

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

ESCOLA DE VETERINÁRIA

COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE QUEIJO MINAS
ARTESANAL DA CANASTRA DURANTE A MATURAÇÃO EM ESTAÇÃO CHUVOSA

RANIER CHAVES FIGUEIREDO

BELO HORIZONTE – MG

ESCOLA DE VETERINÁRIA DA UFMG

2022

Ranier Chaves Figueiredo

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE QUEIJO MINAS
ARTESANAL DA CANASTRA DURANTE A MATURAÇÃO EM PERÍODO CHUVOSO

Tese apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, como requisito para obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal.

Área de concentração: Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal

Orientador: Marcelo Resende de Souza

Co-orientadores: Andréia Marçal da Silva e Matheus Anchieta Ramirez

Belo Horizonte – MG

2022

F475a	<p>Figueiredo, Ranier Chaves. 1989. Qualidade microbiológica e físico-química de queijo Minas artesanal da canastra durante a maturação em estação chuvosa / Ranier Chaves Figueiredo. 108 f.il.</p> <p>Orientador: Marcelo Resende de Souza. Coorientadores: Andréia Marçal da Silva. Matheus Anchieta Ramirez.</p> <p>Tese (Doutorado) - Apresentado a Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais. Área de concentração: Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal. Bibliografia: f. 82 - 101</p> <p>1. Inspeção - Teses – 2. Queijo -Teses – 3. Ciência animal –Teses – 4. Agricultura familiar – Teses – I. Souza, Marcelo Resende. – II. Silva, Andréia Marçal da. – Ramires, Matheus Anchieta. - IV. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária – V. Título.</p> <p style="text-align: center;">CDD – 637</p>
-------	--

Bibliotecário responsável Marcio Alves dos Santos – CRB - 3589
Bibliotecário da Escola de Veterinária – UFMG.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

FOLHA DE APROVAÇÃO

RANIER CHAVES FIGUEIREDO

Tese submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL, como requisito para obtenção do grau de DOUTOR em CIÊNCIA ANIMAL, área de concentração TECNOLOGIA E INSPEÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL.

Aprovado(a) em 29 de julho de 2022, pela banca constituída pelos membros:

Dr.(a). Marcelo Resende de Souza - Presidente - Orientador(a)

Dr.(a). Cristiane Viana Guimarães Ladeira

Dr.(a). Gilson de Assis Sales

Dr.(a). Claudia Freire de Andrade Morais Penna

Dr.(a). Bruna Maria Salotti de Souza



Documento assinado eletronicamente por Marcelo Resende de Souza, Professor do Magistério Superior, em 29/07/2022, às 17:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Bruna Maria Salotti de Souza, Professora do Magistério Superior, em 01/08/2022, às 11:31, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Claudia Freire de Andrade Morais Penna, Professora do Magistério Superior, em 09/08/2022, às 12:43, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Gilson de Assis Sales, Usuário Externo, em 01/02/2023, às 11:41, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Cristiane Viana Guimarães Ladeira, Usuário Externo, em 02/02/2023, às 04:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 1634435 e o código CRC CE7E4311.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus familiares por todo apoio durante a vida e durante a execução deste trabalho, que por diversas vezes me fez ausentar e não lhes dar a devida atenção e carinho. Obrigado Luca, Dani, mãe, pai, Stefan e Nai.

Agradeço ao professor Marcelo, pela orientação, paciência, atenção, receptividade e postura profissional que tanto me inspiraram nesta etapa.

Agradeço ao professor Matheus, coorientador, amigo e incentivador durante toda minha trajetória na Medicina Veterinária.

Agradeço a professora Andréia, coorientadora, incentivadora e conselheira.

Agradeço a toda equipe do Instituto Senai de Tecnologia em Alimentos e Bebidas (ISTA&B SENAI CIT).

Agradeço à Associação de Produtores de Queijo da Canastra (Aprocan)

Agradeço ao Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas (Sebrae)

Agradeço ao Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) e todos seus servidores que tanto contribuíram e atuaram nesta pesquisa

Agradeço a Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Seapa) pelo apoio.

Agradeço a professora Joana por me auxiliar com grande atenção e solicitude durante as análises estatísticas desta pesquisa.

Aos amigos que tanto me ajudaram no laboratório e nas disciplinas cursadas: Felps, Gustavo, Rommel, Gustavo Berin, Karen...

Aos professores do Departamento de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal (DTIPOA) por todos os ensinamentos.

Agradeço aos técnicos do DTIPOA, Cosme, Maura, Marco Antônio, César e Miltinho.

Agradeço com carinho especial ao Gilson, amigo, profundo conhecedor do queijo Minas artesanal e que tanto auxiliou na viabilização deste trabalho.

À equipe do LabUFMG pela cooperação da realização de análises do leite cru.

Agradeço ao povo brasileiro que me financiou nesta empreitada através da Escola de Veterinária da UFMG e do CNPQ que conferiu apoio financeiro

RESUMO

O queijo Minas artesanal é oriundo da herança cultural de colonizadores portugueses nativos do Arquipélago dos Açores. A região da Serra da Canastra-MG se notabilizou pela produção e comercialização deste queijo artesanal que atualmente é protegido por Indicação Geográfica. Objetivou-se neste trabalho caracterizar, de forma microbiológica e físico-química, o queijo Minas artesanal elaborado na microrregião da Serra da Canastra, Minas Gerais, durante 22 dias de maturação em propriedades com habilitação sanitária no Instituto Mineiro de Agropecuária, ou em fase de habilitação, na estação chuvosa. Analisou-se a qualidade físico-química e microbiológica de 16 amostras de água utilizada nas queijarias, 16 de leite cru, 16 de pingo e 96 queijos, todos provenientes de 16 propriedades da região da Serra da Canastra-MG. Reduções ($p \leq 0,05$) nas contagens de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Staphylococcus* coagulase positivos foram detectadas em queijos ao longo dos 22 dias de maturação. A contagem de bactérias ácido-láticas (BAL) apresentou aumento até os nove dias de maturação, com queda dos nove aos 22 dias de maturação. A identificação proteômica dos diferentes morfotipos de colônias selecionadas da pesquisa de contagem de BAL indicou predominância de *Lactococcus lactis* e *Streptococcus* spp. no início da maturação. A identificação de bactérias do gênero *Staphylococcus* spp. foi frequente até os nove dias de maturação, não sendo detectadas a partir dos 14 dias. Houve detecção de *Bacillus cereus* em um queijo de cinco dias e um queijo de 14 dias de maturação. Não houve detecção de *Listeria monocytogenes* nas amostras de água, leite cru, pingo e queijos. Houve detecção de *Salmonella* spp. em uma amostra de leite cru, uma de queijo de um dia de maturação e uma em queijo de cinco dias de maturação. Entretanto, ao submeter as colônias identificadas como *Salmonella* spp. por meio de metodologias clássicas de cultivo à identificação proteômica, observou-se que nenhuma delas pertencia ao gênero *Salmonella* spp. A maturação dos queijos por 14 dias foi capaz de reduzir as contagens microbianas promovendo a conformidade com os parâmetros estabelecidos em legislação, com exceção dos casos onde houve incidência de recontaminações. A maturação também reduziu os teores percentuais médios de umidade, e aumentou os de extrato seco total, de gordura e proteínas dos queijos. Os resultados desta pesquisa corroboram para a publicação da Portaria IMA nº2051 de 07 de abril de 20221, definindo o período de 14 dias como o mínimo necessário à comercialização do queijo Minas artesanal da região da Serra da Canastra.

Palavras-chave: agricultura familiar; boas práticas agropecuárias; boas práticas de fabricação; inspeção; legislação de queijos; microbiologia; pingo; queijos artesanais

ABSTRACT

Minas artisanal cheese results from cultural heritage of Portuguese colonists native to the Azores Archipelago. The region of Serra da Canastra-MG was notable for the production and commercialization of this artisanal cheese that is currently protected by a Geographical Indication. The objective of this work was microbiological and physicochemical characterization of Minas artisanal cheese made in the region of Serra da Canastra, Minas Gerais, during 22 days of ripening in legalized farms, or in the qualification phase of sanitary legalisation. The physicochemical and microbiological quality of 96 cheeses, 16 samples of raw milk, 16 samples of *pingo* and 16 samples of water used in the cheese farms of 16 properties located in the Serra da Canastra-MG region were analyzed. Were detected reductions ($p \leq 0.05$) in the counts of total coliforms, thermotolerant coliforms and coagulase positive *Staphylococcus* in cheeses during the 22 days of ripening. The enumeration of lactic acid bacteria (LAB) increased up to nine days of ripening, with a decrease from nine to 22 days of ripening. The proteomic identification of the different morphotypes of colonies selected from the BAL enumeration survey indicated a predominance of *Lactococcus lactis* and *Streptococcus* spp. at the beginning of ripening. The identification of bacteria of the genus *Staphylococcus* spp. were frequent up to nine days of maturation, not being detected after 14 days of maturation. *Bacillus cereus* was detected in a cheese of five and a cheese of 14 days of ripening. There was no detection of *Listeria monocytogenes* in the water, raw milk, *pingo* and cheese samples studied. There was detection of *Salmonella* spp. in a raw milk sample, one cheese from one day of ripening and a five-day ripening cheese. However, the colonies were firstly identified as *Salmonella* spp. using classical methods of cultivation, but when they were submitted for proteomic identification, it was observed that none of them belonged to the genus *Salmonella* spp. 14 days of ripening was able to reduce the microbial counts in accordance with the parameters established in legislation, with the exception of cases where there is an incidence of recontamination. Maturation also influenced the average percentage of moisture, total dry stratum, fat and protein in the cheeses. The results of this research allowed the publication of the regulation IMA n°2051 of April 7, 20221, defining the period of 14 days of ripening as the minimum necessary for the production of artisanal Minas cheese from the Serra da Canastra region.

Key words: artisanal cheese; family farm; food legislation; food microbiology; good farming practices; good manufacturing practices; official food inspection

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Fatores de risco intrínsecos ao queijo e intrínsecos ao consumidor, relacionados ao consumo de queijos de leite cru.
FIGURA 2	Espécies de <i>Lactobacillus</i> spp. identificadas por metodologia independente de cultivo em queijo Minas artesanal de distintas microrregiões
FIGURA 3	Mapa das regiões produtoras de queijos artesanais em Minas Gerais.
FIGURA 4	Etiqueta de caseína aplicada em queijo Minas artesanal produzido por produtor associado a Aprocán.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.	Requisitos oficiais de qualidade microbiológica para queijos produzidos na Suíça
TABELA 2.	Requisitos oficiais de qualidade microbiológica para queijos produzidos no Brasil
TABELA 3.	Número de amostras de água de queijarias da região da Serra da Canastra e percentuais de adequação à legislação (conforme e não conforme) quanto aos parâmetros estabelecidos pela Portaria IMA 2033.
TABELA 4.	Valores médios, máximo, mínimo e coeficientes de variação (CV) de Contagem de Células Somáticas - CCS e Contagem Bacteriana Total - CBT encontrados em amostras do leite de queijarias na região da Canastra-MG na estação das chuvas
TABELA 5.	Valores médios, valores máximos, mínimos e coeficientes de variação (CV) de parâmetros microbiológicos encontrados em amostras do leite cru de queijarias na região da Canastra-MG na época das chuvas
TABELA 6.	Valores médios e coeficientes de variação (CV) dos parâmetros físico-químicos encontrados em amostras do leite de queijarias na região da Canastra-MG na época das chuvas
TABELA 7.	Valores médios, máximo, mínimo e coeficientes de variação (CV) dos parâmetros microbiológicos e físico-químicos encontrados em amostras de pingo de queijarias da região da Serra da Canastra-MG na época das chuvas
TABELA 8.	Descrição morfológica e identificação proteômica de colônias microbianas selecionadas da pesquisa de contagem de bactérias ácido-láticas em ágar MRS em QMA de um dia de maturação na região da Serra da Canastra-MG
TABELA 9.	Descrição morfológica e identificação proteômica de colônias microbianas selecionadas da pesquisa de contagem de BAL em ágar MRS em QMA de cinco dias de maturação na região da Serra da Canastra-MG
TABELA 10.	Descrição morfológica e identificação proteômica de colônias microbianas selecionadas da pesquisa de contagem de BAL em ágar

	MRS em QMA de nove dias de maturação na região da Serra da Canastra-MG
TABELA 11.	Descrição morfológica e identificação proteômica de colônias microbianas selecionadas da pesquisa de contagem de BAL em ágar MRS em QMA de 14 dias de maturação na região da Serra da Canastra-MG
TABELA 12.	Descrição morfológica e identificação proteômica de colônias microbianas selecionadas da pesquisa de contagem de BAL em ágar MRS em QMA de 18 dias de maturação na região da Serra da Canastra-MG
TABELA 13.	Descrição morfológica e identificação proteômica de colônias microbianas selecionadas da pesquisa de contagem de BAL em ágar MRS em QMA de 22 dias de maturação na região da Serra da Canastra-MG
TABELA 14.	Médias e coeficientes de variação (CV) da contagem de coliformes totais em Queijo Minas Artesanal da Serra da Canastra-MG durante 22 dias de maturação na estação chuvosa
TABELA 15.	Médias e coeficientes de variação (CV) da contagem de coliformes a 45° C em Queijo Minas Artesanal da Serra da Canastra-MG durante 22 dias de maturação no período chuvoso
TABELA 16.	Valores máximo e mínimo, medianas e coeficientes de variação (CV) da contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positivo em queijo Minas artesanal da Serra da Canastra-MG durante 22 dias de maturação em período chuvoso
TABELA 17.	Valores máximo e mínimo, medianas e coeficientes de variação (CV) da contagem de bactérias ácido-láticas em queijo Minas artesanal da Serra da Canastra-MG durante 22 dias de maturação em período chuvoso
TABELA 18.	Valores médios e coeficientes de variação (CV) da contagem de bolores e leveduras em queijo Minas artesanal da Serra da Canastra-MG durante 22 dias de maturação em período chuvoso
TABELA 19.	Valores médios e coeficientes de variação (CV) do teor (%) de umidade em queijo Minas artesanal de Serra do Salitre-MG durante o período de maturação
TABELA 20.	Valores médios e coeficientes de variação (CV) do teor (%) de extrato seco total em queijo Minas artesanal da Serra da Canastra-MG durante o período de maturação de 22 dias em estação chuvosa.
TABELA 21.	Valores médios e coeficientes de variação (CV) do teor (%) de proteínas em queijo Minas artesanal da Serra da Canastra-MG durante 22 dias de maturação em estação chuvosa
TABELA 22.	Valores médios e coeficientes de variação (CV) do teor (%) de gordura em queijo Minas artesanal da Serra da Canastra-MG durante o período de 22 dias de maturação
TABELA 23.	Valores médios, coeficientes de variação (CV) do teor (%) de gordura no EST em queijo Minas artesanal da Serra da Canastra-MG durante o período de maturação e classificação perante portaria 146/1996 do MAPA

TABELA 24.	Valores médios e coeficientes de variação (CV) do teor (%) de cloretos em queijo Minas artesanal da Serra da Canastra-MG durante 22 dias de maturação em estação chuvosa
TABELA 25.	Valores médios e coeficientes de variação (CV) da acidez titulável de queijo Minas artesanal da Serra da Canastra-MG durante 22 dias de maturação em estação chuvosa
TABELA 26.	Valores mínimos, máximos, medianas e coeficientes de variação (CV) do pH de queijo Minas artesanal da Serra da Canastra-MG durante 22 dias de maturação em estação chuvosa.
TABELA 27.	Percentual de amostras de queijo Minas artesanal da Serra da Canastra (n=16) em conformidade com a Portaria IMA n°2033/2021 e Portaria MAPA n° 146/1996 ao longo de 22 dias de maturação em estação chuvosa.

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1	Evolução do teor percentual de umidade em queijo Minas artesanal da Serra da Canastra-MG durante a maturação até 22 dias.
GRÁFICO 2	Evolução do teor percentual de estrato seco em queijo Minas artesanal da Serra da Canastra-MG durante 22 dias de maturação.

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1.	Matrizes coletadas, quantidade amostral e tipo de recipiente para coleta e transporte de amostra, empregados na pesquisa de água, leite, pingo e queijo Minas artesanal de diferentes períodos de maturação em estação chuvosa na região da Serra da Canastra
QUADRO 2.	Agenda de coleta de amostras de queijo Minas artesanal, de leite cru, de água e do pingo na pesquisa realizada em estação chuvosa na região da Serra da Canastra

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1.	Dados climatológicos da estação automática do Instituto Nacional de Meteorologia em Bambuí-MG entre 30/09/2018 a 22/10/2018
ANEXO 2.	Relatório emitido pelo aparelho FlexControl MicroFlex LT (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha) com sinalização em verde para <i>Score Value</i> que indica certeza na identificação da espécie <i>Citrobacter freundii</i>
ANEXO 3.	Relatório emitido pelo aparelho FlexControl MicroFlex LT (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha) com sinalização em amarelo para <i>Score Value</i> que indica certeza na identificação do gênero e incerteza para identificação da espécie de <i>Yarrowia lipolytica</i> .

- ANEXO 4. Relatório emitido pelo aparelho FlexControl MicroFlex LT (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha) com sinalização em verde e maior *Score Value* que indica certeza na identificação da espécie de *Serratia marcescens*.
- ANEXO 5. Relatório emitido pelo aparelho FlexControl MicroFlex LT (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha) com sinalização em amarelo com *Score Value* que indica certeza na identificação do gênero *Enterobacter* spp.
- ANEXO 6. Relatório emitido pelo aparelho FlexControl MicroFlex LT (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha) com sinalização em verde e maior *Score Value* que indica certeza na identificação da espécie de *Serratia marcescens*.
- ANEXO 7. Relatório emitido pelo aparelho FlexControl MicroFlex LT (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha) com sinalização em verde e maior *Score Value* que indica certeza na identificação da espécie de *Pseudomonas aeruginosa*.

Lista de Abreviaturas

°C	Graus Celsius
°D	Graus Dornic
µL	Microlitros
AFNOR	<i>Association Française de Normalization</i>
APROCAN	Associação de Produtores de Queijo da Canastra
AOAC	<i>Association of Official Agricultural Chemists</i>
BAL	Bactérias Ácido-Láticas
BHI	<i>Brain heart infusion</i>
BPF	Boas Práticas de Fabricação
CBT	Contagem Bacteriana Total
CCS	Contagem de Células Somáticas
CV	Coefficiente de Variação
DTIPOA	Departamento de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal
EMATER	Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural
ESD	Extrato seco desengordurado
ECP	<i>Staphylococcus</i> Coagulase Positivo
EST	Extrato seco total
g	Grama
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
INSTA&B	Instituto Senai de Tecnologia em Alimentos e Bebidas
IMA	Instituto Mineiro de Agropecuária
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia
IPHAN	Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional
Kg	Quilograma
L	Litro
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MG	Minas Gerais
Mg	Miligramas
mL	Mililitros

MRS	Man-Rogosa-Sharpe
NaCl	Cloreto de Sódio
NMP	Número Mais Provável
PCA	<i>Plate Count Agar</i>
Ppm	Parte por milhão
SEAPA	Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento
SEBRAE	Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UFLA	Universidade Federal de Lavras
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	15
2.	OBJETIVOS	17
3.	REVISÃO DE LITERATURA.	18
3.1	História do queijo Minas artesanal (QMA)	18
3.2	Transformações sociais e produtivas e o queijo Minas artesanal	20
3.3	Inocuidade em queijos de leite cru	24
3.4	Perigos físicos relacionados ao QMA	25
3.5	Perigos químicos relacionados ao QMA	26
3.6.	Perigos microbiológicos relacionados ao QMA	27
3.7.	Fatores de risco associados ao consumo de queijos de leite cru	29
3.8.	A diversidade microbiológica do queijo Minas artesanal: apenas patógenos e riscos?	31
3.9.	Legislações aplicadas à produção e comercialização de queijos de leite cru	33
3.8.	As regiões tradicionalmente produtoras do QMA e a Serra da Canastra-MG	38
3.11.	A maturação do QMA	41
4.	MATERIAL E MÉTODOS	43
4.1.	Amostragem	43
4.2.	Informações meteorológicas	44
4.3.	Análises Laboratoriais	45
4.3.1	Avaliação microbiológica e físico-química de amostras de água das queijarias	45
4.3.2.	Avaliação microbiológica e físico-química de leite cru utilizado na elaboração dos queijos pesquisados	45
4.3.3.	Avaliação microbiológica e físico-química de pingos	46
4.3.4.	Avaliação microbiológica e físico-química de queijos	46
4.3.5.	Identificação proteômica de micro-organismos	46
4.4.	Metodologias utilizadas nas pesquisas microbiológicas	47
4.4.1	Pesquisas de coliformes totais em queijos, leite e pingos	47
4.4.2.	Pesquisas de coliformes a 45°C em queijos, leite e pingos	47
4.4.3.	Pesquisas de coliformes totais e a 45°C em água	47
4.4.4	Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positivo	48
4.4.5.	Contagem de bactérias ácido-láticas	48
4.4.6.	Contagem de bolores e leveduras	48
4.4.7.	Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.	48
4.4.8.	Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	49
4.4.9.	Contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios	49
4.5.	Qualidade físico-química dos queijos	49
4.6.	Delineamento experimental e análises estatísticas	50
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
5.1.	Informações meteorológicas dos períodos de coleta	50
5.2.	Qualidade microbiológica e físico-química da água de queijarias da região da Canastra-MG na época das chuvas	50
5.3.	Qualidade microbiológica e físico-química do leite cru utilizado na elaboração dos queijos da região da Canastra-MG na época das chuvas	52
5.4.	Qualidade microbiológica e físico-química do pingos da região da Serra da Canastra-MG na época das chuvas	56
5.5.	Caracterização do queijo Minas artesanal de propriedades habilitadas e em fase de habilitação na região da Serra da Canastra-MG em diferentes períodos de maturação em estação chuvosa	57

5.5.1.	Identificações proteômicas de micro-organismos selecionados da pesquisa de contagem de bactérias ácido-láticas dos queijos em diferentes períodos de maturação	57
5.5.2	Contagem de coliformes totais	64
5.5.3.	Contagem de coliformes a 45°C	66
5.5.4.	Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positivo	67
5.5.5.	Contagem de bactérias ácido-láticas	68
5.5.6.	Presença de <i>Salmonella</i> spp.	69
5.5.7.	Contagem de bolores e leveduras	70
5.5.8.	Presença de <i>Listeria monocytogenes</i>	71
5.5.9.	Teor de umidade	71
5.5.10.	Teor de extrato seco total	73
5.5.11.	Teor de Proteína	74
5.5.12.	Teor de Gordura	75
5.5.13.	Teor de Cloretos	76
5.5.14.	Acidez titulável	77
5.5.15.	pH	78
5.5.16.	Detecção de amido e nitrito na massa dos queijos	79
5.6.	Integração pesquisa - extensão rural	79
5.7.	Período mínimo de maturação para adequação à legislação vigente	79
6.	CONCLUSÕES	81
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82
8.	ANEXOS	101

1. INTRODUÇÃO

Mesmo existindo várias teorias sobre como surgiu o queijo, não se sabe onde nem quando este item alimentício foi descoberto. Vários documentos fazem referências sobre este alimento desde o período que antecedeu o nascimento de Jesus Cristo. Muitos citam a Mesopotâmia; porém, definir o local onde o queijo surgiu é quase impossível. Fato é que o queijo é um dos alimentos mais importantes para os seres humanos, pois representa duas conquistas humanas no seu processo de evolução na Terra: a domesticação de animais de interesse produtivo e o desenvolvimento de tecnologias de processamento de alimentos. O queijo pode ter aparecido em diversas partes do mundo simultaneamente, pois diferentes povos foram identificados como praticantes de domesticação de animais mamíferos (RAMVI, 2014). Salqué *et al.* (2013) apontaram o registro mais antigo relacionado à produção de queijo no mundo. Neste trabalho, a equipe comprovou a finalidade de um utensílio de argila datada de 6.000 anos antes de Cristo. Este utensílio remete a um vasilhame dotado de pequenos furos confeccionados pelos hominídeos da era neolítica. Nestas peças arqueológicas, os autores encontraram resquícios de gordura láctea, provavelmente oriunda de espécies ruminantes. Assim, suspeita-se que a finalidade do utensílio em questão era de separar os sólidos do soro do leite.

Entretanto, conforme aponta Curry (2013), uma peça arqueológica similar à analisada pela equipe de Salqué (2013), foi encontrada por outro pesquisador (Peter Bogucki) durante a década de 1970, na mesma região que Salqué e colaboradores acessaram a referida peça. A diferença em questão é que o artefato encontrado por Peter Bogucki é datado de 7.000 anos a.C., o que pode indicar que a produção de queijos é ainda mais antiga.

