

## **Influência da cultura endógena “pingo” no comportamento de *Listeria innocua* e na ocorrência de defeitos no modelo experimental de queijo artesanal da Serra da Canastra.**

O Queijo Minas Artesanal da Serra da Canastra é um produto amplamente reconhecido em todo o território brasileiro, caracterizado por um método de produção tradicional que envolve o uso de leite cru e o soro fermento obtido a partir da própria fabricação do queijo, conhecido como "pingo". Esses componentes podem resultar em um produto suscetível à contaminação por bactérias patogênicas, inclusive *Listeria monocytogenes*, representando um potencial risco à saúde pública. A contaminação por *L. monocytogenes* pode originar-se dos ingredientes utilizados e do ambiente de produção. Esta bactéria é especialmente perigosa para grupos vulneráveis como gestantes, neonatos, idosos e indivíduos imunocomprometidos. Este estudo teve como objetivo avaliar a influência do “pingo” no comportamento de *Listeria innocua*, usada em substituição a *L. monocytogenes*, inoculada experimentalmente e na ocorrência de defeitos em um modelo experimental de queijo artesanal tipo Canastra. Foram utilizados dois “pingos”, coletados em momentos distintos, do mesmo produtor, na cidade de São Roque de Minas, região da Serra da Canastra. Por volta do quinto dia de maturação, um dos queijos apresentou estufamento e olhaduras grandes em todo o seu interior. O soro fermento utilizado para a produção desse queijo foi denominado “pingo” ruim. Aquele que não produziu esse defeito foi denominado “pingo” bom. A avaliação do micro-organismo foi realizada ao longo de um período de maturação de 56 dias, a fim de investigar a eficácia do "pingo" e da maturação na inativação de *L. innocua* no queijo. O seu comportamento foi monitorado através da quantificação da população em diferentes etapas de produção: leite, coalhada, primeira salga, três horas após a primeira salga e segunda salga, e durante o período de maturação do queijo nos dias 0, 3, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 e 56. Estas observações foram correlacionadas com as características físico-químicas do queijo. Para descrever o comportamento da população bacteriana, durante o período de produção e maturação, foram aplicados o modelo matemático de Baranyi e Roberts para estimar a taxa de multiplicação da bactéria no queijo e o modelo Log-linear para avaliar a taxa de inativação de *L. innocua*. Foram também realizadas análises de microbioma nas amostras de leite, “pingos” e queijos em diferentes tempos, utilizando o sequenciamento do rDNA da região v4 do 16S, e os dados correspondentes foram processados com o software Qiime2<sup>®</sup>. Os resultados indicaram que a taxa de crescimento ( $\mu_{\max}$ ) de *L. innocua* nos queijos produzidos com "pingo" foi significativamente menor ( $p < 0,05$ ) quando comparada à do micro-organismo presente nos queijos produzidos sem "pingo". Quanto à sobrevivência/inativação, enquanto foram necessários 32 dias para se observar a redução de um

ciclo logarítmico na população de *L. innocua* nos queijos produzidos com "pingo" bom, 40 dias nos queijos produzidos com "pingo" ruim, para os queijos produzidos sem "pingo" foram necessários 44 dias, sendo essas diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ). No entanto, após 56 dias, *L. innocua* ainda estava presente em níveis acima de 2 Log UFC/g, o que excede os limites estabelecidos pela legislação vigente. A análise do microbioma das amostras de leite revelou que os gêneros predominantes eram *Acinetobacter* e *Pseudomonas*, comumente relacionados à contaminação ambiental. O microbioma dos "pingos" apresentou diferença marcante nas proporções de alguns gêneros: no "pingo" bom predominavam *Streptococcus* e *Lactobacillus* e, no "pingo" ruim, os gêneros *Lactococcus*, *Leuconostoc* e o grupo *Escherichia-Shigella* apresentavam-se em maior proporção. Esse perfil do microbioma foi transmitido aos queijos. É provável que a presença em maior proporção dos micro-organismos observados no "pingo" ruim tenha sido responsável pela ocorrência do defeito no queijo. Esses gêneros do microbioma dos queijos com "pingo" não foram observados na mesma proporção ou eram inexistentes nos queijos sem "pingo" o que pode explicar a redução da taxa de crescimento de *L. innocua* no queijo produzido com "pingo". Também foi observado que a multiplicação da bactéria estava inversamente relacionada à redução do pH, indicando que a capacidade de acidificação do "pingo" pode contribuir para a inibição desse micro-organismo. Os resultados permitem concluir que, nas condições da presente pesquisa, o uso do "pingo" como método de controle de *L. innocua/L. monocytogenes* juntamente com o período atual de maturação de 14 dias não podem ser considerados suficientes para garantir a segurança microbiológica do Queijo Minas Artesanal da Serra da Canastra.