.net/action/ActionDatalegis.php?acao=abrirTextoAto&link=S&tipo=INM&numeroAto=00000161&seqAto=000&valorAno=2022&orgao=ANVISA/MS&cod\\_modulo=310&cod\\_menu=9431](https://anvisaegis.datalegis.net/action/ActionDatalegis.php?acao=abrirTextoAto&link=S&tipo=INM&numeroAto=00000161&seqAto=000&valorAno=2022&orgao=ANVISA/MS&cod_modulo=310&cod_menu=9431)
  28. Basanisi MG, Nobili G, La Bella G, Russo R, Spano G, Normanno G, et al. Molecular characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from sheep and goat cheeses in southern Italy. *Small Ruminant Research*. 2016;135:17–9. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.12.024>
  29. Johnson ME. A 100-Year Review: Cheese production and quality. *Journal of Dairy Science*. 2017;100(12):9952–65. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12979>
  30. Lima AA, Júlia A. Microbiological quality of Minas Frescal Cheese, handcrafted, marketed at free fairs of the Federal District. *Brazilian Journal Development*. 2019;5(9):13673–88. <https://doi.org/10.1590/fst.45221>
  31. Cheong J, See, Tunku U, Rahman A. *Staphylococcus aureus* counts of randomly selected street foods in kampar, Perak. 2016 [acesso em 02 abr 2025]; Available from: <http://eprints.utar.edu.my/2282/1/MB%2D2016%2D1307285%2D1.pdf>
  32. SILVA Neusely da. et al. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água. São Paulo, Editora Blucher, 2018. ed. 6 602 p.
  33. Melero B, Stessl B, Manso B, Wagner M, Esteban-Carbonero ÓJ, Hernández M, et al. *Listeria monocytogenes* colonization in a newly established dairy processing facility. *International Journal Food Microbiology*. 2019;289:64-71. <http://doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2018.09.003>
  34. Oxaran V, Lee SHI, Chaul LT, Corassin CH, Barancelli GV, Alves VF, et al. *Listeria monocytogenes* incidence changes and diversity in some Brazilian dairy industries and retail products. *Food Microbiology*. 2017;68:16-23. <http://doi: 10.1016/j.fm.2017.06.012>
  35. Barancelli GV, Silva-Cruz JV, Porto E, Oliveira CAF. *Listeria monocytogenes*: ocorrência em produtos lácteos e suas implicações em saúde pública. *Arquive Institute Biology*. 2011;78(1):155-68. <https://doi.org/10.1590/1808-1657v78p1552011>
  36. Kumariya R, Garsa AK, Rajput YS, Sood SK, Akhtar N, Patel S. Bacteriocins: Classification, synthesis, mechanism of action and resistance development in food spoilage causing bacteria. *Microbial Pathogenesis*. 2019;128:171-177. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.01>
  37. Mirkovic N, Kulas J, Miloradovic Z, Miljkovic M, Tucovic D, Miocinovic J, et al. Lactolisterin BU-producer *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* BGBU1-4: Bio-control of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in fresh soft cheese and effect on immunological response of rats. *Food Control*. 2020;111:107076. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.107076>
  38. Morandi S, Silveti T, Vezzini V, Morozzo E, Brasca M. How we can improve the antimicrobial performances of lactic acid bacteria? A new strategy to control *Listeria monocytogenes* in Gorgonzola cheese. *Food Microbiology*. 2020;90:103488. <http://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103488>
  39. Cosciani-Cunico E, Dalzini E, Ducoli S, Sfameni C, Bertasi B, Losio MN, et al. Behaviour of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 during the cheese making of traditional raw-milk cheeses from Italian Alps. *Italian Journal Food Safety*. 2015;9;4(2). [Doi.org/10.4081/ijfs.2015.4585](https://doi.org/10.4081/ijfs.2015.4585)
  40. Dos Santos APJ. Efeitos do período de maturação de queijos sobre a microbiota deteriorante e *Listeria monocytogenes* UNB – Brasília [acesso em 02 abr 2025]; Available from: [http://icts.unb.br/jspui/bitstream/10482/21364/1/2016\\_AndersonJoaquimPereiradosSantos.pdf](http://icts.unb.br/jspui/bitstream/10482/21364/1/2016_AndersonJoaquimPereiradosSantos.pdf)

41. Da Silva GL, Lopes DS, Borges PAM. Caracterização de bactérias ácido lácticas autóctones de Bom Jesus do Itabapoana/RJ: ação antagonista contra *Listeria monocytogenes* e provas bioquímicas. *Vértices*. 2022;24(1):194-208. <https://doi.org/10.19180/1809-2667.v24n12022p194-208>
42. Pinto ROM. Influência da cultura endógena "pingo" no comportamento de *L. monocytogenes* e na ocorrência de defeitos no modelo experimental de queijo artesanal da Serra da Canastra. 2024 [acesso em 02 abr 2025]; Available from: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9131/tde-08032024-123724/pt-br.php>
43. Paim SM, Baratto CM. Avaliação da qualidade microbiológica de queijos coloniais comercializados em feira livre na cidade de Fraiburgo, SC. *Evidência*. 2021;1-10. <https://doi.org/10.18593/eba.28120>
44. De Sousa, Tainara Leal et al. Avaliação físico-química e microbiológica de queijo Minas frescal comercializado em feiras livres de Goiás. *Alimentos: Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente*. 2020;1(5):117-132, 2020.