A elaboração de queijos significou um importante avanço para a humanidade. Em tempos de escassez de alimentos e nomadismo a tecnologia de converter um alimento de estimado valor nutricional, o leite, em outro alimento que também apresenta elevado valor nutricional; porém, agregado a menor perecibilidade e maior facilidade de transporte, certamente impactou positivamente para a adaptação humana na Terra. Não obstante, se observa atualmente uma rica diversidade de queijos artesanalmente elaborados em diversas regiões do planeta e que seguem receitas e tradições de passados longínquos. Licitra (2010) adverte o caráter histórico, tradicional que envolve a produção de queijos artesanais no mundo. O autor aborda ainda que mesmo existindo milhares de queijos deste tipo ao redor do mundo, os quais alimentaram bilhões de pessoas por séculos, poucos trabalhos científicos foram realizados para estudar este tipo de alimento.

Tal constatação resulta em diversos problemas contemporaneamente observados nas cadeias produtivas dos queijos artesanais. Problemas como legislações desamparadas de consensos técnicos sobre o produto e sua produção resultam em conflitos e descontentamentos entre produtores, consumidores e legisladores. Outro aspecto relevante é que a maior parte da humanidade passou por uma profunda transformação, relativamente recente, na oferta de alimentos que consome cotidianamente. Essa transformação se deu principalmente no período após a Segunda Guerra Mundial, quando se experimentou a rápida ascensão dos alimentos industrializados que passaram a compor a dieta dos consumidores em diferentes partes do mundo. Como resultado desta transformação, os alimentos artesanais passaram a ser regulados seguindo lógicas industriais de inspeção, ou em muitos casos passaram a ser proibidos, principalmente sob a justificativa de riscos microbiológicos que podem ser controlados por beneficiamentos como a pasteurização, desenvolvida pelo histórico cientista Louis Pasteur.

Assim, é importante refletir que as descobertas de Louis Pasteur em meados do século XIX possibilitaram compreender que no ambiente em que vivemos existem micro-organismos vivos e

que podem inclusive ser responsáveis por ocasionar doenças em seres humanos. Pasteur demonstrou que estes micro-organismos não são gerados espontaneamente, mas na verdade estão presentes na natureza e podem eventualmente contaminar substâncias de importância para o ser humano, inclusive os alimentos. A partir desta comprovação, a proposição de um método de tratamento para os alimentos por meio da aplicação controlada de calor nos mesmos, a pasteurização, se mostrou revolucionária e de grande valor na conservação e segurança de bebidas como o vinho, a cerveja e o leite. Os ensinamentos de Louis Pasteur são base até os dias atuais para o processamento de diversos alimentos e é inquestionável que suas contribuições foram e continuam sendo cruciais para a diminuição de casos de doenças causadas por micro-organismos e veiculadas pelo consumo de alimentos contaminados.

Entretanto, o avançar da ciência aponta para outros olhares também aplicados aos micro-organismos, de que eles não devem ser vistos unicamente como promotores de doença, e sim que eles também podem desempenhar funções benéficas ao organismo humano (STÜRMER *et al.*, 2012) e no desenvolvimento de alimentos. Possivelmente nunca foi objetivo de Pasteur vincular a “pecha de vilão” aos micro-organismos. Entretanto, as formas com que a humanidade lidou com as descobertas de Pasteur levaram à edificação de sociedades que abominam os micro-organismos e lançam mão, de modo exagerado, de diversos produtos antimicrobianos como sabonetes, cremes dentais, sanitizantes domiciliares e até mesmo uso descontrolado de drogas farmacêuticas. Tudo para evitar o inevitável contato entre micro-organismos presentes na natureza e o organismo humano. Os alimentos também entram neste contexto com a supervalorização de produtos com a menor carga microbiana possível, além da utilização de antimicrobianos como ingredientes aditivos nos alimentos.

De forma oposta à esta lógica, alguns grupos desenvolveram certa aversão a alimentos industrializados, e como uma contra tendência à aversão aos micro-organismos, esses grupos passam a priorizar o consumo de alimentos *in natura* ou artesanalmente elaborados, além de produtos orgânicos ou produzidos sob lógicas parecidas. Neste contexto, o Brasil vivencia neste início de século XXI uma fase de valorização de queijos artesanais, em especial aqueles elaborados a partir de leite cru.

A produção de queijos artesanais de leite cru no Brasil decorre de herança cultural dos europeus. Entre as localidades de destaque na produção de queijos tradicionais no Brasil, o estado de Minas Gerais desponta como protagonista, sendo a produção e consumo de queijos tradicionais uma das principais características culturais das populações residentes neste estado. O queijo Minas artesanal é o principal queijo tradicional produzido neste estado, e teve seu modo de elaboração tombado como patrimônio histórico imaterial do Brasil (IPHAN, 2008).

Em contramão à destacada relevância deste queijo, aponta-se carência de pesquisas que possam embasar melhores legislações aplicadas à inspeção sanitária na produção deste alimento. Assim, pesquisas sobre as características físico-químicas e microbiológicas deste queijo durante a maturação se tornam fundamentais para se determinar, por exemplo, período mínimo de tempo de maturação adequado à promoção da inocuidade e atendendo o anseio de característica sensorial que o mercado consumidor deseja a este tipo de queijo.

Deste modo, a pesquisa dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos do queijo Minas artesanal elaborado na região da Serra da Canastra se faz necessária para determinar se o período de maturação proposto em legislação é adequado.

2. OBJETIVOS

Objetiva-se caracterizar de forma microbiológica e físico-química, o queijo Minas artesanal elaborado por produtores habilitados e em fase de habilitação no Instituto Mineiro de Agropecuária, na microrregião da Canastra, Minas Gerais, durante 22 dias de maturação, no período chuvoso.

2.1. Objetivos específicos

- Conhecer as características microbiológicas e físico-químicas da água utilizada nas queijarias da Serra da Canastra - MG.
- Avaliar o perfil microbiológico (contagens de bactérias ácido-láticas – BAL; coliformes totais e termotolerantes; *Staphylococcus* coagulase positivo (ECP) e bolores e leveduras e pesquisa de *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*) do pingo utilizado na produção de queijo Minas artesanal da microrregião da Serra da Canastra - MG.
- Avaliar o perfil físico-químico de acidez titulável, teor de cloretos e pH do pingo utilizado na produção de queijo Minas artesanal da microrregião da Serra da Canastra - MG.
- Determinar o perfil microbiológico (contagens de BAL; coliformes totais e termotolerantes; ECP e bolores e leveduras e pesquisa de *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*), além da possível presença de inibidores microbianos no leite cru utilizado na produção de queijo Minas artesanal da microrregião da Serra da Canastra - MG.
- Avaliar a composição centesimal, a contagem bacteriana total (CBT) e a contagem de células somáticas (CCS) no leite cru utilizado na produção de queijo Minas artesanal da microrregião da Serra da Canastra - MG.
- Estudar o perfil microbiológico (contagens de bactérias ácido-láticas – BAL; coliformes totais e termotolerantes; ECP, bolores e leveduras e pesquisa de *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*) e físico-químico (teores percentuais de umidade, extrato seco total – EST, gordura, gordura no extrato seco, proteínas e determinações de pH, acidez titulável, cloretos e nitrito) do queijo Minas artesanal da microrregião da Serra da Canastra - MG.
- Avaliar o percentual das amostras de água, leite cru e queijo quanto ao atendimento às especificações físico-químicas e microbiológicas que constam nas legislações oficiais de inspeção.
- Contribuir para o conhecimento do período mínimo de maturação de queijo Minas artesanal da microrregião da Serra da Canastra – MG e fornecer dados científicos para a elaboração de normas de inspeção dos queijos da região.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. História do queijo Minas artesanal (QMA)

Em Minas Gerais, a produção artesanal de queijos de leite cru é uma atividade tradicional e remete ao processo de ocupação desse território, durante os séculos XVII e XVIII, iniciado com a busca de minerais e pedras preciosas. Sabe-se que neste período ocorreu intensa migração de pessoas que vieram a se estabelecer nas regiões de mineração do estado. Mas a busca pela riqueza por meio da mineração de pedras preciosas foi uma aventura pouco planejada, de modo que o quadro de abastecimento alimentar fora descrito como gravemente insuficiente para a manutenção desse contingente populacional. Neste contexto, pode-se projetar a importância estratégica da elaboração de queijos, tendo em vista seu aspecto nutritivo e duradouro frente ao seu precursor, o leite. Assim, percebe-se que a cultura de se fazer queijos artesanalmente fora forjada desde os primórdios da ocupação europeia em território mineiro. Entretanto, a relação entre a mineração de pedras preciosas e a elaboração de queijos artesanais em Minas Gerais é documentada em um arquivo histórico envolvendo uma circunstância curiosa, que embora não ilustre a importância deste item enquanto alimento estratégico para as populações daquela época, já ilustra a presença dos queijos artesanais neste momento da história de Minas Gerais:

“Há uma ordem do Conde de Valadares, datada de 1772, que exige que os Registros de Passagens (postos de fiscalização) da região do Serro Frio façam gestão de “furarem os queijos que passarem pelos Registros (...) a fim de evitar o contrabando de ouro e de diamantes”, evidenciando a produção e a circulação do produto. Certamente que o queijo, nos descaminhos do metal e da pedra preciosa, era instrumento de tráfico e de contrabando a ludibriar os fiscais da Coroa” (IPHAN, 2008).

Possivelmente, este é o relato histórico mais antigo que confirma a produção de queijos artesanais em território do estado de Minas Gerais.

Segundo o dossiê técnico “Modo Artesanal de Fazer Queijo Minas” (IPHAN, 2008) a receita básica foi legada pelos antigos colonizadores portugueses, utilizando-se leite cru, coalho e sal além da qual se adiciona o “pingo”, que é um fermento natural desenvolvido ao longo dos tempos, a partir do soro drenado e fermentado durante a noite, oriundo do próprio queijo da fabricação do dia anterior. Esse soro fermento confere características microbiológicas específicas, condicionadas pelo tipo de solo, clima e vegetação e demais características de cada lugar. Segundo Ribeiro (1959), a produção de queijo Minas em fazendas era semelhante à do queijo Serra da Estrela de Portugal.

Outra vertente sobre as origens do QMA discorda de ser uma derivação do queijo Serra da Estrela. Mergarejo Netto (2011) ao estudar as origens do QMA, aponta que ele é uma derivação do queijo do Pico, produzido especificamente por habitantes do arquipélago dos Açores, Portugal. Assim, o autor discorre que o queijo Serra da Estrela é produzido exclusivamente com leite de ovelhas da raça Bordaleira, havendo ainda a peculiar técnica de coagulação do leite com a utilização da

flor do cardo. O formato do queijo Serra da Estrela é tipicamente cilíndrico sem bordas definidas e com faces abauladas. Todas estas características do queijo Serra da Estrela em nada se assemelham ao queijo Minas artesanal. Diante de tamanhas diferenças, este pesquisador se dedicou a estudar queijos portugueses produzidos a partir de leite de vaca, e encontrou no Arquipélago dos Açores o que provavelmente é a origem do queijo Minas artesanal. Sabe-se que nos Açores estabeleceram-se povoados oriundos de regiões holandesas e, assim, a cultura de criação de bovinos leiteiros é uma peculiaridade deste povoado em terras portuguesas. Mergarejo Netto (2011) aponta similaridades entre os queijos do Pico e de São Jorge, produzidos nos Açores, e o QMA, produzido em terras mineiras, inclusive a utilização do pingo, que possivelmente é uma herança cultural açoriana. Por fim, o autor demonstra ainda, relatos históricos que demonstram navios portugueses do período de colonização do Brasil, que oriundos dos Açores, traziam portugueses que se deslocariam a regiões do estado de Minas Gerais.

Assim, pode-se entender que, de fato, há grande similaridade entre o QMA e os queijos historicamente produzidos no arquipélago dos Açores, diferentemente do observado ao se comparar o QMA e o queijo Serra da Estrela.

Atualmente, os queijos Minas artesanais são produzidos basicamente com a mesma tecnologia, existindo pequenas variações de produtor a produtor (DORES, *et al.*, 2013; MARTINS *et al.*, 2015; FIGUEIREDO, 2018).

Observa-se também que novas tecnologias foram incorporadas à atividade leiteira, assim, por exemplo, a substituição da ordenha manual pela ordenha mecânica nas propriedades rurais. A alimentação animal, que outrora era à base de pastos nativos como *Melinis minutiflora* (capim gordura), *Hyparrhenia rufa* (capim jaraguá), *Panicum spp.* (capim colônia) e *Echinoalaena inflexa* (capim flechinha) com pouca ou nenhuma suplementação mineral, atualmente é constituída por pastos de diversos tipos de braquiárias, além de silagens, capineiras, rações, suplementações minerais e diversas outras estratégias que compõem o heterogêneo cenário produtivo leiteiro em Minas Gerais. No ato de se fazer os queijos, algumas mudanças também são descritas. As bancadas, pás de mistura e formas de madeira foram, em sua maioria, substituídas por utensílios de plástico, ou aço inox, além das bancadas que atualmente são, em sua maioria, de pedra ardósia. A coagulação do leite, outrora realizada com auxílio de fragmentos de abomaso de bezerras¹ (normalmente defumados e salgados sobre o fogão de lenha) devido à ação da quimosina², hoje é substituída por coalhos sintéticos elaborados por bactérias ou leveduras. Tais alterações tecnológicas são naturais no processo histórico inacabado do QMA e não comprometem seu caráter tradicional; porém, muito provavelmente resultaram em transformações pouco conhecidas deste complexo alimento. Certamente, em um futuro próximo, serão observadas novas transformações como criações animais em regimes confinados e intensivos, que atualmente despontam como tendência na cadeia produtiva do leite e do queijo, dentre outras novas tecnologias e hábitos que certamente surgirão.

¹ Albuquerque (1986) *apud* Oliveira (2014) destaca ainda a prática de se usar fragmentos de estomago de animais silvestres como antas e veados uma vez que os produtores se recusavam a abater bezerras para elaboração dos queijos.

² Além da quimosina, a pepsina presente em abomaso de bovinos adultos também era utilizada para coagulação do leite. Essa enzima é mais proteolítica e menos específica que a quimosina e, em condições favoráveis, pode hidrolisar excessivamente as caseínas, podendo causar diminuição no rendimento, sabor amargo e aumento de proteólise geral nos queijos (DORNELLAS, 1997; FERNANDES, 2003).

3.2. Transformações sociais e produtivas e o queijo Minas artesanal

Se o QMA se apresentou como alimento estratégico de enfrentamento às condições adversas encontradas desde a colonização do estado, pode-se entender que sua perpetuação nos hábitos alimentares do povo mineiro ultrapassa as circunstâncias estratégicas. Não restam dúvidas de que este queijo agrada ao paladar da população mineira e sua elaboração se tornou repertório comum nas fazendas produtoras de leite deste estado. Assim, o estudo do histórico relacionado ao QMA a partir do século XX está então intimamente relacionado às transformações vivenciadas pelo setor agrário brasileiro a partir do referido século.

O transcorrer do século XX significou a transformação de um Brasil majoritariamente rural em um Brasil predominantemente urbano. Nos anos 1950, em Minas Gerais, 74% da população residia no meio rural, de modo que em 1980 esse percentual fora de 32,7% e no ano 2000 já havia sido reduzido para 18,0% (EMATER, 2014). O esvaziamento populacional das áreas rurais, por sua vez, acompanhou uma intensa modificação da produção agrícola. Assim, a cadeia produtiva do QMA passou por diversas transformações que acompanharam tais mudanças.

Possivelmente, o primeiro grande fato de importância na cadeia produtiva do QMA no século XX foi justamente a emergência de centros urbanos que passaram a receber contingentes populacionais oriundos de áreas rurais. Não é objetivo destrinchar o fenômeno do êxodo rural brasileiro, mas pode-se destacar que, embora este êxodo tenha apresentado pico como consequência de políticas empreendidas pelo Regime Militar (1964 – 1988), décadas antes, o ex-presidente Getúlio Vargas já demonstrava preocupação com o fenômeno:

“O crescimento das nossas cidades tem-se intensificado à medida que se desenvolvem as nossas indústrias. Essa evolução encerra, de par com os seus benefícios, perigos contra os quais devemos nos acautelar em tempo, refreando o urbanismo excessivo, que despovoam os campos e enfraquece a agricultura. Os novos estabelecimentos industriais deverão localizar-se, tanto quanto possível, nas proximidades das fontes produtoras de matérias primas, em vez de procurar os grandes centros urbanos. Facilitarão, assim, a solução do problema das moradias saudáveis e baratas e o aprovisionamento, a preços baixos, dos gêneros necessários à alimentação.” – Discurso proferido pelo então presidente Getúlio Vargas durante visita à Porto Alegre em 12 de novembro de 1940 (VARGAS, 1951).

Esse movimento populacional intensificou a necessidade de se deslocar os alimentos produzidos em áreas rurais até os centros urbanos. Justamente como consequência deste movimento tem-se a emergência dos centros urbanos do estado de Minas Gerais, onde a capital Belo Horizonte ilustra exemplarmente este fenômeno. Para o QMA, esta nova configuração representou a manutenção deste queijo como alimento valorizado pelo povo mineiro e, mais do que isto, fez surgir símbolos que até os dias atuais são intimamente ligados ao QMA. Refere-se aqui, especificamente aos mercados tradicionais que possuem na comercialização do QMA um dos principais itens de venda. Certamente, o exemplo mais conhecido é o do Mercado Central de Belo Horizonte que, inaugurado em 1929, é atualmente um importante símbolo ligado ao QMA. Entretanto, é válido destacar diversos outros mercados similares que apresentaram ou ainda apresentam importância histórica na manutenção da comercialização do QMA em Belo Horizonte, como a Feira dos

Produtores, inaugurada em 1950, o Mercado Distrital do Cruzeiro e o Mercado Novo, inaugurados na década de 1970, dentre outros. Estes mercados tradicionais apresentaram e ainda apresentam importância na manutenção da comercialização do QMA em centros urbanos devido a outro fenômeno que atuou marcadamente na história recente relacionada a este queijo, o surgimento dos serviços oficiais de inspeção de produtos de origem animal.

Os serviços oficiais de inspeção no Brasil surgiram justamente do imperativo de se promover a saúde pública da população tendo-se em mente os desafios crescentes de se oferecer alimentos de qualidade mesmo tendo-se que transportá-los até os grandes centros urbanos que se expandiam descontroladamente no século XX. Assim, embora o Brasil tenha implementado seu Serviço de Inspeção Federal (SIF) por meio do Decreto nº 11.462, de 27 de janeiro de 1915, este abordava apenas empreendimentos produtores de carne destinados à exportação. Deste modo, as primeiras legislações destinadas a implementar e disciplinar a inspeção de todos os produtos de origem animal no país, se deram ao início da década de 1950 (DIAS, 2004). Antes de se discutir o efeito destas ações no QMA, necessita-se aprofundar os esclarecimentos relacionados à transformação da produção agropecuária inerentes a este período.

O século XX marcou uma profunda transformação mundial na produção agropecuária. Trata-se da chamada Revolução Verde. Esse termo é usado para denominar o fenômeno de transformação da produção agropecuária mundial, que partiu de uma produção baseada em conhecimentos não científicos, acumulados de gerações em gerações, para novos modelos produtivos de base científica e operados em dependência a uma rede específica provedora de insumos e uma rede beneficiadora da produção primária (GONÇALVES *et al.*, 2019). Embora a Revolução Verde possa ser detectada desde antes da Segunda Guerra Mundial, sabe-se que este evento contribuiu decisivamente na intensificação desta transformação. Isto, devido à urgência de se incrementar a produção agropecuária, devastada durante a guerra e, ainda, decorrente do relevante ganho tecnológico alcançado durante a guerra. No Brasil, a Revolução Verde não aconteceu na mesma velocidade experimentada pelos países centrais, mas pode-se dizer que a própria criação de uma legislação nacional de inspeção industrial e sanitária, que teve como base o modelo norte-americano, evidencia reflexo deste movimento mundial no país. A Revolução Verde trouxe em conjunto a supervalorização de uma nova concepção que embasaria estas transformações: a ideologia produtivista. Assim, no bojo deste rearranjo do setor agrário brasileiro, viu-se a supervalorização da produção agropecuária industrializada sobrepujando a produção de base artesanal.

A publicação do Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitário de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), em 1952, evidencia este movimento de supervalorização do industrial *versus* o artesanal. Embora o primeiro regulamento de inspeção no Brasil tenha contemplado a possibilidade de se produzir e comercializar o “queijo Minas”, elaborado com leite cru, fora estabelecido a necessidade de se introduzir metodologias industriais na elaboração destes queijos. Neste sentido, Brasil (1952) estabeleceu:

“Art 26 –

(...) 6 - “queijaria”, assim denominado o simples estabelecimento situado em fazenda leiteira e destinado à fabricação de queijo Minas.

(...) Art. 35 - *Tratando-se de estabelecimento de leite e derivados, devem satisfazer mais às seguintes condições:*

A - comuns a todos os estabelecimentos:

1 - estar localizado em pontos distantes de fontes produtoras do mau cheiro;

2 - construir as dependências de maneira a se observar, se for o caso, desníveis na seqüência dos trabalhos de recebimento, manipulação, fabricação e maturação dos produtos;

3 - ter as dependências principais do estabelecimento, como a de recebimento de matéria-prima, desnatação, beneficiamento, salga, cura, engarrafamento e depósito de produtos utilizados na alimentação humana, separadas por paredes inteiras das que se destinam à lavagem e esterilização do vasilhame ou ao preparo de produtos não comestíveis;

4 - ser construído em centro de terreno, afastado dos limites das vias públicas, preferentemente 5 m (cinco metros) na frente e dispor de entradas laterais que permitam a movimentação dos veículos de transporte;

5 - ter pé-direito mínimo de 3,50m (três metros e cinquenta centímetros) nas dependências de trabalho; 3 m (três metros) nas plataformas, laboratórios e lavagem do vasilhame; 2,80m (dois metros e oitenta centímetros) nos vestiários e instalações sanitárias;

6 - ter as dependências orientadas de tal modo que os raios solares não prejudiquem os trabalhos de fabricação ou maturação dos produtos;

7 - dispor de aparelhagem industrial completa e adequada para a realização de trabalhos de beneficiamento e industrialização, utilizando maquinaria preferentemente conjugada;

8 - dispor de dependência ou local apropriado e convenientemente aparelhado, a juízo do D.I.P.O.A., para a lavagem e esterilização de vasilhame, carros-tanque e frascos. As fazendas leiteiras e os abrigos rústicos, os postos de recebimento, os postos de desnatação e as queijarias podem ter instalações simples para água quente e vapor;

9 - dispor de depósitos para vasilhame e frascos;

10 - dispor, conforme o caso, de garagem, para a guarda de carros-tanque;

B - condições específicas aos diversos estabelecimentos, a saber:

(...) i) queijarias:

1 - ter dependência de recebimento de leite provida de água quente;

2 - ter dependência de manipulação;

3 - ter depósito.

§ 10 - As "queijarias" só podem funcionar quando filiadas a entrepostos de laticínios registrados, nos quais será complementado o preparo do produto com sua maturação, embalagem e rotulagem. Seu funcionamento só é permitido para manipulação de leite da própria fazenda e quando não possa ser enviado para postos de refrigeração, postos de recebimento, postos de desnatação, postos de coagulação, usina de beneficiamento, fábrica de laticínios, entrepostos-usina e entrepostos de laticínios.

§ 11 - As "queijarias", de acordo com a sua capacidade de produção, devem orientar a instalação por plantas padrões do D.I.P.O.A." BRASIL, 1952.

Este conjunto de disposições legais impostos à produção do QMA, no início da década de 1950, iniciou um cenário desagradável no histórico da cadeia produtiva deste queijo: o estabelecimento da chamada "clandestinidade". Qualquer estudo raso do quadro socioeconômico do meio rural brasileiro na década de 1950 apontaria a alienação de tais proposições legais sobre o modo de produção do QMA, que se materializou na informalidade da comercialização deste queijo. Este fato permitiu a retomada da explanação sobre a sinergia entre o QMA e os mercados tradicionais, como o Mercado Central de Belo Horizonte na manutenção deste queijo nos hábitos do povo mineiro e até mesmo em populações de outros estados do país. A possibilidade de se comercializar o QMA nestes importantes mercados que conseguem aliar a informalidade e a venda de grandes volumes de mercadoria, possivelmente foi um importante fato no momento em que este queijo passou a ser mais demandado em centros urbanos devido ao êxodo rural, e momento também que este produto passou a figurar como "clandestino".

Deste modo, pode-se notar que os capítulos mais contundentes do histórico recente do QMA são aqueles relacionados às legislações e as conseqüentes dificuldades em se formalizar a comercialização deste produto. Assim, o quadro que já era desfavorável desde a publicação do primeiro RIISPOA em 1952, se agravou com a publicação do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos em 1996 (BRASIL, 1996). Este regulamento exigiu um período mínimo de 60 dias de maturação, em detrimento do mínimo de dez dias que era disposto no Regulamento de 1952 (BRASIL, 1952). O desenrolar dos acontecimentos ao final dos anos 1990 e início dos anos 2000 foi de intensificação nas ações de combate a comercialização do QMA clandestino, mas também de mobilização dos produtores deste queijo e demais setores organizados da sociedade que somaram forças pressionando os governantes a editarem medidas flexibilizando as regras de formalização da comercialização do QMA. Neste âmbito, teve-se inclusive o tombamento do modo de elaboração do QMA como patrimônio histórico imaterial do Brasil (IPHAN, 2008), medida que contribuiu na luta pela legalização da comercialização deste queijo. Assim, no estado de Minas Gerais foram editadas e implementadas legislações que a partir do início dos anos 2000 possibilitaram a formalização da comercialização do QMA dentro do estado.

Durante a década de 2010 ocorreram importantes conquistas ao QMA, como diversos prêmios internacionais, valorização econômica de algumas variedades deste queijo, bem como a viabilização de estruturas legais permitindo a comercialização em todo território nacional por um pequeno grupo de produtores. Assim, observam-se inclusive alguns casos de moradores urbanos que optaram em ir para o campo para produzir e comercializar o QMA.

O avançar do século XX trouxe, assim, transformações de âmbito social aos atores relacionados à cadeia produtiva do QMA. Neste sentido chama atenção a melhoria nas condições de vida da

população rural brasileira que embora ainda insatisfatórias e com presença de inúmeros e graves bolsões de pobreza, apresentou melhorias. Observou-se ainda a diminuição do número de produtores deste queijo que contrasta com relevantes casos de sucesso e expansão da produção por parte destes produtores.

Observa-se que a construção de um arcabouço legal ajustado para a realidade produtiva brasileira e que permita a evolução da segurança no consumo de queijos artesanais é um desafio ainda contemporâneo, em que a inocuidade deste alimento se apresenta como principal preocupação de técnicos e legisladores.

3.3. Inocuidade em queijos de leite cru

A inocuidade em queijos de leite cru é um assunto polêmico desde a ascensão dos alimentos industrializados que passam por processos controlados de eliminação de micro-organismos patogênicos potencialmente presentes. Junto a esse novo conceito de alimentos, emergiu também um conjunto de opiniões que por vezes se converteram em leis de que os derivados lácteos produzidos com leite cru deveriam ser banidos. Não é difícil encontrar autores contrários ao consumo de queijos de leite cru (IFST, 1998; ESPIE *et al.*, 2006; CDC, 2007).

A ideia de se banir os queijos de leite cru já foi formalmente apresentada para inclusão no *Codex alimentarius*, na elaboração das resoluções da União Europeia e ao *Food and Drug Administration* (FDA) (DIXON, 2000; WEST, 2008). Embora os riscos microbiológicos se configurem como argumento oficial predominante para o banimento destes queijos, discute-se também o aspecto econômico articulado por grandes corporações que lideram as vendas de queijos industrializados elaborados com leite pasteurizado (WEST, 2008; LICITRA 2010). Neste sentido, West (2008) descreveu eventos em que grupos industriais ligados ao mercado de lácteos praticaram *lobby* para o banimento de queijos de leite cru no FDA e na União Europeia. Ainda que se espere maior risco microbiológico associado a queijos de leite cru, alguns autores apresentaram resultados contrários, apontando queijos de leite pasteurizados igualmente (SCHMID *et al.*, 2016) ou até mais contaminados com micro-organismos potencialmente patogênicos ou mais associados a surtos (RANCE, 1989; JOHNSON *et al.*, 1990; RUDOLF & SCHERER, 2000; YOON *et al.*, 2016).

Neste sentido, especificando esses resultados, Yoon *et al.* (2016) apresentaram uma compilação, que será mais detalhada adiante, de surtos causados por queijos de leite cru e queijos de leite pasteurizado. Rudolf e Scherer (2000) encontraram maior incidência de contaminação por *L. monocytogenes* em “*red smear cheese*” de leite pasteurizado se comparado a queijos elaborados com leite cru. Johnson *et al.* (1990) procederam revisão de literatura em trabalhos de 1948 a 1988 nos quais encontraram seis relatos de surtos de doenças transmitidas por consumo de queijos nos EUA e Canadá, sendo apenas dois causados por queijos de leite cru, e sendo a contaminação após a pasteurização a principal causa. Rance (1989) relatou que a pasteurização não é completamente eficaz em inativar *Listeria monocytogenes* que eventualmente pode contaminar o leite. Entretanto, esse micro-organismo poderia resistir ao tratamento térmico citado quando em contaminações mais elevadas do que as naturalmente observadas. O argumento levantado para se discutir estes resultados indesejáveis relacionados a queijos de leite pasteurizado é de que nestes queijos não se observa uma defesa microbiana para casos de eventuais contaminações após a pasteurização do leite. Esta defesa microbiana estaria relacionada à presença de grande quantidade de micro-organismos vivos em queijos de leite cru, que atuam reduzindo a quantidade de nutrientes

disponíveis, acidificam o meio pela conversão da lactose em ácido lático e ainda podem produzir bacteriocinas que inibem o crescimento de outros micro-organismos (SALES, 2019).

Se não é possível apontar um consenso sobre um possível maior risco inerente ao consumo de queijos de leite cru, pode-se encontrar um número substancial de estudos de detecção ou de surtos envolvendo queijos de leite cru. As bactérias se destacam como os principais micro-organismos envolvidos em surtos relacionados a este alimento.

Em um levantamento realizado por Yoon *et al.* (2016) foram encontrados trabalhos relatando 76 surtos relacionados a queijos de leite cru no mundo, com 53 óbitos descritos. Os autores fizeram compilação semelhante; porém, elencando eventos envolvendo queijos de leite pasteurizado e listaram 38 surtos com 96 – 100 óbitos descritos. Percebe-se que, embora os queijos de leite pasteurizado sejam mais produzidos e consumidos em países desenvolvidos e de economia emergente, países estes que concentram a produção científica e o controle no monitoramento de doenças transmitidas por alimentos, esses derivados lácteos resultaram em menos surtos se comparados aos queijos de leite cru. Esta constatação reforça expectativas teóricas de se obter mais segurança microbiológica neste tipo de alimento, se comparado aos queijos de leite cru. Entretanto, se observa também um número maior de óbitos relacionados aos queijos de leite pasteurizado. Embora Yoon *et al.* (2016) não tenham discutido estas constatações, pode-se sugerir que os queijos de leite pasteurizado são normalmente produzidos em ambiente industrial e em escalas superiores à produção artesanal de queijos de leite cru. Assim, a presença de um patógeno perigoso em um queijo produzido em larga escala, coloca um elevado número de consumidores em risco, podendo ocasionar surtos de grande proporção e com elevado número de óbitos.

Pode-se dizer que não existe alimento 100% seguro e isento de riscos para o consumidor. A inocuidade é uma qualidade que deve ser perseguida na elaboração de alimentos, utilizando-se de métodos adequados de produção e de obtenção de matéria prima, além de cuidados após a elaboração. Embora o universo de produções científicas não permita ser conclusivo sobre a inocuidade de queijos de leite cru, especialmente comparando com seu similar fabricado com leite termicamente processado, percebe-se a necessidade de se ter um arcabouço legislativo específico para este tipo de queijo, contemplando todas as etapas de elaboração e os riscos mais relevantes frente a este tipo de alimento. Deve-se lembrar ainda que existem outros tipos de riscos inerentes aos queijos artesanais, como aqueles derivados de perigos químicos e físicos para além dos microbiológicos, que por sua vez não se resumem a presença de grupos bacterianos patogênicos no alimento.

3.4. Perigos físicos relacionados ao QMA

Os perigos físicos se relacionam a objetos físicos indesejados que podem estar presentes no queijo. Esses objetos seriam principalmente cabelos ou pelos de manipuladores ou de animais, insetos, objetos que se desprendem de utensílios como fragmentos de madeira ou plástico, fragmentos de tecidos vegetais, além de objetos que podem cair no leite sem que o produtor perceba e que passem despercebidos durante a fabricação (MARTINS, 2006). Pereira *et al.* (2018) encontraram diversos contaminantes físicos em um queijo artesanal brasileiro, dentre eles: inseto inteiro; fibra vegetal; fibra sintética; fragmento de inseto; fragmento de madeira; fragmento de plástico; micélio fúngico; pelo humano e pelo de animal roedor.

Na maioria das vezes este tipo de contaminação se dá por falhas no processo produtivo, que muitas vezes é empreendido de forma pouco profissional, sem acompanhamento técnico e sem a devida

preocupação em se obter um alimento de qualidade. Esses contaminantes podem representar perigo para os consumidores uma vez que podem causar traumas ou prejuízos à integridade do trato digestivo do consumidor, além do perigo de carrearem contaminações químicas como inseticidas ou contaminações microbiológicas para o alimento.

3.5. Perigos químicos relacionados ao QMA

A obtenção de matéria prima de qualidade é o primeiro desafio na produção de alimentos. Na produção de queijos, existem alguns perigos químicos que podem ocasionar riscos ao consumidor. Iniciando pelo leite, principal matéria prima dos queijos, destaca-se principalmente a incidência de resíduos de produtos químicos que podem contaminar o leite, principalmente fármacos de uso veterinário. Neste sentido, tem-se relatado crescentes preocupações com os resíduos de antimicrobianos no leite. Os antimicrobianos são drogas muito utilizadas na pecuária leiteira, e, com as elevações nos índices de produtividade destas atividades, os animais tendem a apresentar mais enfermidades, exigindo cada vez mais a utilização destas drogas, que no Brasil, podem ser empregadas sem a prescrição veterinária (IBGE, 2008; VILELA *et al.*, 2017). Assim, neste país, é recorrente o uso indevido destes fármacos, bem como a desinformação quanto a períodos de carência e a não adoção de práticas de manejo a fim de se promover a exclusão do leite de animais em tratamento (FONSECA & SANTOS, 2000; KORB *et al.*, 2011). Deste modo, no Brasil, a contaminação do leite com antimicrobianos não é rara (DA SILVA & FREITAS, 2009; CERQUEIRA *et al.*, 2014). Além dos fármacos, os resíduos contaminantes que podem estar presentes no meio ambiente, também emergem como perigos em potencial para a atividade leiteira. Dentre estes contaminantes, recente destaque tem sido dado aos agrotóxicos, amplamente utilizados nos modelos de produção vegetal predominantes no mundo pós revolução verde (MARTINE, 1991). Oliveira (2016) e Moreira (2018) demonstraram índices alarmantes de contaminação do leite por estes químicos em território brasileiro. Neste sentido, Moreira (2018), ao pesquisar leites pasteurizados e *in natura*, comercializados no Rio Grande do Norte, encontrou presença de resíduos de agrotóxicos proibidos no Brasil como o flusilazol, penconazol e tebufempirade. Já Oliveira (2016) analisou 827 amostras de leite comercializadas no mercado formal de Minas Gerais. O autor encontrou 218 (26%) amostras com resíduos acima dos limites máximos permitidos, além de também detectar contaminantes proibidos no leite como benfuracarbe (uma amostra), diclorvós (1), triclorfon (2), dimetomorfe (3), forato (5), tebufempirade (11) aletrina (26), dissulfotona (13) fentiona (11) e fipronil (14). Duan *et al.* (2018) encontraram resíduos de diversos organoclorados em todos os queijos provenientes de supermercados chineses da cidade de Pequim. Deve-se lembrar que os agrotóxicos utilizados na produção vegetal podem contaminar recursos hídricos como lençóis freáticos e cursos d'água, se tornando fonte de contaminação fora da propriedade em que são originariamente utilizados. Esses defensivos podem ainda contaminar o ar durante pulverizações e, assim, se espalharem na região onde são aplicados, além da própria contaminação de co-produtos da indústria vegetal empregados na alimentação animal.

Outro perigo químico de importância na atividade leiteira são os produtos de higienização. Utilizados antes, durante e após as ordenhas e também no interior das queijarias, são produtos como detergentes ácidos e alcalinos, além de antissépticos utilizados em etapas da ordenha como *pré-dipping* e sanitizantes de superfícies. Se mal manejados, certamente podem contaminar o alimento (FONSECA e SANTOS, 2000) e se tornar um problema para o consumidor e para a atividade.

Adicionalmente, é de se destacar, que grande atenção também é dada às fraudes do leite na atividade leiteira. A adição intencional de substâncias químicas para compor fraudes, principalmente de aumento de volume de leite comercializado e de adição de conservantes são frequentemente detectadas em laticínios no Brasil. Assim, para as queijarias que compram leite de terceiros, é de se considerar o risco de se efetuar a compra de leite fraudado com adição de químicos.

Finalizando os perigos químicos que resultam em fatores de risco para a produção de queijos de leite cru, em especial na produção artesanal, a utilização de cloro na água utilizada por essas queijarias tem provocado intensos debates devido à possível formação de trihalometanos (THM). Os THM são compostos cancerígenos que podem ser formados como resultado do contato do cloro com matéria orgânica. A presença de THM em águas tratadas com compostos clorados é uma preocupação relevante, de tal modo que diversos países estabelecem limites máximos para estes compostos em suas águas de abastecimento (MACÊDO *et al.*, 1999). No Brasil o limite máximo é de 100 ppm/L (BRASIL, 1990). Macêdo *et al.* (1999) encontraram valores de até 220,94 ppm/L de THM analisando águas tratadas em indústrias de alimento no Brasil. Assim, sugere-se que de fato os THM podem ser um problema relevante na produção de alimentos no país, entretanto, é necessário conhecer em detalhe, o potencial de contaminação por THM nos alimentos produzidos em unidades com elevada THM na água.

Embora se destaque que as toxinas de origem microbiológica também se enquadrem como perigos químicos, prefere-se abordar esta temática no campo dos perigos microbiológicos, uma vez que assim pode-se discutir sobre os micro-organismos contaminantes em questão e suas toxinas de relevância à saúde pública.

Existem poucos trabalhos nacionais que apresentam resultados de resíduos químicos em queijos. Neste aspecto, se observam principalmente detecções de toxinas de origem microbiana em queijos elaborados com leite cru, como a toxina estafilocócica (SIMEÃO *et al.*, 2002) e as micotoxinas (PRADO *et al.*, 2000; SILVA *et al.*, 2022). Ebrahim e Mohammadi (2018) encontraram até 33,3% de amostras de queijos iranianos de leite cru com contaminação por aflatoxina M1 acima do limite de 250 ng/Kg de queijo estabelecido pela União Européia. A literatura internacional também concentra resultados referentes à contaminação de queijos por toxinas de origem microbiana, entretanto pode-se observar o crescimento de trabalhos mensurando contaminações por agrotóxicos e antimicrobianos.

3.6. Perigos microbiológicos relacionados ao QMA

Diversos micro-organismos podem contaminar os queijos durante o processo de fabricação deste alimento. Esses contaminantes podem ter origem na matéria prima utilizada, nos manipuladores, nos utensílios e nas superfícies em que o alimento entra em contato, além do próprio ambiente em que o queijo é elaborado e acondicionado.

Dentre os micro-organismos que oferecem risco de contaminar os queijos durante o processo de fabricação, destacam-se protozoários, vírus, fungos e bactérias. As bactérias representam os micro-organismos mais estudados na microbiologia de alimentos e, no caso dos queijos de leite cru, várias espécies de bactérias já foram associadas a surtos ou quadros patológicos relacionados ao consumo deste tipo de queijo. *Listeria monocytogenes* é um dos patógenos mais relacionados

a surtos que envolvem o consumo de queijos de leite cru, sendo que já foi detectada em diversos tipos de queijos de diversas partes do mundo, inclusive em QMA da região de Araxá-MG (JENSEN et al., 1994; ALTEKRUSE et al., 1998; SALES, 2015). Entretanto, vale ressaltar que este patógeno pode ser até mais presente em queijos oriundos de leite pasteurizado, conforme detectado por Rudolf e Scherer (2000), que encontram 8% de incidência em um tipo de queijo europeu (*red-smear cheese*) de leite pasteurizado contra 4,8% em queijos do mesmo tipo elaborados com leite cru.

Outro patógeno, *Streptococcus equi* subespécie *zooepidemicus* foi apontado como provável causa de contaminação em queijo fresco, e consequente surto de nefrite em uma cidade do Brasil (BAITER et al., 2000). *Salmonella* spp. também já foi apontada como causadora de surtos relacionados ao consumo de queijos de leite cru (CODY et al., 1999; DOMINGUEZ et al., 2009). O grupo coliforme apresenta uma espécie bacteriana frequentemente associada a surtos por consumo de queijos de leite cru: *Escherichia coli* (ESPIE et al., 2006). *Campylobacter jejuni* (CDC, 2009) e *Campylobacter coli* (RONVEAUX et al., 2000) também foram relacionados a surtos por consumo de queijos de leite cru. Outros patógenos como *Brucella* spp., *Mycobacterium* spp., *Coxiella burnetti* e *Staphylococcus* spp. também já foram encontrados ou relacionados a surtos em queijos de leite cru (JAROS et al., 2008; CASTRO et al., 2016; BARANDIKA et al., 2019).

Se por um lado as bactérias são mais estudadas e inclusive possuem legislações bem definidas impondo limites máximos de contagem ou até mesmo exigindo ausência de algumas espécies na inspeção de queijos, o mesmo não se pode dizer dos fungos encontrados neste tipo de alimento. Os queijos de leite cru podem ser considerados portadores de uma rica microbiota que se modifica com o processo de maturação. Neste sentido, os fungos representam parte importante desta diversidade, e reconhecidamente participam da formação do sabor e dos aromas específicos de cada variedade deste alimento (CEUGNIEZ et al., 2017). Algumas espécies de fungo são inclusive reconhecidas por sua presença em alguns tipos reconhecidos de queijo, como *Penicillium roqueforti* dos queijos Roquefort e Gorgonzola e *Penicillium camemberti* dos queijos Brie e Camembert (ZACARCHENCO et al., 2011). Entretanto, nem sempre a presença de fungos é desejável nos queijos, sendo que estes micro-organismos podem ocasionar defeitos e até mesmo representarem risco à saúde do consumidor. Algumas espécies são responsáveis por produzir micotoxinas que podem resultar em prejuízos à saúde do consumidor. Dentre estas, destacam-se aquelas pertencentes ao gênero *Aspergillus* spp., mas também algumas dos gêneros *Penicillium* e *Byssoschlamys* que inclusive é resistente à pasteurização do leite e pode produzir micotoxinas de relevância à saúde pública (BENKERROUM, 2016). Alguns queijos artesanais, elaborados com leite cru, ainda precisam ser mais pesquisados para se compreender o papel de fungos nas suas características sensoriais e até mesmo para o entendimento de possíveis riscos à saúde dos consumidores. É o que se observa em queijos artesanais brasileiros tradicionais, como o QMA e até mesmo em novas variedades “de casca mofada” (ou “casca florida”) deste queijo. Estas variedades estão sendo bem recebidas pelo mercado consumidor e até mesmo pela crítica especializada no campo gastronômico, sem, entretanto, o completo entendimento científico dos fungos envolvidos nestes alimentos (FIGUEIREDO, 2018).

Outros patógenos como o protozoário *Toxoplasma gondii* também estão sendo detectados em queijos de leite cru (DA COSTA et al., 2019), além de vírus como Flavivírus relacionados à encefalite transmitida por carrapatos (MARKOVINOVIĆ et al., 2015) e ácaros capazes de desencadear quadros alérgicos (SOBRAL et al., 2017).

O controle de riscos microbiológicos em queijos de leite cru é certamente tarefa árdua e complexa, que envolve a correta adoção de Boas Práticas Agropecuárias (BPA), para se evitar a obtenção de matéria prima contaminada; além da implementação de boas práticas de fabricação (BPF), para se evitar contaminações durante a elaboração. Além disso, é importante a existência de legislações adequadas, definindo períodos de maturação eficientes em se reduzir as populações de micro-organismos indesejados. Anteriormente, patógenos passíveis de erradicação por meio da adoção de práticas de sanidade no rebanho ou no processo de fabricação, devem assim ser.

3.7 Fatores de risco associados ao consumo de queijos de leite cru

Possivelmente, os riscos relacionados à ingestão de micro-organismos causadores de doenças configuram a principal preocupação no que se refere ao consumo de queijos elaborados especificamente com leite cru. Entretanto, deve-se expandir a reflexão sobre os perigos do consumo de queijos de leite cru à dinâmica alimento-consumidor. Assim, pode-se reunir uma série de fatores de risco que se relacionam com vulnerabilidade de consumidores frente aos perigos microbiológicos potencialmente presentes em queijos de leite cru. Deste modo, consumidores que apresentam algum comprometimento imunológico certamente se configuram como grupo de risco, assim como aqueles que apresentam microbiota gastrointestinal ineficiente em proteger contra patógenos (PAIXÃO & CASTRO, 2016). Neste contexto, pode-se dizer que idade, gestação, portar doença debilitadora do sistema imune, hábito alimentar e até mesmo local de nascimento e aspectos da primeira infância podem ser considerados como fatores de risco para o consumidor deste tipo de queijo.

Definir grupos de risco relacionados ao consumo de queijos de leite cru é uma ação que deve ser mais debatida na sociedade, pois como já abordado, a valorização ou desvalorização do consumo deste tipo de queijo é um fenômeno social moderno. Assim, qualquer indicação ou contraindicação, no que se refere ao consumo deste alimento, pode ser interpretada como postura ideológica ou postura parcial daqueles que podem estar cooptados por interesses econômicos de empresas relacionadas ao assunto.

Além dos fatores de risco relacionados a doenças ou condição geradoras de alteração do sistema imunológico do consumidor, outros fatores, ligados à individualidade, parecem emergir como relevantes na proteção deste consumidor frente a possíveis contaminantes microbiológicos. A microbiota intestinal é um foco de pesquisa que se tornou mais explorado nas últimas décadas. De modo primitivo, esta microbiota já era observada como relevante em pesquisas em pacientes de doenças intestinais no início do século XX. Atualmente, já se descreve uma série de benefícios que uma microbiota intestinal de boa qualidade pode desempenhar no hospedeiro como: função antibacteriana devido à competição por nutrientes ou sítios de adesão, redução de pH intestinal e produção de bacteriocinas, o salvamento energético que é o processo de metabolização de nutrientes não digeridos pelo organismo do hospedeiro em nutrientes absorvíveis pelos colonócitos, o desenvolvimento de tolerância imunológica e imunomodulação, a conversão do colesterol em coprostanol, a inativação da tripsina, produção de vitamina K, conversão de bilirrubina em urobilina, supressão da inflamação intestinal, modulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, dentre outras funções benéficas já descobertas (STÜRMER *et al.*, 2012; PAIXÃO & CASTRO, 2016; MINAYO *et al.*, 2021). Deste modo, diversos fatores relacionados à formação da microbiota do hospedeiro podem apresentar importância no que se refere ao consumo de queijos de leite cru. Talvez aqui esteja, por exemplo, uma das explicações para que alguns grupos de indivíduos, como populações rurais, consumam por muitas vezes queijos e

demais alimentos com contaminações microbiológicas sem, no entanto, debelar infecções ou apresentar alguma sintomatologia patológica.

Quando se elencam os fatores de risco relacionados ao consumo de queijos de leite cru, se observa uma divisão entre fatores de risco intrínsecos ao alimento e ao consumidor. A figura 01 reúne alguns desses fatores de risco seguindo esta classificação.



FIGURA 01: Fatores de risco intrínsecos ao queijo e intrínsecos ao consumidor, relacionados ao consumo de queijos de leite cru.

Dos aspectos intrínsecos aos queijos, as realidades que resultam na não adoção de boas práticas agropecuárias e boas práticas de fabricação (BPF) se materializarão como fatores de risco relacionados à produção destes queijos. Assim, a produção que não se submete a algum serviço oficial de inspeção ou acompanhamento profissional da produção, com o devido gerenciamento de perigos como sanidade do rebanho e higiene de obtenção do leite e elaboração dos queijos, se apresenta como unidade produtora de alimentos menos seguras para o consumidor.