45. Cavalcanti G, Souza J, Oliveira C, Freitas J, De B, José S. Condições higiênicossanitário de queijos Minas frescal comercializados em feiras livres de Vitória - Espírito Santo". 2020;1:11-22. <https://doi.org/10.37885/200800824>
46. Metz M, Sheehan J, Feng PCH. Use of indicator bacteria for monitoring sanitary quality of raw milk cheeses - A literature review. *Food Microbiology*. 2020;85:103283. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.103283>
47. Campos GZ, Lacorte GA, Jurkiewicz C, Hoffmann C, Landgraf M, Franco BDG de M, et al. Microbiological characteristics of canastra cheese during manufacturing and ripening. *Food Control*. 2021;121:1075988. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107598>
48. Santos RA dos, Araújo GB, Correia EF, Costa Sobrinho P de S. Minas Artesanal Cheese As Potential Source of Multidrug-Resistant *Escherichia coli*. *Foodborne Pathogens and Disease*. 2022; 19(5):316-323. <https://doi.org/10.1089/fpd.2021.0102>
49. Teixeira LV, Fonseca LM. Perfil físico-químico do soro de queijos mozzarella e minas-padrão produzidos em várias regiões do estado de Minas Gerais. *Arquivo Brasileiro Medicina. Veterinária e Zootecnia*. 2008;60(1):243-250. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352008000100033>
50. Bald JA, Vincenzi A, Gennari A, Lehn DN, Souza CFV de. Características físico-químicas de soros de queijo e ricota produzidos no vale do taquari, rs. *Revista Jovens Pesquisadores*. 2014;4(3):90-99. <https://doi.org/10.17058/rjp.v4i3.4602>
51. NUNES, Lauane; SANTOS, M. G. Caracterização físico-química de soros obtidos de diferentes tipos de queijos. *Horizonte Científico*. 2025;9(15)
52. LIMA, CF. Estudo do tempo de maturação do Queijo Minas Artesanal do Triângulo Mineiro: análises microbiológicas e físico-químicas. 2021 [acesso em 02 abr 2025]; Available from: <https://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/33947/1/EstudoTempoMatura%C3%A7%C3%A3o.pdf>
53. Pinto FA. Metodologia da espectroscopia no infravermelho para análise dos soros provenientes da fabricação de queijos Minas padrão e prato. 2018 [acesso em 02 abr 2025]; Available from: <https://repositorio.ufmg.br/handle/1843/SSLA-87LPP8>
54. Página 25 do Diário Oficial da União - Seção 1, número 48, de 11/03/1996 - Imprensa Nacional [Internet]. [pesquisa.in.gov.br](http://pesquisa.in.gov.br). Available from: <https://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=11/03/1996&jornal=1&pagina=25&totalArquivos=101>
55. Neves LF, Fonseca HC, Oliveira MLP, Souza CN de, Durães GLLS, Duarte ER, et al. Perfil físico-químico de queijos artesanais do norte de minas gerais. *Unimontes Científica*. 2021;23(1):1-10. <https://doi.org/10.46551/ruc.v23n1a04>
56. Fallico V, Tuminello L, C. Pediliggieri, Horne JK, Carpino S, Licitra G. Proteolysis and Microstructure of Piacentinu Ennese Cheese Made Using Different Farm Technologies. *Journal Dairy Technology*. 2006;89(1):37-48. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72067-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72067-7)
57. Perry KSP. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. *Química Nova*. 2004;27(2):293-300. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000200020>
58. Dias BF, Ferreira SM, Carvalho VS, Soares DSB. Qualidade microbiológica e físico-química de queijo Minas frescal artesanal e industrial. *Journal of Neotropical Agriculture*. 2016;3(3):57-64. <https://doi.org/10.32404/rean.v3i3.1211>

59. Benincá T, Santos V dos S, Sant'Anna V, Berreta MSR. Correlação entre dados microbiológicos e físicoquímicos com as boas práticas de fabricação de queijos coloniais produzidos no Sul do Brasil. *Caderno Ciência Technology*. 2022;39(3):27176. <http://dx.doi.org/10.35977/0104-1096.cct2022.v39.27176>
60. Bezerra A, Karoline, Sales DC, Emmanuella O. M. Araújo, Urbano SA, Cipolat-Gotet C, et al. Effect of ripening time on the content of bioactive peptides and fatty acids profile of Artisanal Coalho cheese. *PLoS ONE*. 2024;19(7):e03065522. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0306552>
61. Júnior LCGC, Fernandes LE, Costa RGB, Magalhães FAR, Paula de JCJ, Sobral D. Evaluation of an alternative for manufacture of artisanal Minas cheese from micro-region of Campo das Vertentes, using pasteurized milk and industrial dairy cultures. *Revista Instituto Laticínios Cândido Tostes*. 2019;74(3):171-184. <http://dx.doi.org/10.14295/2238-6416.v74i3.740>
62. Favaro L, Barretto PAL, Todorov SD. Bacteriocinogenic LAB from cheeses – Application in biopreservation? *Trends Food Sci Technol*. 2015;41(1):37-48. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.09.001>
63. Nero LA, Mattos MR, Beloti V, Barros MAF, Ortolani MBT, Franco BDGM. Autochthonous microbiota of raw milk with antagonistic activity against *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enteritidis*. *Journal of Food Safety*. 2009 May;29(2):261-270. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4565.2009.00155.x>
64. Gänzle MG. Lactic metabolism revisited: metabolism of lactic acid bacteria in food fermentations and food spoilage. *Current Opinion in Food*. 2015;2:106-117. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.03.001>