A compra de leite de terceiros para a produção artesanal de queijos de leite cru também pode ser considerada um fator de risco quando o comprador não dispõe de mecanismos de controle de qualidade dos fornecedores, como análises de recepção do leite e certificação de adoção de boas práticas agropecuárias por parte dos fornecedores. Em países onde existe elevado índice de fraudes no leite, além de elevados índices de contaminações química, física e microbiológica no leite cru comercializado, caso do Brasil, por exemplo, é de se esperar que fornecedores de leite para a produção artesanal também apresentem problemas.

Características próprias da variedade do queijo também podem ser apontadas como fatores de risco. Neste sentido, queijos de elevada umidade favorecem a manutenção e o crescimento microbiano e são mais suscetíveis à presença de patógenos. Queijos que não possuem baixo pH, ou elevada presença de sal, também são mais facilmente contamináveis por micro-organismos, assim como queijos que não possuem microbiota desejável abundante que possa competir com eventuais contaminantes.

Outro aspecto que pode ser considerado como fator de risco, são as inovações nos queijos artesanais elaborados com leite cru. Isso se justifica na medida em que a tradição histórica normalmente relacionada aos queijos de leite cru constituem importante laboratório prático que confirma alguma segurança em se consumir estes queijos. Por outro lado, os queijos artesanais classificados como “inovadores” ou “autorais” podem ser completamente desprovidos de qualquer entendimento que confirme segurança ao consumidor. Assim, queijos novos, elaborados da criatividade dos produtores, sem análise prévia ou acompanhamento profissional, podem ser considerados um risco adicional ao consumo de queijos de leite cru.

Já os fatores de risco intrínsecos aos consumidores, muitas vezes são associados à condição imunológica do consumidor. Assim, condições ou doenças capazes de reduzir a capacidade imunológica do consumidor podem ser elencadas como fatores de risco para o consumo de queijos de leite cru, em especial. Como apontado anteriormente, esses queijos possuem microbiota diversificada e abundante se comparado aos queijos industriais de leite pasteurizado, e alguns desses micro-organismos podem ocasionar doença em indivíduos imunocomprometidos.

Por fim, aponta-se ainda fatores pouco conhecidos, como o aleitamento materno que se mostra importante, dentre outros fatores, para formar uma microbiota capaz de contribuir positivamente com a saúde do hospedeiro ao longo de toda sua vida (STÜRMER *et al.*, 2012).

Não existe produção de alimentos isenta de riscos, entretanto, é notório que principalmente em países em desenvolvimento, é preciso aprimorar os mecanismos de acompanhamento e fiscalização da produção de queijos de leite cru.

3.8 A diversidade microbiológica do queijo Minas artesanal: apenas patógenos e riscos?

A microbiota do QMA é um dos temas mais estudados por pesquisadores que se dedicam a trabalhar com este queijo. A maior parte do acervo científico sobre este tema é constituída por pesquisas que utilizaram metodologias clássicas de cultivo para conhecer os principais grupos bacterianos encontrados neste queijo. Entretanto, ao final dos anos 2010, foram publicados os primeiros trabalhos que utilizam metodologias moleculares independentes de cultivo. Sant’Anna *et al.* (2019) encontraram que as famílias *Planococcaceae*, *Streptococcaceae* e

Staphylococcaceae foram as mais abundantes encontradas nas superfícies dos QMA da microrregião de Serra do Salitre. Assim, chamou atenção a abundância de *Rummeliibacillus* spp., um gênero bacteriano da família *Planococcaceae* que é encontrado em solos da região do cerrado brasileiro e que não era detectada em QMA por meio de pesquisas dependentes de cultivo. No mesmo estudo foi detectada a família *Streptococcaceae*, sendo a mais abundante no interior dos QMA de Serra do Salitre. Ademais, os autores constataram que a partir de 45 dias de maturação, as famílias *Lactobacillaceae* e *Leuconostocaceae* se tornam mais abundantes. Em estudo de Perin *et al.* (2017) constatou-se que o gênero *Lactobacillus* spp. é o mais abundante dentre as BAL de QMA das regiões de Serra do Salitre, Serro, Canastra, Araxá e Campo das Vertentes, conforme apresenta a figura 02.

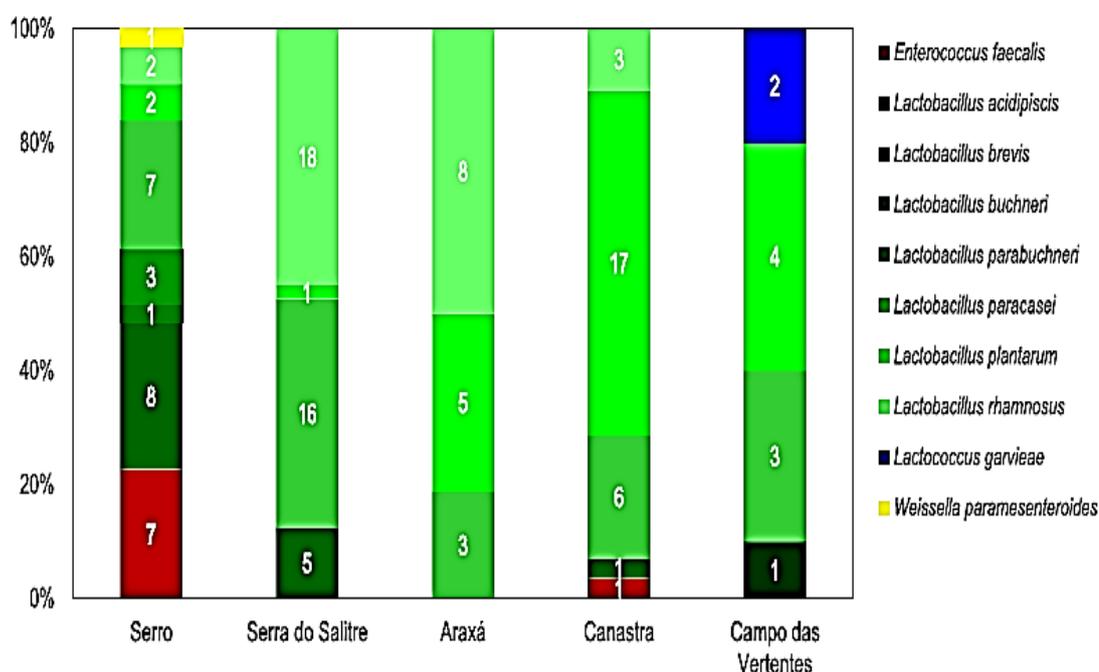


Figura 02: Espécies de *Lactobacillus* spp. identificadas por metodologia independente de cultivo em QMA de distintas microrregiões

Fonte: Perin *et al.*, 2017

Kamimura *et al.* (2018) também encontraram as BAL como grupo bacteriano mais abundante em QMA. Neste estudo detectou-se ainda baixa incidência de micro-organismos indesejáveis do gênero *Staphylococcus* spp. em QMA da Canastra e de Araxá.

Os estafilococos, aliás, são frequentemente apontados como integrantes da microbiota de QMA, sendo que ECP são frequentemente encontrados por meio de metodologias de cultivo até os 14 dias de maturação nestes queijos (SALES, 2015; FIGUEIREDO, 2018). Estafilococcus coagulase positivo, são micro-organismos pertencentes ao gênero *Staphylococcus* spp. capazes de coagular o plasma devido à produção da enzima coagulase, que é capaz de transformar o fibrinogênio plasmático em fibrina (SCHLEIFER *et al.*, 2015).

Outros micro-organismos potencialmente indesejáveis que são frequentemente enumerados em QMA frescos são os coliformes (MARTINS *et al.*, 2015; CASTRO *et al.*, 2016). Neste grupo bacteriano podem ser encontradas algumas variedades patogênicas de *Escherichia coli*, principalmente. Dando sequência a potenciais patógenos já encontrados no QMA, listam-se: *Listeria monocytogenes* (SALES, 2015); *Salmonella* spp. (SALES, 2015); *Coxiella burnetii* (FARIA, 2017); *Brucella* spp. (DUCH *et al.*, 2018); *Mycobacterium bovis* (SILVA *et al.*, 2013), dentre outros. *Streptococcus equi* subs. *zooepidemicus*, embora não tenha sido isolado em QMA, apresenta indícios para ser elencada como provável contaminante deste queijo, a princípio, quando fresco (BALTER *et al.*, 2000).

Se por um lado tem-se relevantes relatos de bactérias indesejáveis contaminando o QMA, tem-se também relevantes relatos de bactérias com potencial probiótico compondo as BAL comumente abundantes neste queijo (COSTA *et al.*, 2013; ANDRADE *et al.*, 2014; ROSA *et al.*, 2015; ACURCIO *et al.*, 2017a; ACURCIO *et al.*, 2017b; SANT'ANNA *et al.*, 2017; SILVA *et al.*, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2018; SILVA *et al.*, 2019).

Segundo FAO/WHO (2002), probióticos são aqueles micro-organismos que, quando administrados vivos em quantidades suficientes, conferem efeitos benéficos a saúde do hospedeiro. Assim a presença, em abundância, desses micro-organismos em QMA, pode também significar benefícios à saúde do consumidor deste tipo de alimento, contribuindo para a manutenção de uma microbiota intestinal saudável e que desempenhe as funções benéficas descritas anteriormente.

3.9. Legislações aplicadas à produção e comercialização de queijos de leite cru

Observa-se assim que, de fato, os queijos artesanais, em especial aqueles elaborados com leite cru, impõem maior complexidade às legislações de inspeção sanitária. Quando se busca por trabalhos científicos relacionados a legislações de queijos de leite cru, os achados, em geral, se resumem a escassas discussões sobre a “regra dos sessenta dias³” (PAXSON, 2008; LICITRA, 2010) e sobre tentativas de se banir a comercialização deste tipo de queijo em diversas localidades do ocidente (PAXSON, 2008; WEST, 2008).

O continente europeu apresenta destaque na produção e regularização de queijos de leite cru. Entretanto, a literatura científica sobre este assunto é escassa. Em um trabalho de Dixon (2000) são apresentadas discussões sobre o sistema europeu de inspeção de queijos de leite cru. O autor aborda sobre o desafio de se criar diretivas em comum para os países membros da União Europeia, sendo que houve quem discordasse de se permitir a produção e comercialização deste tipo de queijo. Superada essa barreira inicial, o autor apresenta que as diretivas não inibiram as legislações nacionais; porém, criaram uma espécie de base para as mesmas. Alguns pontos desta diretiva abordam os aspectos sanitários do rebanho, como necessidade de ser livre de tuberculose e de brucelose. Outras determinações causariam estranheza para profissionais da inspeção no Brasil, como a exigência de se obter o leite de vacas com produção diária de no mínimo dois litros

³ A regra dos sessenta dias se refere à exigência estipulada por diversos países de se permitir a comercialização de queijos de leite cru apenas se maturados por 60 dias ou mais.

e ainda uma “*Grandfather clause*”⁴ que permite salas de produção com paredes de madeira construídas antes de 1 de janeiro de 1993.

Posteriormente ao estudo de Dixon (2000) observa-se a publicação de novas diretivas da União Europeia, como o Regulamento (CE) N.º853/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 de abril de 2004 que estabelece regras específicas de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios de origem animal (UNIÃO EUROPEIA, 2004).

Neste sentido, a Resolução 853/2004, disponível em idioma português devido à adesão de Portugal como nação pertencente ao bloco europeu, estabelece diretivas importantes no que se refere à inspeção de queijos elaborados com leite cru, a saber:

“(19) É conveniente usar de flexibilidade para permitir a continuação da utilização de métodos tradicionais nas diferentes fases da produção, transformação ou distribuição dos géneros alimentícios, e em relação aos requisitos estruturais aplicáveis aos estabelecimentos. A flexibilidade é particularmente importante para as regiões sujeitas a condicionalismos geográficos especiais, incluindo as regiões ultraperiféricas a que se refere o n.º 2 do artigo 299.º do Tratado. A flexibilidade não deve, no entanto, comprometer os objectivos de higiene dos géneros alimentícios. Além disso, uma vez que todos os géneros alimentícios produzidos de acordo com as regras de higiene poderão, regra geral, circular livremente em toda a Comunidade, o processo que permite aos Estados-Membros exercer essa flexibilidade deve ser totalmente transparente, devendo, sempre que necessário para resolver qualquer diferendo, prever a possibilidade de discussão a nível do Comité Permanente da Cadeia Alimentar e da Saúde Animal, instituído pelo Regulamento (CE) n.º 178/2002, bem como de coordenação e adopção de medidas adequadas por parte da Comissão. (UNIÃO EUROPEIA, 2004).”

Observa-se a preocupação em se proteger a elaboração de produtos de origem animal arraigados em modos tradicionais de produção. O artigo refere-se inclusive especificamente sobre “requisitos estruturais aplicáveis” que por muitas vezes são contestados por produtores, como ocorre na produção do QMA no Brasil destacado por Figueiredo (2018).

Ademais, a referida legislação europeia (UNIÃO EUROPEIA, 2004) ainda versa:

⁴ A cláusula do avô, ou *grandfather clause*, se refere a uma concessão àqueles que se enquadravam a uma regra antiga, ficando estes imunes a uma eventual novidade em uma determinada nova legislação.

(...) (24) É adequado que o critério para o leite cru utilizado para o fabrico de produtos lácteos seja três vezes superior ao critério para o leite cru recolhido na exploração. O critério para o leite utilizado no fabrico de produtos lácteos transformados é um valor absoluto, ao passo que o critério para o leite cru recolhido na exploração é uma média. A conformidade com os requisitos de temperatura estabelecidos no presente regulamento não impede a proliferação bacteriana durante o transporte e a armazenagem

8. Um Estado-Membro pode, por sua própria iniciativa e no respeito das disposições gerais do Tratado, manter ou estabelecer regras nacionais que:

a) Proíbam ou restrinjam a colocação no mercado, no seu território, de leite cru ou nata crua destinados ao consumo humano directo;

ou

b) Permitam a utilização, com a autorização da autoridade competente, do leite cru que não satisfaça os critérios previstos na secção IX do anexo III, no que diz respeito à contagem em placas e contagem de células somáticas, para o fabrico de queijos com um período de maturação de pelo menos 60 dias, e de produtos lácteos obtidos em relação com a produção desses queijos, desde que tal não prejudique a realização dos objectivos do presente regulamento. (UNIÃO EUROPEIA, 2004.)

Abordando algumas normativas de membros da União Europeia, a legislação da Suíça (2005) define contagens máximas (tabela 01) de quatro micro-organismos (*Staphylococcus coagulase positiva*; *Escherichia coli*; *Salmonella spp.* e *Listeria monocytogenes*) de acordo com três tipos de queijos (duros, semiduros e macios) (SUÍÇA, 2005).

TABELA 01: Requisitos oficiais de qualidade microbiológica para queijos produzidos na Suíça

<i>Staphylococcus coagulase positivo</i>		<i>E. coli</i>		<i>Salmonella</i>		<i>L. monocytogenes</i>	
Análises/ano	Limite (ufc/g)	Análises/ano	Limite (ufc/g)	Análises/ano	Limite (ufc/g)	Análises/ano	Limite (ufc/g)
Queijos duros							
2*	<10.000	2	<10	1	Ausência	2	Ausência
Queijos semiduros							
6*	<10.000	6	<100	2	Ausência	6	Ausência
Queijos macios							
52*	<10.000	52	<100	52	Ausência	52	Ausência

* As pesquisas de estafilococos coagulase positivo são realizadas na massa coagulada que dará origem aos queijos.

Fonte: SUIÇA, 2005.

Observa-se uma preocupação maior com os queijos macios que são mais susceptíveis a contaminações microbianas e, portanto, são inspecionados com uma frequência aproximadamente dez vezes superior aos queijos semiduros e duros (tabela 01). Outra observação interessante é a opção de se auferir a contagem de ECP ainda na massa coagulada que dará origem aos queijos. Sabe-se que o perigo relacionado a esse micro-organismo é a produção das toxinas, que uma vez presentes no alimento dificilmente serão inativadas (CARMO *et al.*, 2002; SILVA, 2018). A inspeção de alimentos, no que se refere à pesquisa de estafilococos, é um desafio. Sabe-se que não são exclusivamente os ECP que produzem toxinas estafilocócicas, alguns estafilococos coagulase negativo também podem produzir toxinas perigosas para os consumidores (CARMO *et al.*, 2002; LAMAITA *et al.*, 2005). Ademais, sabe-se também que a simples presença desses micro-organismos nos alimentos não se traduz em produção de toxinas, especialmente em queijos de leite cru, nos quais se suspeita da existência de mecanismos que inibem a produção destas toxinas (SILVA, 2018). A União Europeia estabelece por meio do Regulamento (CE) N.º 2073/2005 da Comissão de 15 de Novembro de 2005, relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos gêneros alimentícios que a inspeção de ECP deve ser empreendida nos queijos de leite cru em plano de duas classes, com o critério máximo de 10^5 UFC/g. Assim, esta legislação determina ainda que a análise seja empreendida “no momento em que se prevê que o número de estafilococos seja mais elevado” e que, quando “se detectarem valores $> 10^5$ UFC/g, o lote de queijo deve ser testado para detecção de toxinas estafilocócicas” (UNIÃO EUROPEIA, 2005).

No Brasil, a legislação federal (BRASIL, 1996) não distingue a inspeção de queijos de acordo com um eventual micro-organismo pesquisado, tal como ocorre na União Europeia. Assim, embora se tenha limites máximos para contagem de ECP estabelecidos neste país, a inspeção é

realizada no produto pronto para a comercialização, e não na massa coagulada como ocorre na Suíça. De maneira similar à legislação suíça (SUÍÇA, 2005) a brasileira (BRASIL, 1996) também prevê limites máximos distintos de acordo com a umidade da massa dos queijos, conforme demonstrado na tabela 02. Entretanto, os parâmetros de definição para queijos classificados pelo teor de umidade como duros, semiduros e macios são diferentes entre as duas legislações. Outro aspecto peculiar na legislação brasileira (BRASIL, 1996), é presença da categoria de queijos moles com bactérias lácticas abundantes e viáveis, o que enquadra queijos moles produzidos com leite cru.

TABELA 02: Requisitos oficiais de qualidade microbiológica para queijos produzidos no Brasil

<i>Staphylococcus</i> positivo	coagulase	Coliformes 30 °C	Coliformes 45 °C	<i>Salmonella</i>	<i>L.</i> <i>monocytogenes</i>
Limite (UFCg)		Limite (UFC/g)	Limite (UFC/g)	Limite em 25g	Limite em 25g
Queijos de massa dura					
m = 100 e M = 100		m = 200 e M = 1.000	m = 100 e M = 500	Ausência	Ausência
Queijos de massa semidura					
m = 100 e M = 1.000		m = 1.000 e M =	m = 100 e M = 500	Ausência	Ausência
Queijos macios					
m = 100 e M = 1.000		m = 5.000 e M =	m = 1.000 e M = 5.000	Ausência	Ausência
Queijos moles com bactérias lácticas abundantes e viáveis*					
m = 10 e M = 100		m = 100 e M = 1.000	m = 10 e M = 100	Ausência	Ausência

* A legislação brasileira apresenta ainda limites máximos (m = 500UFC/g e M = 5.000UFC/g) para contagem de fungos e leveduras em queijos moles (>55% de umidade na massa).

FONTE: BRASIL, 1996.

Comparando-se os valores estabelecidos nas legislações brasileiras (BRASIL, 1996), europeia (UNIÃO EUROPEIA, 2005) e Suíça (SUÍÇA, 2005) chama a atenção a diferença nas contagens de ECP, que é consideravelmente maior nas legislações suíça e europeia, provavelmente devido à pesquisa ser realizada na massa coagulada que dará origem aos queijos e não no produto final. Na Suíça não se pesquisa coliformes a 30 °C nem coliformes a 45 °C, entretanto, pesquisa-se contagem de *E. coli*.

Cabe destacar ainda, que no Brasil, existem legislações distintas para a inspeção de produtos de origem animal, que ocorre nos estabelecimentos produtores e para a vigilância sanitária em estabelecimentos que comercializam alimentos diretamente ao consumidor. Neste sentido chama

atenção que estas diferentes legislações apontam parâmetros microbiológicos distintos para um mesmo alimento, por exemplo, os queijos. Assim, observa-se que as Instruções Normativas nº60/2019 e nº161/2022 da Agência de Vigilância Sanitária (Anvisa) não preveem pesquisas de contagens de coliformes totais ou termotolerantes, entretanto, determina ausência de toxinas estafilocócicas em queijos, e limite máximo de 10^2 UFC/g de *E.coli* em queijos de umidade menor a 46%.

Dixon (2000) apresenta detalhes da legislação francesa aplicada à inspeção de queijos de leite cru. Esta apresenta exigências distintas de acordo com a produção anual. Assim, à medida que se tem maiores produções, tem-se também mais exigências impostas à produção de queijos de leite cru.

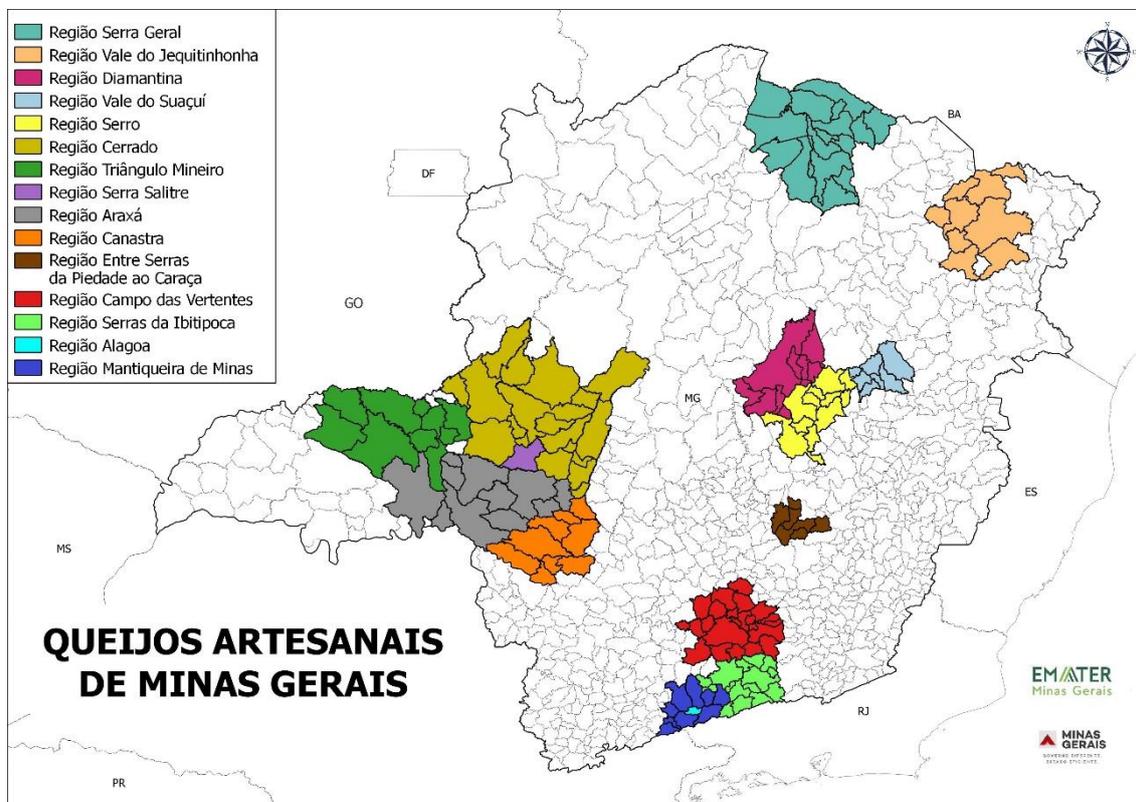
Sobre a exigência de 60 dias de maturação, Licitra (2010) discorreu sobre estudos realizados pelo FDA que colocaram em dúvida este período. Este autor demonstrou que o FDA havia apontado a necessidade de 434 dias para inativação de uma inoculação de 5×10^2 UFC de *L. monocytogenes*, 270 dias para um mix de *Salmonella* spp. (amostras patogênicas) e 158 dias para uma inoculação de 1×10^3 UFC *E. coli* O157:H7. Entretanto, Licitra (2010) discorreu que esta inoculação fora realizada em leite pasteurizado e, portanto, não se aplica para queijos de leite cru. Bachmann e Spahr (1995) encontraram uma semana de maturação, como suficiente para inativar *Aeromonas hydrophila*, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, e *Yersinia enterocolitica* em queijos suíços de massa dura. Entretanto, *L. monocytogenes* foi detectada mesmo com 90 dias de maturação em queijos semiduros. Gatti *et al.* (2014) descreveram que nos queijos italianos *Grana Padano* e *Parmigiano Reggiano*, elaborados com leite cru, foi observada a inativação de *L. monocytogenes*; *E. coli* O157:H7; *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* inoculados experimentalmente no leite cru utilizado para elaboração dos queijos supracitados. Em um estudo de Barandika *et al.* (2019), foi indicado que *C. burnetii* pode permanecer viável após oito meses de maturação em queijos duros feitos com leite cru sob as condições de pH ácido (4,96-5,41) e baixa atividade de água (0,9065-0,9533).

Tais constatações demonstram que a regra dos 60 dias não é uma medida determinante para garantir a inocuidade de queijos produzidos com leite cru. Possivelmente, a melhor maneira de se promover a inocuidade deste tipo de alimento é exigindo boas práticas agropecuárias e boas práticas de fabricação, com bons programas de autocontrole que contemplem análises de perigos e pontos críticos de controle bem elaborados e operando com rigor e eficiência. Este, aliás, parece ser o principal foco do sistema europeu de inspeção apresentado por Dixon (2000). Percebe-se ainda uma rica diversidade de queijos de leite cru, com necessidades de inspeção bem diferentes entre eles, o que justifica um importante aporte científico para se compreender e mensurar os riscos e suas respectivas necessidades inerentes a uma boa e justa inspeção oficial. Percebe-se também uma importante escassez de trabalhos científicos avaliando sistemas de inspeção e legislações específicas aos queijos de leite cru.

3.10. As regiões tradicionalmente produtoras do QMA e a Serra da Canastra-MG

Em 2022, o poder público estadual de Minas Gerais reconhece dez regiões como tradicionalmente produtoras do QMA.

A figura 03 apresenta o mapa de Minas Gerais com as regiões reconhecidas pelo poder público estadual como produtoras de queijos artesanais ao final do ano de 2022.



Fonte: Emater, 2022

Figura 03: Mapa das regiões produtoras de queijos artesanais em Minas Gerais.

É necessário enfatizar que a Figura 03 está em processo continuado de atualização. No início de 2022, teve-se o reconhecimento como produtoras de QMA das regiões de Diamantina e de Entre Serras da Piedade ao Caraça pelo poder público de Minas Gerais (MINAS GERAIS 2022^a; MINAS GERAIS 2022^b). A Região de Serras da Ibitipoca foi reconhecida como produtora do QMA em 2020 (MINAS GERAIS, 2020^a) e se destaca por ser possivelmente a principal região produtora de queijos no estado de MG durante os períodos colonial, imperial e início da república (LACERDA, 2017).

A microrregião de Serra Geral do Norte de Minas foi oficialmente reconhecida como produtora de queijos artesanais em junho de 2018 pelo Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA). A microrregião é composta pelos municípios de Catuti, Espinosa, Gameleiras, Janaúba, Jaíba, Manobas, Matias Cardoso, Montezuma, Mato Verde, Monte Azul, Nova Porteirinha, Pai Pedro, Porteirinha, Riacho dos Machados, Santo Antônio do Retiro, Serranópolis de Minas e Verdelândia (MINAS GERAIS, 2018).

Dentre as microrregiões produtoras de QMA, uma amplamente conhecida tanto em Minas Gerais como fora do estado, é a região do Serro que desponta como a maior em número de produtores dentre todas as outras microrregiões tipicamente produtoras do QMA.

Outra região conhecida e bem difundida, é a de Serra do Salitre, que por sinal é a menor de todas em extensão territorial dentre as oficialmente reconhecidas. Seu caráter diminuto decorre de ser composta por apenas um município, que leva o mesmo nome, Serra do Salitre. Este município, de certa forma, centralizou a fama dos queijos produzidos no seu entorno, e este fato se deu provavelmente devido à estação férrea de Catiara, inaugurada no município em 1916. Assim, relata-se que a estação se tornou ponto de escoamento de queijos produzidos na região. A ferrovia ligava o estado de Goiás a Angra dos Reis, no Rio de Janeiro.

A região do Cerrado, que também já foi denominada de região do Alto Paranaíba, se destaca pelo elevado volume de produção. No Cerrado são produzidas aproximadamente 17 mil toneladas de QMA por ano, contrastando com a produção de aproximadamente 3 mil toneladas por ano no Serro e 5 mil toneladas por ano na Canastra (FERNANDES, 2018). Esta região se notabiliza pelo elevado número de unidades produtoras de queijo que operam em regimes intensivos ou semi-intensivos de produção.

Com grande respaldo histórico, porém com apenas seis produtores habilitados no IMA, a região de Campo das Vertentes se notabiliza pela recorrente utilização de vacas da raça Jersey nos rebanhos leiteiros destinados à produção cadastrada de QMA (OLIVEIRA, 2014). Esta região se destaca com grande apelo turístico e relevante protagonismo gastronômico, que certamente impulsiona esta microrregião além de projetar os queijos lá produzidos no universo gastronômico.

A região de Araxá se destaca também pela tradição histórica na produção do queijo. Sabe-se que a região foi habitada por colonos europeus que vislumbraram potencial para criação de bovinos em decorrência das águas salitrosas da região. A literatura histórica apresenta relatos que remontam o início do século XIX e já descrevem a produção de queijos na região (SALES, 2015).

A microrregião do Triângulo Mineiro conta com os municípios de Araguari, Cascalho Rico, Estrela do Sul, Indianópolis, Monte Alegre de Minas, Monte Carmelo, Nova Ponte, Romaria, Tupaciguara e Uberlândia (MINAS GERAIS, 2014b).

Por fim, a região estudada no presente trabalho, a Serra da Canastra. Canastra é um termo do idioma português que se refere a um cesto similar a um baú utilizado por pescadores para guardar o pescado. Assim, a formação geológica mais relevante e proeminente na região é uma serra similar a uma canastra.

A região é composta por nove municípios: Bambuí; Delfinópolis; Medeiros; Piumhi; São Roque de Minas; Tapiraí; Vargem Bonita, Córrego D'anta e São João Batista do Glória (MINAS GERAIS, 2004; MINAS GERAIS, 2016; MINAS GERAIS, 2018b).

Deve-se destacar que devido à grande relevância e reconhecimento nacional e internacional, por vezes, de maneira errônea o próprio QMA é chamado de queijo Canastra, sem considerar as demais regiões oficialmente reconhecidas e produtoras deste queijo artesanal.

A cadeia produtiva de QMA na Canastra se destaca ainda por dispor de reconhecidas instituições que representam o poder coletivo dos produtores de queijo desta microrregião. Dentre estas, a Associação de Produtores de Queijo da Canastra – Aprocan se destaca como uma experiência avançada no trabalho conjunto de produtores de QMA desta região. A Aprocan conta com

aproximadamente 50 associados, dentre produtores que já estão inscritos nos sistemas oficiais de comercialização formal, como também de produtores que ainda não foram incluídos neste espaço formal. Esta associação é ainda a detentora da Indicação Geográfica que protege o nome Canastra na comercialização do QMA em todo território nacional e internacional. A associação utiliza uma etiqueta de caseína que assegura o cumprimento do caderno de normas para produção e identifica os queijos produzidos por produtores associados, de modo a garantir a procedência dos mesmos perante toda cadeia de comercialização dos queijos, conforme ilustra a figura 04.



Figura 04: Etiqueta de caseína aplicada em QMA produzido por produtor associado a Aprocan.

Fonte: Aprocan, 2022. Disponível em: <https://quejodacanastra.com.br/indicacao-de-procedencia/>. Acesso em 14 de Janeiro de 2022.

No início desta pesquisa, dentre os 256 produtores de QMA cadastrados no IMA, 49 eram pertencentes à região da Canastra, o que correspondia a 19% dos produtores (IMA, 2018).

Atualmente, o IMA não publica mais a relação de produtores habilitados por região, mas o número de habilitações sanitárias informada pela autarquia reduziu para 99 produtores registrados e com a concessão do Selo Arte expedida (MINAS GERAIS, 2022c)

O Selo Arte é um selo concedido pelo poder público no Brasil que reconhece para comercialização em todo território nacional, produtos artesanais habilitados por sistemas oficiais de inspeção (BRASIL, 2022).

3.11. A maturação do QMA

Antes desta pesquisa, a legislação estadual estabelecia que a comercialização do QMA da Canastra só podia ser efetuada quando o queijo atingisse 22 dias de maturação (IMA, 2013). Dentre as regiões oficialmente reconhecidas e que dispõem de legislação própria, estabelecendo período mínimo de maturação para comercialização do QMA, a Canastra se destacava como o maior período exigido, contrapondo os 14 dias de maturação exigidos para QMA de Araxá e 17

dias para QMA do Serro (MINAS GERAIS, 2018). Apesar da exigência de 22 dias de maturação para o QMA da Canastra, sabe-se que esta legislação foi estabelecida com base no estudo científico publicado por Dores e colaboradores (2013). Neste estudo, foram pesquisados produtores que participam do mercado formal, como também produtores que comercializam no mercado informal. Em outra pesquisa realizada na microrregião da Canastra, Resende (2010) encontrou diferenças entre queijos elaborados por produtores habilitados junto ao IMA e queijos de produtores não habilitados. Vale ressaltar que o período mínimo de maturação legislado para a comercialização do queijo se aplica apenas para os produtores que vendem no mercado formal, pois o mercado informal se dá à revelia das legislações.

O período mínimo de maturação exigido na elaboração destes queijos, é foco de atenção entre produtores, comerciante e consumidores. Isto se deve principalmente ao fato do consumidor brasileiro ter preferência por queijos mais frescos, o que leva os comerciantes a buscarem a compra deste tipo de queijo nas unidades produtivas, que por sua vez ficam pressionadas a comercializar o QMA antes do período mínimo de maturação exigido. Este problema foi detectado por Figueiredo (2018) na região da Serra do Salitre, onde embora a legislação exigisse 22 dias de maturação, foi apontado que quase a totalidade dos queijos elaborados em propriedades habilitadas pelo IMA, eram vendidos com menos de sete dias de maturação.

A maturação é uma etapa obrigatória na elaboração de queijos de leite cru no Brasil (BRASIL, 1996). Ela atua reduzindo a atividade de água, reduzindo o pH e reduzindo a disponibilidade de nutrientes facilmente disponíveis em decorrência da presença de micro-organismos naturalmente presentes em queijos de leite cru, o que contribui para evitar a contaminação deste alimento por micro-organismos indesejáveis (MARTINS *et al.*, 2015).

A maturação também é fundamental na transformação de características sensoriais dos queijos. Ao longo do processo, se observam transformações físico-químicas como perda de umidade e consequente endurecimento da massa, modificando textura e consistência dos queijos. Diversos compostos aromáticos são formados, promovendo alterações de sabor e aroma nestes queijos (DE SOUZA, 2021).

A época do ano pode proporcionar diferenças no processo de maturação do QMA, entretanto, nem sempre se observam tais diferenças (FIGUEIREDO, 2018; OLIVEIRA, 2014). De modo geral, a estação chuvosa resulta em maiores contaminações no leite e nos queijos elaborados nesta estação, representando maior risco sanitário envolvido ao processo de elaboração e qualidade final do QMA (VALENTE, 2022; MARTINS *et al.*, 2015).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Amostragem

Elencou-se um conjunto fixo de 16 produtores de QMA dentre os habilitados ou em fase de habilitação (cadastramento) junto ao Sistema de Inspeção Estadual empreendido pelo IMA na região da Canastra, que manifestaram concordância e interesse em participar do projeto. Este número amostral representou 29,09% dos produtores habilitados pelo IMA na região da Canastra no momento das coletas. Dos 16 produtores elencados, três eram lotados no município de Medeiros, um em Tapiraí; um em Vargem Bonita e 11 em São Roque de Minas.

As coletas foram realizadas no período tradicionalmente reconhecido como chuvoso, a partir de 01 de outubro de 2018, com a última coleta em 23/10/2018. Em cada propriedade rural foi coletado um queijo por período de maturação, nos dias: um, cinco, nove, 14, 18 e 22 de maturação, sempre do mesmo lote de produção.

Também foram coletados para análises o leite cru e o pingo utilizados na produção dos queijos, e a água da torneira da queijaria.

O quadro 1 apresenta detalhes relacionados à matriz coletada e ao tipo de frasco utilizado para acondicionamento de cada matriz, considerando suas distintas finalidades de análise.

Quadro 1. Matrizes coletadas, quantidade amostral e tipo de recipiente para coleta e transporte de amostra, empregados na pesquisa de água, leite, pingo e queijo Minas artesanal de diferentes períodos de maturação em estação chuvosa na região da Serra da Canastra

Matriz	Unidades coletadas	Tipo de frasco/ conservante	Finalidade
Água (torneira da sala de manipulação das queijarias)	2	Frasco estéril de 400 mL, com tampa rosqueável	Ensaio para verificação de potabilidade
Leite (tanque de armazenamento)	1	Frasco estéril de 400 mL	Ensaio microbiológicos
	1	Frasco de 50 mL com bronopol	Contagem de células somáticas e composição química
	1	Frasco de 50 mL com azidiol	Contagem bacteriana total
	1	Frasco estéril de 50 mL	Determinação de inibidores e crioscopia
	1	Frasco de 400 mL	Ensaio físico-químico de bancada
Pingo utilizado na elaboração dos queijos pesquisados	1	Frasco estéril de 400 mL	Ensaio microbiológicos
	1	Frasco de 400 mL	Ensaio físico-químico
Queijos (01; 05; 09; 14; 18 e 22 dias de maturação)	1	Peça de queijo de 900 a 1100 g, acondicionada em saco plástico estéril	Ensaio microbiológicos e físico-químico

O dia zero (01/10/2018) corresponde ao dia de elaboração dos queijos e início das coletas. O Quadro 2 apresenta as matrizes coletadas em cada dia de coleta.

Quadro 2. Agenda de coleta de amostras de queijo Minas artesanal, de leite cru, de água e do pingo na pesquisa realizada em estação chuvosa na região da Serra da Canastra

Dia de Coleta	Matriz Coletada			
	Leite	Pingo	Queijo	Água
0 (01/10/2018)	X	X		X
01 (02/10/2018)			X	
05 (06/10/2018)			X	
09 (10/10/2018)			X	
14 (15/10/2018)			X	
18 (19/10/2018)			X	
22 (23/10/2018)			X	

As amostras foram transportadas para o Instituto Senai de Tecnologia em Alimentos e Bebidas, em Belo Horizonte, em caixas de isopor com gelo reciclável e analisadas imediatamente após a chegada.

Deste modo coletou-se o total de 16 amostras de leite cru, 16 amostras de água, 16 de pingo e 96 queijos.

4.2 Informações meteorológicas

Foram registradas as informações meteorológicas de insolação, temperatura, umidade, precipitação pluviométrica e velocidade do vento captadas pela estação de medição do município de Bambuí-MG no período em que se realizaram as coletas. A estação de Bambuí é a unidade de

medição mais próxima das fazendas que compõem o escopo de análise desta pesquisa, sendo este um município pertencente à região da Serra da Canastra-MG.

Os dados foram obtidos no Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) por meio dos relatórios da estação meteorológica localizada no município de Bambuí, publicados no portal eletrônico do INMET.

4.3 Análises laboratoriais

As análises microbiológicas e físico-químicas das amostras de queijo, pingo, leite e água foram realizadas nos Laboratórios do Instituto Senai de Tecnologia em Alimentos e Bebidas, em Belo Horizonte, com exceção da contagem bacteriana total (CBT), da contagem de células somáticas (CCS), da composição química centesimal e da presença de inibidores no leite, que foram realizadas no Laboratório de Análise da Qualidade do Leite (LabUFMG), e também das identificações proteômicas de micro-organismos, que foram realizadas no AQUACEN - Laboratório Oficial Central da Rede Nacional de Laboratórios Oficiais do MAPA (RENAQUA), instalado na Escola de Veterinária/UFMG, em Belo Horizonte.

4.3.1 Avaliação microbiológica e físico-química de amostras de água das queijarias

Para a coleta de água, utilizou-se a prática de abrir a torneira e deixar a água correr por três minutos, para só então proceder a coleta. Foram pesquisadas a presença de coliformes totais e *E. coli* (SMEW 9223B, 2012), a contagem de bactérias heterotróficas estritas e facultativas viáveis por inoculação em profundidade (SMEW 9215B, 2012) e a contagem de BAL (INTERNATIONAL..., 1988; RESENDE, 2010). Para análise do cloro residual livre e total, utilizou-se metodologia descrita por *American Public Health* (AMERICAN..., 2005).

4.3.2 Avaliação microbiológica e físico-química de leite cru utilizado na elaboração dos queijos pesquisados

Para as análises empregadas na pesquisa do leite do tanque das propriedades participantes, caso o volume de leite estivesse distribuído em dois ou mais tanques, tomou-se uma amostra composta. Para realização das coletas de leite, empreendeu-se a agitação do leite nos tanques por cinco minutos, com intuito de promover a homogeneização da amostra sem comprometer a rotina de elaboração dos queijos.

- foram determinados: pH (AOAC, 1990); acidez titulável (ATHERTON, H.V & NEWLANDER, 1977); composição centesimal por absorção de radiação média do infravermelho (IDF 141C, 2000) e contagem de células somáticas por citometria de fluxo, ambas realizadas no do equipamento Delta CombiScope™ FTIR 400 (ISO 13366/IDF 148 Part 2, 2006).

- A pesquisa microbiológica em leite contemplou: contagens de BAL (IDF, 1988 adaptada por Resende, 2010), *Staphylococcus* coagulase positiva (ISO 6888-1/2, 2003), coliformes a 45 °C (AFNOR, 1989) e coliformes totais (AOAC, 1995); pesquisas de *Listeria monocytogenes* (ISO 11290-1, 2004), *Salmonella* spp. (ISO 6579-1, 2007); e inibidores no leite (HENNART &

FARAGHER, 2012); além da contagem bacteriana total por citometria de fluxo no equipamento BactoScan FC® (ISO 21187/IDF 196, 2004).

4.3.3 Avaliação microbiológica e físico-química de pingo

Para a coleta do pingo, empregou-se a metodologia de homogeneizar previamente o pingo nos recipientes de coleta utilizados pelos produtores por um minuto.

Uma vez que não existem metodologias oficiais para análise físico-química de pingo, foram adaptadas metodologias originalmente empregadas na análise de leite fluído.

- Foram analisados o pH (AOAC, 1990); acidez titulável (ATHERTON, H.V & NEWLANDER, 1977) e cloretos (BREENE & PRICE, 1961).

- A pesquisa microbiológica do pingo contemplou: contagens de BAL (IDF, 1988 adaptada por Resende, 2010), *Staphylococcus* coagulase positiva (ISO 6888-1/2), bolores e leveduras (ISO 6611/IDF 94), coliformes a 45 °C (AFNOR, 1989) e coliformes totais (AOAC, 1995); e presenças de *Listeria monocytogenes* (ISO 11290-1:2017) e de *Salmonella* spp. (ISO 6579-1, 2007).

4.3.4 Avaliação microbiológica e físico-química de queijos

Os parâmetros microbiológicos avaliados nas amostras de queijos foram as contagens de coliformes totais (AOAC, 1995) e a 45 °C (AFNOR, 1989), *Staphylococcus* coagulase positivo (ISO 6888-1/2: 2003), BAL (IDF, 1988 adaptada por Resende, 2010) e bolores e leveduras (ISO 6611/IDF 94), além das pesquisas de *Salmonella* spp. (ISO 6579: 2007) e de *Listeria monocytogenes* (ISO 11290-1: 2004).

Na avaliação físico-química, foram realizadas as análises dos teores percentuais de extrato seco total (IDF, 1982), umidade pelo método gravimétrico (IDF, 1982), gordura pelo método de Gerber (IDF, 2008), compostos nitrogenados pelo método de micro Kjeldahl (IDF, 1993), e de cloretos, pelo método argentométrico (BREENE & PRICE, 1961); além das determinações da acidez titulável (MERCK, 1993) e do pH (BRITISH STANDARDS, 1976). Pesquisou-se ainda a presença de amido (BRASIL, 2018) e de nitrato (MERCK, 1993).

4.3.5 Identificação proteômica de micro-organismos

Empregou-se a análise de espectrometria de massa por dessorção-ionização a laser assistida por matriz - tempo de voo (MALDI-TOF MS) no equipamento MALDI Biotyper (Bruker Daltonik, Billerica, MA, EUA) (ASSIS *et al.*, 2017) A identificação aplicou-se às colônias selecionadas na pesquisa de *Salmonella* spp. e na identificação de até três morfotipos (distintos em tamanho, cor e aspecto) de colônias de BAL referentes à cada queijo pesquisado, por propriedade e por período de maturação. As colônias selecionadas foram descritas morfológicamente e transferidas para microtubos contendo caldo MRS e 20% de glicerina para congelamento a -18 °C. Posteriormente, realizou-se o descongelamento em temperatura ambiente, e as colônias foram ativadas e semeadas em placas com ágar MRS para crescimento e identificação.

Por sua vez, as colônias que apresentaram resultado positivo para pesquisa de *Salmonella* spp. foram estriadas puras em ágar Xilose Lisina Desoxicolato – XLD (Kasvi, Itália) ou ágar Hektoen entérico (Kasvi, Itália), incubadas nas dependências do laboratório do Instituto Senai de Tecnologia em Alimentos e Bebidas e enviadas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Análises do DTIPOA/EV/UFMG, onde foram ativadas em caldo *Brain Heart Infusion* BHI (BD, Franklin Lanes, Estados Unidos) e, posteriormente, semeadas em placas com ágar BHI para crescimento e identificação.

4.4 Metodologias utilizadas nas pesquisas microbiológicas

4.4.1 Pesquisas de coliformes totais em queijos, leite e pingo

Foram pesquisados coliformes totais pelo método rápido Petrifilm® da 3M (AOAC, 1995). Assim, foram inoculadas alíquotas de 1mL das diluições 10^{-1} e 10^{-3} das amostras de leite, 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-4} de soro-fermento e 10^{-1} a 10^{-4} de queijos. As placas foram incubadas em aerobiose, a 37°C , por 24 horas e procedeu-se a leitura e interpretação das colônias.

4.4.2 Pesquisas de coliformes a 45°C em queijos, leite e pingo

Foram pesquisados coliformes a 45°C pelo método rápido Petrifilm® da 3M (AFNOR, 1989). Assim, foram inoculadas alíquotas de 1mL das diluições 10^0 e 10^{-2} das amostras de leite, 10^{-1} e 10^{-2} de soro-fermento e 10^{-1} a 10^{-2} de queijos. As placas foram incubadas em aerobiose, a 45°C , por 24 horas e procedeu-se a leitura e interpretação das colônias.

4.4.3 Pesquisa de coliformes totais e a 45°C em água

Para a pesquisa de coliformes totais e coliformes termotolerantes (a 45°C), utilizou-se a técnica de Colilert (Idexx®) para detecção de presença ou ausência destes micro-organismos nas amostras de água da queijaria. Assim, foram inseridos os reagentes nas amostras de 100mL de água e, posteriormente, incubadas a 35°C por 24 horas. As amostras foram então comparadas com a amostra de referência (comparador) para definição de presença ou ausência de coliformes totais.

As amostras positivas foram submetidas à iluminação ultravioleta e comparadas com a amostra referência para determinação de ausência ou presença de *E. coli* (AMERICAN..., 2005).

4.4.4 Contagem de *Staphylococcus coagulase* positivo

Alíquotas de 0,1mL de diluições de 10^0 a 10^{-5} para as amostras de leite e pingo e 10^{-1} a 10^{-8} para queijos, foram inoculadas por técnica *spread-plate*, com o auxílio de alça de Drigalski em ágar Baird-Parker (BD, Franklin Lanes, Estados Unidos) enriquecido com emulsão de gema de ovo e telurito de potássio (*Himedia*). As placas foram incubadas a 37°C por 48 horas. Em sequência, efetuou-se contagem de colônias classificadas em típicas ou atípicas. Nas placas em que foi encontrado apenas um morfotipo, cinco colônias foram selecionadas e inoculadas, em tubos

contendo caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) (BD). Nas placas em que foram observados dois morfotipos distintos de colônias, cinco de cada foram selecionados e inoculados também em caldo BHI (BD). Após 24 horas a 37 °C, 300µL da suspensão foram adicionados lentamente, em tubo estéril, seguidos da mesma quantidade de plasma de coelho reconstituído (*Laborclin*, Vargem Grande dos Pinhais, Brasil). Por fim, após incubação a 37 °C, por 6 horas, era conferido se o conteúdo de cada tubo havia coagulado (ISO 6888-1:2016).

4.4.5 Contagem de bactérias ácido-láticas

Alíquotas de 0,1mL das diluições 10^0 e 10^{-1} das amostras de água, 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6} de leite, 10^{-2} , 10^{-4} e 10^{-6} de soro-fermento e 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} e 10^{-8} de queijo foram inoculadas por técnica *spread-plate*, com auxílio de alça de Drigalski, sobre ágar Man-Rogosa-Sharpe (MRS) (*Merck*, Darmstadt, Alemanha). As placas foram incubadas em aerobiose, a 37 °C, por 48 horas (INTERNATIONAL..., 1988; RESENDE, 2010).

4.4.6 Contagem de bolores e leveduras

Alíquotas de 0,1mL de diluições de 10^{-2} a 10^{-7} de queijos foram inoculadas por técnica *spread-plate*, com auxílio de alça de Drigalski, em ágar Batata Dextrose (*Himedia*) 2% adicionado de ácido tartárico a 10% (*Ecibra*, Santo Amaro, Brasil). As placas foram incubadas em estufa por sete dias a 25 °C (BRASIL, 2018).

4.4.7 Pesquisa de *Salmonella* spp.

As amostras foram diluídas em solução salina peptonada tamponada 1% estéril e homogeneizadas. Logo após, as amostras diluídas permanecerem em temperatura ambiente por uma hora e procedeu-se a incubação em estufa a 37 °C por 18 ± 2 horas. Este procedimento é descrito como fase de pré-enriquecimento.

Na etapa de enriquecimento seletivo, foram transferidos 0,1 mL das amostras pré-enriquecidas para um tubo contendo 10 mL de Caldo Rappaport-Vassilidis R10 Broth (RV) (Difco, EUA) e 1 mL das amostras pré-enriquecidas para outro tubo contendo 10 mL de Caldo Tetrationato Broth Base - TT (Difco, EUA). Os tubos com caldo RV foram incubados a $41,5 \pm 1,0$ °C/ 24 ± 3 horas e os com caldo TT a 37 ± 1 °C/ 24 ± 3 horas. Após esse período, alíquotas dos caldos coletadas com alça de níquel cromo foram estriadas sobre meios sólidos seletivos para *Salmonella* spp., sendo eles: ágar Xilose Lisina Desoxicolato – XLD (Kasvi, Itália) e ágar Hektoen entérico (Kasvi, Itália), incubadas invertidas a 37 ± 1 °C/ 24 ± 3 horas. Colônias suspeitas de *Salmonella* spp. foram selecionadas e submetidas a confirmação bioquímica pelo teste de crescimento em Ágar Tríplice Açúcar Ferro – TSI (Difco, EUA) e em Ágar Lisina Ferro – LIA (Difco, EUA).

Finalmente, as amostras suspeitas foram adicionadas com salina peptonada 0,85% e submetidas ao teste de confirmação sorológica por meio do soro anti-*Salmonella* polivalente O (*Probac*, São Paulo, Brasil) (ISO 6579-1: 2007).

As amostras confirmadas pelo teste sorológico foram replicadas em ágar BHI (BD, Alemanha) para posterior identificação proteômica.

4.4.8 Pesquisa de *Listeria monocytogenes*

A pesquisa de *Listeria monocytogenes* foi realizada utilizando-se o método ISO 11290-1:2017. Desta forma, selecionou-se 25 g ou 25 mL das amostras homogeneizadas, com 225 mL de caldo Half Fraser (Oxoid, Inglaterra) em *Stomacher* e incubadas a $20 \pm 1,0$ °C/1 hora. Após esse período, foram adicionados 5 mL de suplemento Half Fraser (Oxoid, Inglaterra) e acondicionados em estufa a 30 °C por 24 horas.

Na etapa subsequente, de enriquecimento secundário, transferiu-se 0,1 mL das amostras para um tubo contendo 10 mL de Caldo Fraser (Oxoid, Inglaterra) contendo 0,1 mL de Suplemento Fraser (Oxoid, Inglaterra). Esses tubos foram incubados a 37 °C por 48 horas.

Terminado o enriquecimento secundário, os caldos foram estriados em superfície de placas com ágar Base Oxford Listeria - OXA (Oxoid, Inglaterra) e ágar Base PALCAM (Oxoid, Inglaterra), incubadas invertidas a 37 °C por 24 horas.

Colônias suspeitas de *Listeria monocytogenes* foram selecionadas e transferidas para purificação em placa de Ágar Trypticase de Soja Extrato de Levedura 44 (TSA-YE; Oxoid, Inglaterra), onde foram incubadas a 37 °C por 18 horas.

As colônias características foram submetidas à confirmação por meio de análise de esfregaço submetido à metodologia de coloração de Gram —(observado em microscópio) e teste de fermentação de dextrose, xilose, rhamnose e manitol, no qual foi inoculada a colônia suspeita na placa de ágar Púrpura Base (BD, EUA) suplementado com 0,5% de cada carboidrato testado e incubada a 35 °C por 7 dias. Os resultados foram expressos em presença ou ausência de *Listeria monocytogenes* (ISO 11290:2017).

4.4.9 Contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios

Inoculou-se, por técnica *pour plate*, alíquotas de 1mL das diluições 10^0 , 10^{-1} e 10^{-2} de água em ágar *Plate Count Agar* (PCA) (*Acumedia*). As placas foram incubadas a 37 °C, por 48 horas, para leitura (BRASIL, 2018).

4.5 Qualidade físico-química dos queijos

Procedeu-se pesquisa dos teores percentuais de extrato seco total (EST) e umidade pelo método gravimétrico, gordura pelo método butirométrico de Gerber, compostos nitrogenados pelo método de micro Kjeldahl, além das determinações de acidez titulável, pH e detecção de Nitrato. A proteína total foi obtida pela multiplicação do percentual de nitrogênio total por 6,38. Todas as análises físico-químicas foram realizadas em triplicata, seguindo metodologia apresentada por Brasil (2006).

4.6 Delineamento experimental e análises estatísticas

Procedeu-se a caracterização do QMA durante a maturação, que ocorreu no período chuvoso, em delineamento de blocos ao acaso, sendo que o período de maturação foi o tratamento e o lote de fabricação dos queijos, o bloco. Assim, os testes de Shapiro-Wilk e Bartlett foram aplicados aos resultados para observar se as variáveis testadas apresentavam distribuição normal e se havia homocedasticidade das variâncias. Utilizou-se conversão logarítmica para as variáveis passíveis de transformação.

Realizou-se a análise de variância e a comparação de médias pelo teste de Student-Newman-Keuls – SNK com 95% de significância para as variáveis paramétricas. As variáveis não paramétricas foram testadas pelo teste de Friedman com 95% de significância. Somente para as variáveis que apresentaram distribuição normal, procedeu-se a análise de regressão paramétrica ao longo do lapso temporal avaliado, sendo utilizados apenas modelos com coeficiente de determinação superior a 0,60.

As análises estatísticas foram executadas no *software Sas (SAS® Institute Inc)*.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Informações meteorológicas dos períodos de coleta

As características climáticas típicas da região da Serra da Canastra-MG se notabilizam por um verão quente e chuvoso e inverno marcado principalmente pela ausência de chuvas e baixa umidade relativa do ar.

Durante o período em que os queijos analisados foram elaborados, observou-se a ocorrência de fortes chuvas na região.

Os dados climáticos referentes ao período das coletas na região pesquisada se encontram no Anexo 01. Pode-se observar que a estação chuvosa durante o período da pesquisa foi típica e não apresentou particularidades estranhas ao esperado para a estação.

5.2 Qualidade microbiológica e físico-química da água de queijarias da região da Canastra-MG na época das chuvas.

Dentre as 16 propriedades pesquisadas, cinco apresentaram crescimento microbiano nas amostras de água coletadas. Destas cinco amostras, quatro apresentaram presença de coliformes totais e apenas uma destas quatro apresentou presença de *E. coli*.

O valor mais elevado para contagem de micro-organismos mesófilos aeróbicos encontrado foi de 450 UFC/mL exatamente na mesma amostra que foi a única a apresentar presença de *E. coli*.

Os resultados microbiológicos indicam que as águas utilizadas em queijarias da região da Serra da Canastra são, em sua maioria, de boa qualidade microbiológica, atendendo inclusive aos parâmetros microbiológicos estabelecidos na legislação vigente (MINAS GERAIS, 2021).

Entretanto, a observação de uma amostra com presença de *E. coli* demonstra a necessidade dos produtores se manterem em alerta mediante o risco de se observar contaminação indesejada na água utilizada nas queijarias.

Em Minas Gerais, a Portaria IMA nº 2033, de 23 de janeiro de 2021 (MINAS GERAIS, 2021), dispõe sobre a qualidade microbiológica e físico-química de amostras de água de abastecimento em estabelecimento beneficiadores de produtos de origem animal. Esta legislação determina a ausência de coliformes totais e de *E. coli* em amostras de 100 mL de água.

Coliformes totais e termotolerantes foram encontrados em amostras de água utilizada em queijarias de diversas regiões de Minas Gerais, como encontrado por Oliveira (2014) para propriedades produtoras de QMA habilitadas pelo IMA na região do Campo das Vertentes e por Castro e colaboradores (2016), na mesma região; porém, em queijarias em fase de habilitação pelo IMA.

Pesquisou-se ainda a contagem de BAL nas amostras de água coletadas, entretanto, não foi constatado crescimento de colônias para nenhuma das 16 amostras analisadas.

Quanto à qualidade físico-química, pesquisaram-se os teores de cloro residual livre e total das amostras. A legislação estadual determina o teor mínimo de 0,2 mg/L e o teor máximo de 2,0 mg/L de cloro residual livre nas amostras de água de abastecimento (MINAS GERAIS, 2021). Obteve-se que duas das 16 amostras apresentaram valores de 3,0 mg/L, acima do permitido. Outras oito amostras apresentaram valores abaixo do mínimo exigido, demonstrando vulnerabilidade a contaminações indesejáveis.

Para muitos produtores de queijos artesanais, em diversas partes do mundo, o cloro presente na água poderia eliminar micro-organismos benéficos necessários aos queijos artesanais, além de resultarem na formação do trihalometano, substância carcinogênica. Embora não tenha se encontrado trabalhos que pesquisaram o efeito do cloro presente na água de queijarias com a presença de micro-organismos desejáveis em queijos artesanais, Figueiredo (2018) demonstrou que em propriedades que utilizam a prática de cloração da água foi possível encontrar elevadas contagens de BAL nos queijos elaborados na região de Serra do Salitre. Em relação à produção do trihalometano, sabe-se que a filtração previa das águas captadas pode diminuir a matéria vegetal disponível na água que, em contato com o cloro, poderia resultar neste indesejável contaminante químico.

Historicamente, pode-se dizer que a água é o principal veículo de agentes causadores de doenças, o que justifica preocupações com esta conduta contrária à utilização do cloro. Águas que não são tratadas, como nos casos aqui observados, necessitam de proteção física da fonte até a torneira, além de análises laboratoriais constantes a fim de monitorar possíveis contaminações. A tabela 03 apresenta os resultados encontrados para a qualidade microbiológica e físico-química das amostras de água pesquisadas.

Tabela 03. Número de amostras de água de queijarias da região da Serra da Canastra e percentuais de adequação à legislação (conforme e não conforme) quanto aos parâmetros estabelecidos pela Portaria IMA 2033.

Parâmetros microbiológicos e físico-químicos	Conforme	Não conforme
Cloro residual	6 (37,5%)	10 (62,5%)
Coliformes totais	12 (75%)	4 (25%)
<i>E. coli</i>	15 (94%)	1 (6%)

O parâmetro de qualidade de água que apresentou maior número de amostras fora do padrão foi o cloro residual, seguido pelos parâmetros microbiológicos de coliformes totais e, por último, *E. coli*. A presença de coliformes na água pode ser uma consequência da cloração indevida ou ausente e sabe-se que o grupo coliforme possui diversos representantes capazes de gerar quadros patológicos em seres humanos (JAY, 2012).

Assim como apontado por Figueiredo (2018), em pesquisa na Serra do Salitre, os resultados encontrados para avaliação da qualidade da água de queijarias na região da Serra da Canastra sugerem a necessidade de ampliação dos debates sobre as práticas de tratamento da água, bem como a execução de ações de treinamento voltadas às técnicas de cloração da água.

5.3 Qualidade microbiológica e físico-química do leite cru utilizado na elaboração dos queijos da região da Canastra-MG na época das chuvas

A CCS e a CBT apresentaram baixos valores médios para as amostras de leite cru de queijarias da região da Canastra-MG na época das chuvas (tabela 04). Observa-se que o valor médio de CBT está abaixo do limite estabelecido nas legislações aplicadas à qualidade de leite cru no Brasil e no mundo. A média de CCS apresentou também valor inferior ao limite máximo praticado em legislações rigorosas de países desenvolvidos (200.000 células por mililitro de leite).

Tabela 04. Valores médios, máximo, mínimo e coeficientes de variação (CV) de Contagem de Células Somáticas - CCS e Contagem Bacteriana Total - CBT encontrados em amostras do leite de queijarias na região da Canastra-MG na época das chuvas

Parâmetro	Chuvas			
	Média	Máximo	Mínimo	CV (%)
Contagem de Células Somáticas (células/mL)	231.000	714.000	35.000	92
Contagem Bacteriana Total (UFC/mL)	25.133	88.000	5.000	106

Os resultados encontrados para CCS e CBT remetem a baixas contagens quando se compara com a qualidade do leite cru comercializado no Brasil (FONSECA *et al.*, 2009; WINCK e THALER NETO, 2009; STRASSBURGER *et al.*, 2019). Entretanto, a qualidade de leite cru utilizado na

elaboração de QMA em propriedades que possuem habilitação sanitária, normalmente encontram valores baixos para CCS e principalmente para CBT. Neste sentido, Figueiredo (2018) encontrou valores médios de aproximadamente 8.000 UFC/ml na CBT de leite cru utilizado em queijarias da Serra do Salitre-MG.

Por outro lado, Resende (2010), Oliveira (2014), Castro e colaboradores (2016) e Sales (2015) relataram não conformidades de amostras de leite cru coletadas em propriedades produtoras de QMA das regiões da Serra da Canastra, Campo das Vertentes e Araxá, respectivamente, para o limite de 100.000 UFC/mL de CBT.

Neste ensaio, de maneira oposta, 100% das amostras pesquisadas estavam abaixo deste limite, sugerindo boa higiene na obtenção do leite por parte dos produtores da Serra da Canastra-MG.

Abordando o parâmetro CCS, Castro e colaboradores (2016) encontraram valores médios de 250.000 e 240.000 células por mililitro de leite cru utilizado na elaboração de QMA nos períodos chuvoso e seco, respectivamente, de propriedades sem habilitação sanitária do Campo das Vertentes. Sales (2015) encontrou valores médios de 775.170 e 632.670 para CCS de leite cru utilizado na elaboração de QMA nos períodos chuvoso e seco, respectivamente na região de Araxá-MG.

De modo geral, observa-se que os valores encontrados nesta pesquisa indicam boa qualidade no que se refere às CCS e CBT para o leite cru utilizado na elaboração do QMA na região da Canastra-MG. Entretanto, ressalva-se que no bojo de dezesseis produtores pesquisados, foi possível encontrar duas propriedades com resultados para CCS acima de 400.000 células por mililitro de leite.

Outro problema pontual encontrado, foi a presença de inibidor antimicrobiano em uma amostra de leite cru, detectado pelo teste Delvotest[®] SP 5 PLATES-NT (HENNART & FARAGHER, 2012). Assim, esta amostra de leite que apresentou contagem de 88.000 UFC/mL de leite, deveria apresentar uma contagem maior sem a contaminação por antimicrobiano.

A contaminação do leite por antimicrobianos é um problema contemporâneo que precisa ser mais alertado e discutido na cadeia produtiva do leite no Brasil. Além desta contaminação representar risco à qualidade dos queijos, seu principal problema é a capacidade de promover a resistência disseminada aos antimicrobianos importantes na clínica médica. Deste modo, ressalta-se que micro-organismos encontrados em leite e/ou derivados lácteos produzidos em Minas Gerais podem apresentar perfis de resistência a fármacos de importância clínica (SALES, 2019).

A tabela 05 apresenta resultados de qualidade microbiológica encontrados na pesquisa do leite cru utilizado na elaboração dos queijos analisados neste trabalho.

Tabela 05. Valores médios, valores máximos, mínimos e coeficientes de variação (CV) de parâmetros microbiológicos encontrados em amostras do leite cru de queijarias na região da Canastra-MG na época das chuvas

Parâmetros microbiológicos	Média	Máximo	Mínimo	CV (%)
Coliformes totais (UFC/mL)	$2,3 \times 10^5$	$1,7 \times 10^6$	$5,8 \times 10^2$	178
Coliformes a 45 °C (UFC/mL)	$1,7 \times 10^4$	$9,5 \times 10^4$	$<9,0 \times 10^0$	176
<i>Staphylococcus</i> coagulase positivo (UFC/mL)	$1,3 \times 10^4$	$1,0 \times 10^5$	$<9,0 \times 10^0$	250
BAL (UFC/mL)	$1,2 \times 10^7$	$5,0 \times 10^7$	$9,5 \times 10^4$	158

Observa-se elevada variação nos parâmetros microbiológicos. Dentre os grupos microbianos pesquisados, destacam-se as BAL que apresentaram elevados valores mínimo, máximo e médio observados nas amostras de leite cru. As BAL são um grupo microbiano desejável em amostras de leite cru utilizados na elaboração de QMA, elas participam na formação de sabor desses queijos além de apresentarem características de inibição ao crescimento de micro-organismos contaminantes potencialmente indesejáveis do QMA (SANT'ANNA *et al.*, 2017; VALENTE *et al.*, 2021).

Embora a contagem média de *Staphylococcus* coagulase positivo tenha sido de $1,3 \times 10^4$ UFC/mL, ressalva-se que apenas três amostras (18,75%) de leite pesquisadas apresentaram contagem para este grupo microbiano. Este resultado evidencia que existe a possibilidade de formação de toxinas estafilocócicas no leite que dará origem aos queijos. Vale lembrar que este leite não é refrigerado, e deve ser utilizado na elaboração dos queijos em no máximo 90 minutos após o término da ordenha. A erradicação de *Staphylococcus aureus* que é o principal representante do grupo coagulase positivo é uma realidade distante para a pecuária leiteira de Minas Gerais.

Figueiredo (2018), pesquisando leite cru utilizado na elaboração de QMA da região de Serra do Salitre, encontrou contagem média de $3,7 \times 10^4$ UFC/mL de coliformes a 30 °C. Embora este grupo microbiano não seja pesquisado em alguns países de elevada tradição na produção de leite e queijos artesanais, sabe-se que as contagens de coliformes a 30 °C são um bom indicador do nível de contaminação do leite.

Encontrou-se presença de *Salmonella* spp. em uma amostra de leite cru. Esta detecção se deu utilizando a metodologia oficial adotada pelos serviços oficiais de inspeção no Brasil. Trata-se de metodologia embasada em reações bioquímicas que resultam em formação de cores específicas nos meios de cultura utilizados e que devem ser interpretadas pelo laboratorista, além de uma análise final de soroaglutinação (ISO 6579-1: 2007). Visando a confirmação deste importante achado, as colônias identificadas foram então submetidas à identificação proteômica por análise MALDI-TOF para confirmação da detecção (ASSIS *et al.*, 2017). Entretanto, as colônias suspeitas foram identificadas uma como *Citrobacter freundii* e outra como pertencente ao gênero *Yarrowia* (Anexos 02 e 03).

Yarrowia spp é um gênero de leveduras que podem ser encontradas em amostras de oleaginosas e raramente em produtos lácteos. *Yarrowia lipolytica* é uma espécie “*generally recognized as safe*” (GRAS) estudada por apresentar diversas características desejáveis e de importante potencial nas indústrias alimentícia, farmacológica e de biocombustíveis (Coelho *et al.*, 2010; Sáez-Sáez *et al.*, 2020).

A detecção errônea de contaminação por *Salmonella* spp. em alimentos de origem láctea, especialmente em queijos artesanais, utilizando-se de metodologias bioquímicas tem se mostrado rotina em pesquisas que realizam a confirmação destas colônias por meio de metodologias proteômicas de confirmação (CASTRO *et al.*, 2016; CAMPOS, 2019; ROCHA, 2021). Nesta pesquisa também houve similar detecção errônea de *Salmonella* spp. em duas amostras de queijo, como será apresentado e discutido adiante.

Não foi detectada a presença de *Listeria* spp. em leite cru. Este micro-organismo pode contaminar o leite em decorrência de contaminações da mama dos animais, inclusive em processos de mastite clínica e subclínica, além de contaminação pós-ordenha devido à má higienização de equipamentos (MELO *et al.*, 2015).

Dentre os parâmetros físico-químicos do leite, nenhum apresentou resultado anômalo ao esperado para leite cru (Tabela 06).

Tabela 06. Valores médios e coeficientes de variação (CV) dos parâmetros físico-químicos encontrados em amostras do leite de queijarias na região da Canastra-MG na época das chuvas

Parâmetros físico-químicos	Resultados	
	Média	CV (%)
Gordura (g/100g)	3,1	15
Proteína (g/100g)	3,19	5
Lactose (g/100g)	4,5	3
Extrato Seco Desengordurado	8,69	2
Sólidos Totais (g/100g)	11,8	4
Crioscopia	-0,538	2
pH	6,59	2
Acidez titulável (D°)	17,99	13

Dentre os constituintes do leite, sabe-se que o percentual de gordura é o parâmetro que mais oscila, acompanhado por proteínas e sólidos totais, ao passo que a lactose tende a não oscilar (FONSECA e SANTOS, 2009). Tančín *et al.* (2018) apontam que fatores nutricionais da vaca podem afetar a composição do leite. Assim, amostras de leite cru pesquisadas em estação chuvosa em Minas Gerais tendem a apresentar menores teores percentuais de gordura devido à maior

produção de leite normalmente registradas neste período, devido à maior oferta de pastagens de boa qualidade (NÓBREGA E LONGONI, 2011).

Sobre a acidez titulável, chama atenção o valor de aproximadamente 18 °D, uma vez que ao se avaliar a baixa contaminação microbiana encontrada, justificaria um resultado mais baixo para a acidez. Este ponto aliás é uma observação recorrente solicitada por produtores de queijos artesanais que possuem rigorosos controles de qualidade no leite, porém sempre se deparam com valores discretamente elevados para a acidez titulável nas suas rotinas de análises controle diária. Cabe ressaltar, portanto, que amostras de leite recém ordenhadas podem conter uma concentração ligeiramente elevada de gás carbônico, que acaba por influenciar as medições de acidez no leite.

5.4 Qualidade microbiológica e físico-química do pingo da região da Serra da Canastra-MG na época das chuvas

Foram encontradas altas contagens médias de BAL e de bolores e leveduras nas amostras de pingo avaliadas (tabela 07). Três amostras apresentaram contagens de *Staphylococcus* coagulase positivo, que variaram de $1,1 \times 10^3$ a $2,0 \times 10^4$ UFC por mililitro de Pingo. A pesquisa de coliformes a 45 °C indicou ausência deste grupo de bactérias em apenas quatro amostras avaliadas.

Tabela 07. Valores médios, máximo, mínimo e coeficientes de variação (CV) dos parâmetros microbiológicos e físico-químicos encontrados em amostras de pingo de queijarias da região da Serra da Canastra-MG na época das chuvas

Parâmetros microbiológicos e físico-químicos	Resultados			
	Média	Máximo	Mínimo	CV (%)
BAL (UFC/mL)	$3,93 \times 10^6$	$3,2 \times 10^7$	$8,0 \times 10^2$	226
<i>Staphylococcus</i> coagulase positivo (UFC/mL)	$1,78 \times 10^3$	$2,0 \times 10^4$	$<9,0 \times 10^0$	293
Bolores e Leveduras (UFC/mL)	$1,15 \times 10^6$	$4,5 \times 10^6$	$5,5 \times 10^1$	108
Coliformes totais (UFC/mL)	$8,40 \times 10^4$	$1,1 \times 10^6$	$4,0 \times 10^1$	333
Coliformes a 45 °C (UFC/mL)	$8,00 \times 10^3$	$9,0 \times 10^4$	$<9,0 \times 10^0$	285
pH	4,86	5,56	4,52	6
Acidez titulável (°D)	67,61	115,66	27,43	31
Cloretos (%)	5,38	9,39	2,21	38

Espera-se que o pingo seja um ingrediente capaz de adicionar micro-organismos desejáveis ao queijo, induzindo um processo de maturação capaz de promover o surgimento de sabores e odores típicos do produto. Desta forma, as elevadas contagens de BAL e de bolores e leveduras podem ser interpretadas como um resultado esperado. Por outro lado, observa-se que as contagens de coliformes totais e termotolerantes foram superiores às encontradas por Figueiredo (2018) ao pesquisar produtores de QMA da Serra do Salitre-MG, $1,37 \times 10^3$ e $1,25 \times 10^1$ UFC/mL, respectivamente. Campos (2019) encontrou contagens de $1,00 \times 10^2$ UFC/mL de coliformes totais em pingo utilizado por queijarias da Serra da Canastra. A mesma autora encontrou ainda contagem média de $1,23 \times 10^2$ UFC/mL para *Staphylococcus* coagulase positivo.

A presença de *Staphylococcus* coagulase positivo é um alerta para eventual produção de toxinas que possam contaminar os queijos e, conseqüentemente, representar perigo ao consumidor. Sabe-se que em ambientes com elevada concentração de NaCl e baixo pH, como observado no pingo, diminuem-se as possibilidades de produção de toxinas estafilocócicas, entretanto, Jay (2012) descreve produção de toxina em meios com pH de 4,5 e 8% de NaCl e $6,0 \times 10^6$ UFC/mL de

Staphylococcus aureus. Assim, ressaltando-se que biologia não é uma ciência exata, deve-se sim preocupar-se com a possibilidade de contaminação do pingo por este tipo de toxina.

A adição de sal ao pingo é uma estratégia utilizada por produtores de QMA para diminuir as chances de ocorrer defeito de estufamento precoce nos queijos em decorrência de contaminação por coliformes. De fato, a salinização deste ingrediente, associada à típica acidez do pingo, provavelmente atua como fator de dificuldade para a manutenção e crescimento de coliformes. Neste sentido, Figueiredo (2019) relatou teor de aproximadamente 8% de NaCl no pingo utilizado na Serra do Salitre-MG.

Embora o pingo se apresente como um possível veículo de contaminações indesejáveis do QMA, Brumano (2016) constatou que a utilização desse ingrediente resultou em maior acidificação dos queijos, maior redução na atividade de água, maior efetividade contra patógenos como *L. monocytogenes* e *S. aureus* e menor período de maturação para adequação aos parâmetros legislados em QMA da região do Serro.

Não foi detectada presença de *Salmonella* spp. e de *Listeria* spp. nas amostras de pingo. Embora possa se encontrar relatos de contaminações em leite cru e QMA por *Salmonella* spp. e *Listeria* spp., não são encontrados relatos de contaminação do pingo por estes micro-organismos.

5.5 Caracterização microbiológica e físico-química do queijo Minas artesanal de propriedades habilitadas e em fase de habilitação na região da Serra da Canastra-MG em diferentes períodos de maturação em estação chuvosa

5.5.1 Identificações proteômicas de micro-organismos selecionados da pesquisa de contagem de bactérias ácido-láticas dos queijos em diferentes períodos de maturação

Foi possível selecionar 41 colônias dos queijos pesquisados com um dia de maturação, elegendo-se por diferentes morfotipos em cada queijo pesquisado. Destas 41 colônias selecionadas, seis não se mantiveram viáveis após a seleção e posterior congelamento à -80 °C.

Assim, 35 colônias relativas à pesquisa de BAL em ágar MRS de queijos de um dia de maturação foram identificadas na análise por MALDI-TOF (tabela 08)

Tabela 08. Descrição morfológica e identificação proteômica de colônias microbianas selecionadas da pesquisa de contagem de bactérias ácido-láticas em ágar MRS em QMA de um dia de maturação na região da Serra da Canastra-MG

Descrição morfológica	Identificação
Colônia branca redonda leitosa com bordas lisas tamanho pequena 0,5mm	<i>Lactococcus garvieae</i>
Colônia branca opaca irregular muito pequena 0,2mm	<i>Enterococcus faecalis</i>
Colônia branca leitosa com borda lisa média 1,5mm	<i>Candida</i> spp.
Colônia translúcida redonda muito pequena 0,3mm	<i>Lactococcus lactis</i>
Colônia cor de gelo redonda, bordas irregulares média 1,5mm	<i>Lactococcus lactis</i>

Colônia branca arredondada pequena 1mm	<i>Lactococcus garvieae</i>
Colônia branca redonda leitosa com bordas lisa tamanho médio 1mm	<i>Lactococcus lactis</i>
Colônia branca redonda com bordas lisas muito pequena 0,5mm	<i>Lactococcus lactis</i>
Colônia em formato de asterisco com bordas irregulares pequena 1mm	<i>Lactococcus lactis</i>
Colônia branca redonda pequena 0,8mm	<i>Staphylococcus</i> spp.
Colônia branca redonda borda lisa média 2mm	<i>Streptococcus</i> spp.
Colônia branca borda irregular pequena 0,5mm	<i>Lactococcus lactis</i>
Colônia cinza arredondada pequena 0,5mm	<i>Lactococcus lactis</i>
Colônia branca redonda borda lisa leitosa media 2,5mm	<i>Streptococcus</i> spp.
Colônia branca formato de asterisco bordas irregulares grande 3mm	<i>Lactococcus lactis</i>
Colônia branca redonda media 1,5mm	<i>Streptococcus</i> spp.
Colônia branca pequena 0,8mm	<i>Streptococcus</i> spp.
Colônia cor de gelo redonda bordas irregulares média 1,5mm	<i>Streptococcus</i> spp.
Colônia branca leitosa borda lisa media 1,5mm	<i>Streptococcus</i> spp.
Colônia branca em forma de asterisco grande 2,5mm	<i>Streptococcus</i> spp.
Colônia branca leitosa borda lisa media 1,5mm	<i>Streptococcus</i> spp.
Colônia branca leitosa borda lisa pequena 0,8mm	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
Colônia branca redonda borda lisa media 1,5mm	<i>Streptococcus</i> spp.
Colônia branca redonda leitosa grande 1,5mm	<i>Staphylococcus</i> spp.
Colônia amarela redonda borda lisa pequena 0,5mm	Não identificado
Colônia branca transparente pequena 0,2mm	<i>Escherichia coli</i>
Colônia branca leitosa grande borda lisa 1,5mm	<i>Staphylococcus aureus</i>
Colônia branca leitosa pequena borda lisa 0,8mm	<i>Streptococcus equinus</i>
Colônia branca elíptica pequena borda lisa 0,8mm	<i>Streptococcus</i> spp.
Colônia branca leitosa borda lisa arredondada 1,5mm	<i>Enterococcus faecium</i>
Colônia similar a fungo em formato de asterisco com bordas irregulares media 2mm	<i>Enterococcus faecalis</i>
Colônia branca leitosa redonda borda lisa 2,5mm	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Colônia cor de gelo redonda borda lisa 1,5mm	<i>Enterococcus faecalis</i>
Colônia branca opaca redonda de borda lisa 1,5mm	<i>Streptococcus equinus</i>
Colônia branca leitosa brilhante redonda de borda lisa 1,5mm	<i>Streptococcus</i> spp.

Foram identificados *Candida* spp. (1); *Enterococcus faecalis* (3); *Enterococcus faecium* (1); *Escherichia coli* (1); *Lactococcus garvieae* (2); *Lactococcus lactis* (8); *Staphylococcus aureus* (1); *Staphylococcus epidermidis* (1); *Staphylococcus* spp. (2); *Streptococcus gallolyticus* (1); *Streptococcus equinus* (2) e *Streptococcus* spp. (11).

Assim, observa-se que a espécie mais identificada foi de *Lactococcus lactis* (8) e o gênero mais prevalente nestas 35 colônias identificadas foi o *Streptococcus* spp. com 14 identificações no total.

Valente (2022) também identificou colônias selecionadas da contagem de BAL em MRS de QMA do Campo das Vertentes com um dia de maturação. O autor identificou oito amostras microbianas por MALDI-TOF: *Lactobacillus plantarum* (3), *Lactococcus lactis* (2) e *Leuconostoc mesenteroides* (3).

Rocha (2021) detectou predominância de *Lactococcus lactis* e *Lactococcus garvieae* em queijos artesanais frescos da região de Serra Geral-MG, por identificação proteômica de colônias selecionadas da enumeração de BAL em ágar MRS.

Utilizando metodologia de identificação molecular independente de cultivo, Sant'anna *et al.* (2020) afirmaram que em períodos mais longos de maturação, a abundância relativa de *Lactococcus* spp. e *Streptococcus* spp./*Streptococaceae* diminuem gradativamente, enquanto a presença de outras famílias como *Lactobacillaceae* e *Leuconostocaceae* apareceram em fases avançadas do processo de maturação.

Lactococcus lactis é a espécie de BAL mais identificada em QMA fresco. Esta bactéria é caracterizada por ser do grupo das iniciadoras, capaz de produzir mais de 100 oligopeptídeos diferentes, devido à presença da proteinase chamada *PrtP* que lhe confere a habilidade de hidrolisar a caseína disponibilizando aminoácidos que serão utilizados no metabolismo celular das BAL iniciadoras e, posteriormente, das bactérias não iniciadoras (STEELE *et al.*, 2013).

Aos cinco dias de maturação, foi possível selecionar 55 morfotipos de colônias. Assim, caracteriza-se um discreto aumento de morfotipos, se comparados aos 41 selecionados de queijos de um dia de maturação.

Entretanto, das 55 colônias selecionadas, 18 não se mostraram viáveis para a identificação proteômica. Isto ocorre devido a não sobrevivência durante a estocagem sob congelamento a -80 °C, ou falhas no descongelamento e ativação, ou ainda por perfil de crescimento microbiano lento, de modo a não ser possível observarem-se colônias desenvolvidas após o descongelamento em tempo hábil para a detecção proteômica. A análise em MALDI-TOF não deve ser realizada em colônias com mais de 24 horas de incubação segundo orientações do fabricante do equipamento. A tabela 09 apresenta as identificações proteômicas em colônias selecionadas em QMA de cinco dias de maturação.

Tabela 09. Descrição morfológica e identificação proteômica de colônias microbianas selecionadas da pesquisa de contagem de BAL em ágar MRS em QMA de cinco dias de maturação na região da Canastra-MG

Descrição morfológica	Identificação
Colônia branca leitosa redonda borda lisa 3mm	<i>Lactobacillus plantarum</i>
Colônia cor de gelo redonda borda lisa 2,5mm	<i>Lactobacillus paracasei</i>
Colônia branca redonda borda irregular núcleo pontilhado 5mm	<i>Enterococcus faecalis</i>
Colônia branca leitosa redonda borda irregular 2,5mm	<i>Staphylococcus</i> spp.
Colônia branca leitosa elíptica em formato de feijão 3mm	<i>Lactobacillus plantarum</i>
Colônia cor de gelo borda lisa 1,5mm	<i>Lactococcus lactis</i>
Colônia branca leitosa borda lisa 3mm	<i>Escherichia coli</i>
Colônia branca opaca redonda borda irregular 3mm	<i>Enterococcus faecium</i>
Colônia branca leitosa formato de feijão 3mm	<i>Streptococcus</i> spp.
Colônia cor de gelo redonda de borda lisa 0,5mm	<i>Streptococcus</i> spp.

Colônia branca leitosa redonda de borda lisa 1mm	<i>Streptococcus</i> spp.
Colônia branca leitosa redonda de borda lisa de 3,5mm	<i>Staphylococcus</i> spp.
Colônia gelo leitosa núcleo branco e borda irregular de 3mm	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
Colônia amarela leitosa redonda de borda lisa e 2mm	<i>Staphylococcus</i> spp.
Colônia gelo opaca redonda de borda lisa e 2mm	<i>Streptococcus</i> spp.
Colônia branca leitosa redonda borda lisa 1mm	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
Colônia gelo opaca redonda de núcleo branco 2mm	Não identificado
Colônia amarelada opaca redonda borda lisa 3mm	<i>Trichosporon asahii</i>
Colônia branca opaca redonda borda irregular 3mm	<i>Staphylococcus</i> spp.
Colônia branca leitosa redonda borda lisa 2mm	<i>Lactobacillus plantarum</i>
Colônia amarelada opaca redonda de halo amarelado translucido e 2mm	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
Colônia branco opaca redonda borda irregular núcleo claro e 15mm	Não identificado
Colônia branca opaca em formato de pizza sem uma fatia 2,5mm	Não identificado
Colônia branca leitosa de borda lisa com 1mm	<i>Lactobacillus plantarum</i>
Colônia branca leitosa redonda de borda lisa 1,5mm	<i>Candida</i> spp.
Colônia gelo brilhante redonda borda lisa 0,5mm	<i>Lactococcus lactis</i>
Colônia branca leitosa redonda borda lisa 1mm	Não identificado
Colônia branca leitosa redonda borda irregular 3mm	<i>Staphylococcus</i> spp.
Colônia acinzentada redonda borda lisa núcleo branco de 1,5mm	<i>Staphylococcus</i> spp.
Colônia branca leitosa redonda de borda lisa 1,5mm	<i>Lactobacillus</i> spp.
Colônia branca opaca redonda de borda lisa 3mm	<i>Candida parapsilosis</i>
Colônia branca brilhante redonda com halo translúcido 1mm	<i>Enterococcus faecalis</i>
Colônia branca leitosa redonda borda lisa 1,5mm	<i>Bacillus cereus</i>
Colônia branca leitosa redonda borda lisa 1mm	<i>Staphylococcus</i> spp.
Colônia amarelada redonda irregular e pontilhada de 3mm	<i>Staphylococcus</i> spp.
Colônia amarelada leitosa redonda de borda lisa 3mm	<i>Candida parapsilosis</i>
Colônia branca leitosa redonda de borda lisa 2mm	<i>Staphylococcus</i> spp.

Foram identificados *Bacillus cereus* (1); *Candida* spp. (1); *Candida parapsilosis* (2); *Enterococcus faecalis* (2); *Enterococcus faecium* (1); *Escherichia coli* (1); *Lactobacillus* spp. (1); *Lactobacillus paracasei* (1); *Lactobacillus plantarum* (4); *Lactococcus lactis* (2); *Staphylococcus* spp. (9); *Staphylococcus saprophyticus* (3); *Streptococcus* spp. (4); *Trichosporon asahii* (1) e não identificados (4).

Chama atenção a identificação de *Bacillus cereus*. Este micro-organismo é potencialmente patogênico sendo frequentemente relatado como um patógeno alimentar. Ele é um bacilo Gram positivo que apresenta crescimento em aerobiose e pode formar esporos que contaminam o ar, partículas de poeira e alimentos de modo geral (JAY, 2012). Não foi possível encontrar relatos de contaminação de QMA por *Bacillus cereus*, podendo este ser o primeiro relato de tal contaminação. Entretanto, Rocha (2021) também identificou *Bacillus cereus* em amostra de pingo

coletado em queijaria da região de Serra Geral-MG, reforçando a necessidade de se preocupar e de se estudar melhor a presença deste micro-organismo em QMA.

Com nove dias de maturação, foi possível selecionar 51 colônias de morfotipos diferentes por queijo pesquisado. Entretanto, 22 colônias não se mostraram viáveis para a identificação proteômica. Observa-se que com o avançar da maturação, mais espécies fúngicas cresceram em ágar MRS e, possivelmente, muitas dessas não se mantêm viáveis após congelamento ou necessitam de mais tempo para ativação e crescimento. Este aumento na presença de fungos ocorre devido à diminuição da disponibilidade dos nutrientes mais utilizados por populações bacterianas, e pela possível acidificação dos queijos, possibilitando o crescimento de fungos, principalmente as leveduras. A tabela 10 apresenta as identificações realizadas em queijos de nove dias de maturação.

Tabela 10. Descrição morfológica e identificação proteômica de colônias microbianas selecionadas da pesquisa de contagem de BAL em ágar MRS em QMA de nove dias de maturação na região da Serra da Canastra-MG

Descrição morfológica	Identificação
Colônia branca leitosa redonda de borda lisa 2mm	<i>Staphylococcus</i> spp.
Colônia branca leitosa redonda de borda lisa 3mm	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
Colônia branca em forma de asterisco grande 2,5mm	<i>Staphylococcus</i> spp.
Colônia branca leitosa redonda de borda lisa 2mm	<i>Lactobacillus plantarum</i>
Colônia branca leitosa redonda de borda lisa 4mm	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
Colônia branca leitosa redonda de borda lisa 2mm	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
Colônia branca leitosa redonda com bordas mais claras 3,5mm	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
Colônia branca opaca muito pequena 0,2mm	<i>Corynebacterium</i> spp.
Colônia redonda leitosa branca com tonalidade vermelha 3mm	<i>Staphylococcus</i> spp.
Colônia muito pequena 0,3mm branca arredondada	<i>Kocuria kristinae</i>
Colônia branca leitosa redonda de borda lisa 2mm	<i>Lactobacillus paracasei</i>
Colônia cinza arredondada 4mm	<i>Brevibacterium</i> spp.
Colônia branca leitosa redonda de borda lisa 2mm	<i>Lactobacillus paracasei</i>
Colônia cinza redonda 1,5mm	<i>Lactobacillus</i> spp.
Colônia branca leitosa redonda bordas lisas 3mm	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
Colônia branca redonda pequena 0,8mm	<i>Lactobacillus plantarum</i>
Colônia cinza gelo redonda bordas lisas 2mm	<i>Staphylococcus. hominis</i>
Colônia dupla em simbiose uma maior em forma de asterisco e uma menor periférica arredondada (menor)	<i>Lactobacillus paracasei</i>
Colônia dupla em simbiose uma maior em forma de asterisco e uma menor periférica arredondada (maior)	<i>Staphylococcus</i> spp.
Colônia redonda avermelhada 2mm	<i>Trichosporon asahii</i>
Colônia fúngica branca arredondada irregular 10mm	<i>Enterococcus faecalis</i>
Colônia cinza em formato arredondado irregular 2mm	<i>Lactobacillus paracasei</i>
Colônia branca leitosa redonda de borda lisa 2mm	<i>Enterococcus faecalis</i>
Colônia cinza arredondada bordas irregulares 4mm	<i>Enterococcus</i> spp.

Colônia cinza com pequeno núcleo branco e bordas irregulares 3mm	<i>Lactobacillus plantarum</i>
Colônia branca leitosa redonda de bordas lisas 2,5mm	<i>Lactobacillus paracasei</i>
Colônia cinza redonda bordas lisas 1mm	<i>Streptococcus</i> spp.
Colônia branca leitosa redonda de bordas lisas 2,5mm	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
Colônia cinza muito pequena 0,2mm	<i>Staphylococcus</i> spp.

Foram identificados *Brevibacterium* spp. (1); *Corynebacterium* spp. (1); *Enterococcus* spp. (1); *Enterococcus faecalis* (2); *Kocuria kristinae* (1); *Lactobacillus* spp. (1); *Lactobacillus paracasei* (4); *Lactobacillus plantarum* (3); *Lactobacillus rhamnosus* (6); *Staphylococcus* spp. (5); *Staphylococcus hominis* (1); *Streptococcus* spp. (1) e *Trichosporon asahii* (1).

Pode-se observar também que frequentemente se identifica colônias pertencentes ao gênero *Staphylococcus* spp. com crescimento em ágar MRS. Isto demonstra a adaptabilidade deste gênero em ambientes ácidos, como neste tipo de meio de cultura, e a imprecisão das metodologias de cultivo para determinação de contagens de grupos microbianos específicos.

Aos 14 dias de maturação foi possível selecionar 26 colônias distintas. Entretanto 19 destas colônias não se mostraram viáveis para a identificação proteômica. A tabela 11 apresenta as identificações realizadas em colônias selecionadas

Tabela 11. Descrição morfológica e identificação proteômica de colônias microbianas selecionadas da pesquisa de contagem de BAL em ágar MRS em QMA de 14 dias de maturação na região da Serra da Canastra-MG

Descrição morfológica	Identificação
Colônia branca com centro avermelhado e bordas translúcida redonda grande 3,5mm	<i>Lactobacillus plantarum</i>
Colônia branca redonda de bordas translúcidas grande 2,8mm	<i>Bacillus cereus</i>
Colônia cinza arredondada de bordas translúcidas média 1,8mm	<i>Lactobacillus</i> spp.
Colônia branca amarelada redonda grande 4,5mm	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
Colônia cinza em forma de asterisco 2,5mm	Não identificado
Colônia branca amarelada redonda de bordas translúcidas grande 5mm	Não identificado
Colônia cinza com núcleo avermelhado redonda de borda translúcida grande 4,5mm	<i>Kodamaea</i> spp.

Foram identificados *Bacillus cereus* (1); *Kodamaea* spp. (1); *Lactobacillus* spp. (1); *Lactobacillus plantarum* (1); *Lactobacillus rhamnosus* (1) e duas não identificadas.

Novamente, destaca-se a identificação de *Bacillus cereus*, agora presente em queijo de uma propriedade distinta da identificada aos cinco dias de maturação, demonstrando que este patógeno realmente pode contaminar QMAs em maturação na região da Serra da Canastra-MG. Mais estudos sobre a viabilidade deste patógeno ao longo da maturação neste queijo e o potencial ou não de produção de exotoxinas por estes micro-organismos em QMA precisam ser empreendidos.

Aos 18 dias de maturação selecionou-se 23 colônias diferentes, com 14 colônias que não foram passíveis de serem submetidas à identificação. A tabela 12 apresenta os resultados das identificações empreendidas às BAL de QMA da Serra da Canastra-MG com 18 dias de maturação

Tabela 12. Descrição morfológica e identificação proteômica de colônias microbianas selecionadas da pesquisa de contagem de BAL em ágar MRS em QMA de 18 dias de maturação na região da Serra da Canastra-MG

Descrição morfológica	Identificação
Colônia branca leitosa redonda de bordas translúcidas média 1,5mm	<i>Lactobacillus paracasei</i>
Colônia gelo arredondada com bordas serrilhadas grande 4,5mm (em simbiose com 177)	<i>Lactobacillus paracasei</i>
Colônia branca amarelada leitosa arredondada pequena 1,2mm	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
Colônia cinza redonda pequena 0,8mm	<i>Lactobacillus</i> spp.
Colônia cinza similar a fungo em forma de asterisco (grudada em "simbiose" com 189) média 2mm	<i>Pediococcus acidilactici</i>
Colônia branca amarelada leitosa redonda de bordas translúcidas média 2mm	<i>Lactobacillus plantarum</i>
Colônia cinza com núcleo avermelhado redonda de borda translúcida grande 3,5mm	<i>Lactobacillus</i> spp.
Colônia branca leitosa redonda de bordas translúcidas média 2,5mm	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
Colônia branca leitosa redonda de bordas translúcidas média 2,5mm	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>

Aos 18 dias e maturação, todas as colônias identificadas eram de fato pertencentes ao grupo das BALs, sendo: *Lactobacillus paracasei* (2); *Lactobacillus rhamnosus* (3); *Lactobacillus* spp. (2); *Pediococcus acidilactici* (1) e *Lactobacillus plantarum* (1).

Observa-se que o gênero *Staphylococcus* spp. que frequentemente era identificado em períodos anteriores de maturação, não foi mais identificado. Sabe-se que este gênero bacteriano é resistente a ambientes com baixa atividade de água, pH ácido ou até mesmo pH básico, além de elevadas concentrações de NaCl. Assim, embora não se tenha identificado aqui novas colônias como pertencentes a este gênero a partir dos 14 dias de maturação, resultante de crescimento em ágar MRS, não se pode afirmar que o QMA está isento de apresentar presença deste micro-organismo a partir de 14 dias de maturação. Diversos autores encontraram contagens de *Staphylococcus* spp. em QMA de até 60 dias de maturação em diferentes regiões e estações do ano (FIGUEIREDO, 2018; ROCHA, 2021; VALENTE, 2022). Por fim, aponta-se que tanto Rocha (2021), quanto Valente (2022) não identificaram *Staphylococcus* spp. ao selecionarem morfotipos de colônias com crescimento em ágar MRS provenientes da pesquisa de queijos artesanais mineiros de diferentes períodos de maturação.

Por fim, nos queijos de 22 dias de maturação, foi possível selecionar 25 colônias, sendo que 17 foram viáveis de se identificar, como apresentado na tabela 13.

Tabela 13. Descrição morfológica e identificação proteômica de colônias microbianas selecionadas da pesquisa de contagem de BAL em ágar MRS em QMA de 22 dias de maturação na região da Serra da Canastra-MG

Descrição morfológica	Identificação
Colônia branca leitosa redonda média 2mm	<i>Lactobacillus paracasei</i>
Colônia branca acinzentada redonda de bordas translúcidas média 2mm	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
Colônia branca leitosa arredondada pequena 1,5mm	<i>Aeromonas jandaei</i>
Colônia cinza arredondada de bordas translúcidas média 1,8mm	<i>Lactobacillus plantarum</i>
Colônia branca redonda leitosa média 2mm	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>

Colônia branca acinzentada redonda grande 3mm	<i>Candida parapsilosis</i>
Colônia cinza redonda de bordas translúcidas média 2mm	<i>Lactobacillus paracasei</i>
Colônia branca leitosa arredondada pequena 1,5mm	<i>Pediococcus acidilactici</i>
Colônia branca leitosa redonda de bordas translúcidas média 2,5mm	<i>Lactobacillus pentosus</i>
Colônia cinza redonda de bordas translúcidas média 2mm	<i>Chryseobacterium spp.</i>
Colônia branca maciça redonda pequena 1mm	<i>Enterococcus faecalis</i>
Colônia cinza redonda com bordas translúcidas pequena 1mm	<i>Enterococcus faecalis</i>
Colônia similar a fungo grande branca grande 10mm	<i>Candida krusei</i>
Colônia cinza redonda de bordas translúcidas pequena 1mm	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
Colônia cinza redonda grande 4mm	<i>Lactobacillus plantarum</i>
Colônia branca leitosa bordas translúcidas média 2mm	<i>Lactobacillus paracasei</i>
Colônia branca maciça arredondada pequena 1mm	<i>Lactobacillus paracasei</i>

A tabela 13 apresenta a identificação de: *Aeromonas jandaei* (1); *Candida parapsilosis* (1); *Chryseobacterium spp.* (1); *Candida krusei* (1); *Enterococcus faecalis* (2); *Lactobacillus paracasei* (4); *Lactobacillus pentosus* (1); *Lactobacillus plantarum* (2); *Lactobacillus rhamnosus* (3) e *Pediococcus acidilactici* (1). O gênero microbiano mais identificado aos 22 dias de maturação foi *Lactobacillus spp.* que são BAL desejáveis em QMA. Este gênero bacteriano é considerado “*generally recognized as safe*” (GRAS) pela agência governamental estadunidense *Food and Drug Administration* (FDA), sendo também muito utilizado pela indústria de alimentos com finalidade probiótica (VALENTE *et al.*, 2021).

Destaca-se também a presença de *Chryseobacterium spp.* que é relatado como contaminante deteriorante de manteigas, capaz de gerar odores similares ao odor de maçã (JAY, 2012) e não pertence ao grupo das BAL, sendo, portanto, inesperada sua identificação.

5.5.2 Contagem de coliformes totais

A contagem de coliformes totais apresentou contagens elevadas para os queijos no início do período de maturação, conforme indicado na tabela 14

Tabela 14. Médias e coeficientes de variação (CV) da contagem de coliformes totais em Queijo Minas Artesanal da Serra da Canastra-MG durante 22 dias de maturação no período chuvoso

Dias de Maturação	Valores de Coliformes Totais	
	Media (UFC/g)	CV (%)
1	$1,6 \times 10^{5A}$	162
5	$1,3 \times 10^{5B}$	357
9	$3,7 \times 10^{4C}$	330
14	$1,0 \times 10^{4C}$	264
18	$1,1 \times 10^{4C}$	229
22	$4,6 \times 10^{3D}$	281

Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste SNK ($p \leq 0,05$).

Observa-se queda nas contagens de coliformes totais ao longo da maturação do QMA da Serra da Canastra-MG. Figueiredo (2018) encontrou contagens de $7,55 \times 10^3$ UFC/g em QMA de propriedades com habilitação sanitária na Serra do Salitre. Diversas pesquisas apontam a tendência de queda nas contagens de coliformes totais em QMA ao longo do período de maturação, como Dores *et al.* (2013) e Ferraz (2016), no QMA da Canastra, ou Sales (2015), no QMA de Araxá. Não existem pesquisas que apontem modelos matemáticos indicando comportamento de elevação da contagem de coliformes totais ao longo do período de maturação em QMA. Entretanto, existem pesquisas que não encontraram redução destas contagens, como Oliveira (2014) e Valente 2022 apenas para o período chuvoso em QMA da região do Campo das Vertentes.

Práticas errôneas no manejo dos queijos em maturação, podem incorrer em recontaminações de queijos em estágios avançados de maturação. É comum observar produtores que posicionam queijos frescos em prateleiras superiores às dos queijos maturados, ou produtores que mergulham queijos maturados em balde com pingo para aumentar a umidade da casca, além de produtores que fazem uma raspagem da casca com as mãos e utensílios mal higienizados ou com água sem qualidade apropriada. Nesta pesquisa, QMA de cinco queijarias diferentes apresentaram resultados sugestivos de recontaminações e, desses cinco, quatro eram sugestivos de recontaminações por coliformes. Assim, aos 14 dias de maturação, verificou-se uma média de $1,02 \times 10^4$ UFC/g e uma mediana de $1,1 \times 10^3$ UFC/g. Entretanto, ao se excluir as amostras que apresentaram o fenômeno de recontaminação, observa-se que todos os outros apresentaram contagens de coliformes totais inferiores ao limite máximo estabelecido em legislação oficial (MINAS GERAIS, 2021). Deste modo, quando se avalia o efeito da maturação em relação à contagem de coliformes totais, observa-se que 14 dias foram suficientes para garantir que todos os QMA de queijarias habilitadas ou em fase de habilitação sanitária na região da Serra da Canastra possam apresentar contagens inferiores ao limite máximo de 5.000 UFC/g, excetuando-se a incidência de fatores externos como as recontaminações que devem ser evitadas com boas práticas de manipulação durante a maturação dos queijos. Aponta-se, por fim, que em casos de incidência de novas contaminações ao longo da maturação do QMA, nem mesmo 60 dias de período de maturação podem ser suficientes para adequar as contagens de coliformes totais ao limite legislado (OLIVEIRA, 2014).

5.5.3 Contagem de coliformes a 45 °C

Obteve-se que dez (62,5%) das propriedades apresentaram queijos com resultados dentro do limite máximo de 500 UFC/g (MINAS GERAIS, 2021; BRASIL, 1996) de coliformes a 45 °C aos 14 dias de maturação, com média de $3,2 \times 10^3$ UFC/g (tabela 15).

Tabela 15. Médias e coeficientes de variação (CV) da contagem de coliformes a 45° C em Queijo Minas Artesanal da Serra da Canastra-MG durante 22 dias de maturação no período chuvoso

Dias de Maturação	Contagem de Coliformes a 45° C	
	Media (UFC/g)	CV (%)
1	$3,7 \times 10^{4A}$	263
5	$2,2 \times 10^{4B}$	345
9	$3,2 \times 10^{3BC}$	146
14	$1,5 \times 10^{3C}$	150
18	$1,1 \times 10^{3C}$	154
22	$1,0 \times 10^{3D}$	323

Médias seguidas por letras distintas sobrescritas, maiúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste SNK ($\leq 0,05$).

Como esperado, pode-se observar a tendência de redução nas contagens de coliformes a 45 °C ao longo do período de maturação dos queijos. Entretanto, também se observa a manutenção de elevado índice de coeficiente de variação, mesmo em períodos mais longos de maturação. Figueiredo (2018) encontrou coeficiente de variação igual a zero a partir de 28 dias de maturação em QMA da Serra do Salitre. Isto foi possível devido a não detecção deste grupo microbiano em todos os queijos pesquisados a partir de 28 dias de maturação. A manutenção de resultados elevados de coeficiente de variação após os nove dias de maturação nesta pesquisa guarda relação com os QMA de cinco queijarias que apresentaram resultados sugestivos para recontaminações durante este ensaio.

Grande parte da curiosidade de pesquisadores e leitores de pesquisas como esta é a avaliação do efeito da maturação em grupos microbiológicos com limites máximos de contagem estabelecidos em legislações sanitárias. Assim, não há dúvida que o fenômeno das recontaminações deixa esta interpretação mais complexa e laboriosa, uma vez que se torna necessário tentar-se isolar este fenômeno para que se possa conhecer exclusivamente o efeito da maturação sobre estes microorganismos.

Dores e colaboradores (2013) optaram por maturar QMA elaborado na região da Canastra em ambiente laboratorial, diminuindo-se a probabilidade de incidência de recontaminações. Por outro lado, pode-se dizer também que a maturação em ambiente laboratorial não guarda total semelhança ao observado nas unidades produtivas. Neste ensaio, Dores *et al.* (2013) também observaram a redução nas contagens de *E. coli* durante 64 dias de maturação em período chuvoso. Outro fator que sabidamente pode influenciar os resultados de contagens de coliformes termotolerantes em QMA da Serra da Canastra é o perfil dos produtores. Neste sentido, Resende (2010) pesquisou o efeito da altitude e da habilitação sanitária nas características físico-químicas e microbiológicas do QMA desta região. Se a altitude não resultou em diferença para as contagens de coliformes totais e termotolerantes, o mesmo não se diz da habilitação sanitária, uma vez que a pesquisadora demonstrou que propriedades habilitadas possuem menores contagens se comparadas a propriedades sem nenhum tipo de habilitação (RESENDE *et al.*, 2011).

5.5.4 Contagem de *Staphylococcus coagulase positivo*

As contagens de *Staphylococcus coagulase positivo* em QMA da região da Serra da Canastra, demonstraram tendência de queda e até mesmo impossibilidade de detecção ao longo do processo de maturação, como pode ser observado na tabela 16.

Tabela 16. Valores máximo e mínimo, medianas e coeficientes de variação (CV) da contagem de *Staphylococcus coagulase positivo* em queijo Minas artesanal da Serra da Canastra-MG durante 22 dias de maturação em período chuvoso

Dias de Maturação	Contagem de <i>Staphylococcus coagulase positivo</i>			
	Mediana (UFC/g)	CV (%)	Mínimo (UFC/g)	Máximo (UFC/g)
1	1,3 x 10 ^{5A}	125	<9,9 x 10 ¹	1,1 x 10 ⁶
5	3,5 x 10 ^{4B}	236	<9,9 x 10 ¹	2,00 x 10 ⁶
9	9,9 x 10 ^{1CDEF}	260	<9,9 x 10 ¹	3,0 x 10 ⁴
14	9,9 x 10 ^{1EF}	304	<9,9 x 10 ¹	6,5 x 10 ⁴
18	9,9 x 10 ^{1EFD}	303	<9,9 x 10 ¹	9,0 x 10 ³
22	9,9 x 10 ^{1F}	278	<9,9 x 10 ¹	3,5 x 10 ³

Médias seguidas por letras distintas sobrescritas, maiúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste Friedman ($p \leq 0,05$).

Observa-se que desde o primeiro dia de maturação já foi apresentado resultado mínimo de não detecção deste grupo microbiano, o que não é normalmente observado em QMAs de um dia de maturação. Lamaita e colaboradores (2005) encontraram 100% de amostras contaminadas pelo gênero *Staphylococcus* spp. em 80 amostras de leite de tanque de rebanhos do estado de Minas Gerais, e Ferraz (2017) encontrou contagem média de log 5,05 UFC/g de *Staphylococcus coagulase positivo* em QMA da Serra da Canastra. Figueiredo (2018), Sales (2015) e Rocha (2021) demonstraram que a contagem de ECP tende a se tornar indetectável após aproximadamente 14 dias de maturação.

Como relatado anteriormente, no conjunto de 16 queijarias pesquisadas neste ensaio, cinco apresentaram resultados sugestivos de recontaminação dos QMAs ao longo do período de maturação. Desses cinco, dois apresentam resultados típicos de recontaminação por ECP. Assim, aos nove dias de maturação, *Staphylococcus coagulase positivo* foram indetectáveis em queijos oriundos de 13 (81,25%) das propriedades. Aos 14 dias de maturação, apenas duas (12,5%) propriedades possuíam queijos em desacordo com o limite máximo de 1.000 UFC/g, (MINAS GERAIS, 2021; BRASIL, 1996).

A redução ou eliminação de grupos microbianos em decorrência do avançar do período de maturação está relacionada a diversos fatores de natureza bioquímica e/ou físico-química, como a acidificação dos queijos em decorrência principalmente da utilização da lactose por micro-organismos, liberando ácido lático; o próprio esgotamento de nutrientes facilmente disponíveis em decorrência da competição entre esses micro-organismos; a diminuição de atividade de água e aumento da concentração de sal pela perda de umidade; além da produção de substâncias

potencialmente inibidoras como as bacteriocinas (ÖZOGUL E HAMED, 2018; METZ *et al.*, 2020).

Embora o gênero *Staphylococcus* spp. se notabilize por apresentar elevada resistência à ambientes de baixo pH e até mesmo elevadas concentrações de NaCl (Jay, 2012), é comum de se encontrar pesquisas que apresentam contagens elevadas de *Staphylococcus* spp. ao longo de até 60 dias de maturação no QMA, diferentemente do observado com as contagens de ECP (Sales 2015; Figueiredo 2018; Rocha 2021).

5.5.5 Contagem de bactérias ácido-láticas

A contagem de BAL em QMA de propriedades habilitadas e em fase de habilitação da região da Serra da Canastra-MG indicou pouca variação ao longo dos 22 dias de maturação (tabela 17).

Tabela 17. Valores máximo e mínimo, medianas e coeficientes de variação (CV) da contagem de bactérias ácido-láticas em queijo Minas artesanal da Serra da Canastra-MG durante 22 dias de maturação em período chuvoso

Dias de Maturação	Contagem de BAL			
	Mediana (UFC/g)	CV (%)	Mínimo (UFC/g)	Máximo (UFC/g)
1	6,0 x 10 ^{6BC}	201	3,5 x 10 ³	2,2 x 10 ⁸
5	1,5 x 10 ^{7DE}	129	2,7 x 10 ⁵	2,1 x 10 ⁸
9	1,1 x 10 ^{8E}	125	5,4 x 10 ⁷	1,2 x 10 ⁸
14	2,5 x 10 ^{6B}	206	1,8 x 10 ⁵	9,0 x 10 ⁷
18	8,8 x 10 ^{6BCD}	105	5,5 x 10 ⁵	5,0 x 10 ⁷
22	7,8 x 10 ^{5A}	128	1,1 x 10 ⁵	7,1 x 10 ⁶

Médias seguidas por letras distintas sobrescritas, maiúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste de Friedman ($p \leq 0,05$).

A contagem observada aos 22 dias de maturação foi menor ($p \leq 0,05$) do que todas as outras contagens observadas. Muitos autores classificam as BAL em dois grupos: as iniciadoras e as não iniciadoras (GATTI *et al.*, 2014). Assim, sugere-se que ao avançar do período de maturação aquelas BALs iniciadoras, adaptadas a ambientes com elevada concentração de lactose, deixem de sobreviver dando espaço às BALs não iniciadoras. Neste sentido, Brumano (2016) relatou a superioridade da utilização do pingo ao invés da rala de queijos maturados, pois o pingo resulta em maior acidificação do QMA, maior redução na atividade de água, maior efetividade contra patógenos como *L. monocytogenes* e *S. aureus* e menor período de maturação para adequação aos parâmetros legislados em QMA da região do Serro. Isto tudo relacionado à maior abundância de BALs iniciadoras no pingo em detrimento à quantidade destas bactérias presentes no queijo maturado. Com cinco e com nove dias, observaram-se as maiores contagens de BAL neste ensaio. Rocha (2021) e Figueiredo (2018) encontraram redução nas contagens BAL apenas por volta dos 60 dias de maturação em queijos artesanais mineiros.

A presença de BALs em elevadas contagens no QMA é um aspecto desejável para estes queijos. Rosa e colaboradores (2015) demonstraram que *Lactobacillus* spp. encontrados em QMA da Serra da Canastra foram capazes de inibir o desenvolvimento *in vitro* de *Staphylococcus* spp. Costa *et al.* (2013) testaram 11 *Lactobacillus* spp. e uma amostra de *Weissella paramesenteroides* isoladas de QMA da Serra da Canastra, e apontaram que elas foram capazes de inibir *in vitro* *E. coli* ATCC 25922, *Listeria monocytogenes* ATCC 15313, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 e *Staphylococcus aureus* ATCC 29313.

Além do potencial probiótico muitas vezes atribuído a este grupo microbiano, as BAL também são desejáveis no processo de maturação e desenvolvimento sensorial dos queijos, conferindo aromas e sabores propícios aos queijos maturados.

5.5.6 Presença de *Salmonella* spp.

Foram detectadas quatro colônias suspeitas para *Salmonella* spp. nas amostras de QMA de propriedades cadastradas e em fase de cadastro ao IMA na Serra da Canastra-MG. Assim como as amostras suspeitas encontradas em leite cru e já descritas neste trabalho, as demais amostras foram encontradas em queijos de um e cinco dias de maturação, todas da mesma propriedade onde foi detectada a amostra suspeita em leite cru. Assim como realizado com a amostra suspeita encontrada em leite cru, as quatro amostras encontradas em QMA foram submetidas à análise proteômica para identificação precisa da espécie de *Salmonella* em questão. Entretanto, os resultados para identificação molecular em MALDI-TOF (ASSIS *et al.*, 2017) sugeriram outros gêneros bacterianos distintos à *Salmonella* spp (ANEXOS 4; 5;6 e 7).

Como mencionado anteriormente, a verificação de colônias suspeitas para *Salmonella* spp., outrora identificadas por metodologias oficiais utilizadas pelos órgãos oficiais de inspeção de produtos de origem animal no Brasil, quando submetidas à confirmação por metodologias superiores, mostram-se frequentemente equivocadas. Neste sentido, Rocha (2021) detectou *Salmonella* spp. em dois queijos de 14 dias de maturação na região de Serra Geral-MG. Esta detecção, realizada com metodologias de cultivo, foi verificada utilizando-se técnica MALDI-TOF, e conforme relato da pesquisadora:

“Contrariando o esperado, as colônias foram identificadas como *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumonia*” (ROCHA, 2021 p. 87).

Castro *et al.* (2016) descreveram resultado semelhante, sendo uma colônia suspeita, outrora identificada como *Salmonella* spp., não foi confirmada em MALDI-TOF. Campos (2019) também utilizou do expediente de confirmar resultados de detecção de *Salmonella* spp. com técnica de PCR, porém esta autora não detalhou se alguma amostra foi indevidamente apontada como *Salmonella* spp.

Estes resultados fazem emergir a discussão sobre a necessidade de se aprimorar a rotina de detecção de *Salmonella* spp. em queijos artesanais por órgão oficiais de inspeção de produtos de origem animal. No Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) revisou as metodologias oficiais para análise de alimentos de origem animal por meio da Instrução Normativa número 30, de 26 de junho de 2018 (BRASIL, 2018). Entretanto, estabeleceu-se no país apenas a metodologia ISO 6579-1: 2007 para detecção da presença de *Salmonella* spp. nestes alimentos. Assim, este expediente metodológico mostra-se ineficiente e contraindicado para utilização sem método molecular confirmatório em queijos artesanais brasileiros, podendo resultar em falso-positivos e interdições injustas de queijarias artesanais.

5.5.7 Contagem de bolores e leveduras

As contagens de bolores e leveduras observadas aos nove dias de maturação foram superiores ($p \leq 0,05$) a todas as outras contagens observadas para este grupo microbiano (tabela 18)

Tabela 18. Médias e coeficientes de variação (CV) da contagem de bolores e leveduras em queijo Minas artesanal da Serra da Canastra-MG durante 22 dias de maturação em período chuvoso

Dias de Maturação	Contagens de bolores e leveduras	
	Média(UFC/g)	CV (%)
1	$6,1 \times 10^{4A}$	142
5	$7,0 \times 10^{5BD}$	63
9	$1,7 \times 10^{7C}$	193
14	$1,9 \times 10^{6B}$	109
18	$1,0 \times 10^{6BD}$	176
22	$7,9 \times 10^{5D}$	255

Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste SNK ($P < 0,05$).

A contagem de bolores e leveduras apresentou valores similares ao observado por outros autores em pesquisas de maturação em QMA. Figueiredo (2018) encontrou contagem média de $2,21 \times 10^4$ UFC/g em queijos de propriedades cadastradas ao IMA com um dia de maturação na Serra do Salitre. Valente (2022) encontrou 8×10^4 UFC/g em QMA de um dia de maturação em período chuvoso na região do Campo das Vertentes.

A presença de bolores e leveduras em contagens elevadas durante todo período de maturação estudado é um resultado esperado. Sabe-se que bolores e leveduras são amplamente disseminados no ambiente (SANTOS, 2021), especialmente em locais de clima tropical, como o Brasil. Assim, esses micro-organismos podem facilmente contaminar os alimentos, até mesmo aqueles fabricados em ambientes industriais. Neste sentido, a indústria láctea usualmente emprega vários aditivos de caráter fungicida ou fungicida em alimentos derivados do leite. No universo da produção artesanal, não são bem aceitos e em alguns locais não são permitidas as utilizações de aditivos desta natureza. Aliás, os bolores e leveduras são desejáveis e essenciais em diversos produtos artesanais, dentre eles os queijos. Nos queijos, as leveduras são micro-organismos abundantes no interior das massas, e atuam na formação dos sabores e aromas dos queijos maturados, além produzirem enzimas lipolíticas e proteolíticas e metabolizar o ácido láctico aumentando o pH da massa dos queijos (EL-SHAROUUD *et al.*, 2009). Os fungos filamentosos, por sua vez, são abundantes nas cascas dos queijos artesanais e também podem contribuir na formação de características sensoriais desejáveis em queijos artesanais. Santos (2021) pesquisou a diversidade fúngica e o perfil de compostos voláteis relacionados a esta diversidade em QMA da Serra da Canastra. Os autores apontaram a presença de um total de 66 compostos detectados: 15 ácidos, 12 álcoois, 23 ésteres, nove cetonas, três aldeídos e quatro compostos diversos que não puderam ser classificados. Estes compostos foram associados a aspectos sensoriais que remetem a sabores amanteigados, de queijo queimado, de mofo, frutado, dentre outros (SANTOS, 2021).

A segunda década dos anos 2000 tem apresentado rápida valorização de queijos artesanais brasileiros com a presença abundante de fungos filamentosos na casca. Estes queijos estão cada vez mais apreciados e presentes na mesa dos consumidores. Entretanto, observa-se a falta de regulamentos oficiais para habilitação sanitária destes queijos (VALENTE, 2022; FIGUEIREDO, 2018). De Souza *et al.*, (2021) apresentaram que algumas espécies de *Aspergillus* spp. podem estar presentes na casca do queijo Minas artesanal e ainda podem produzir micotoxinas *in vitro* sob condições apropriadas para tal produção, o que demonstra que também podemos ter micro-organismos indesejáveis contaminando este alimento.

Prado e colaboradores (2000) encontraram queijos “Minas canastra” contaminados com aflatoxina M₁ em valores de 0,36ng/g. Esta toxina é potencialmente danosa à saúde de seres humanos, sendo considerada carcinogênica. Entretanto, sua produção está relacionada à metabolização hepática de outra aflatoxina contaminante de alimentos fornecidos à vaca lactante e, por final, sendo excretada no leite, contaminado seus derivados (PRADO *et al.*, 2000).

5.5.8 Presença de *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes não foi detectada nas amostras pesquisadas neste ensaio. Assim, o resultado para esta pesquisa foi de ausência total de qualquer contaminação por *L. monocytogenes* sem necessidade de identificações proteômicas complementares.

As legislações (BRASIL, 1996; MINAS GERAIS, 2021) para habilitação sanitária de queijarias determinam a completa intolerância à presença deste micro-organismo em queijos, seja qual for o período de maturação. Entretanto, Sales (2015) apontou presença desta bactéria em dois QMAs da região de Araxá com um e com sete dias de maturação. Campos (2019) encontrou um QMA (n=78) da região da Serra da Canastra com mais de 22 dias de maturação, contaminado com *L. monocytogenes*. A autora confirmou a amostra contaminante com auxílio de metodologia PCR (CAMPOS, 2019).

5.5.9 Teor de umidade

O teor de umidade das amostras de QMA de propriedades habilitadas e em fase de habilitação sanitária na Serra da Canastra, maturados em estação chuvosa, diminuiu gradativamente ao longo da maturação ($p \leq 0,05$) (tabela 19).

Tabela 19. Valores médios e coeficientes de variação (CV) do teor (%) de umidade em queijo Minas artesanal de Serra do Salitre-MG durante o período de maturação

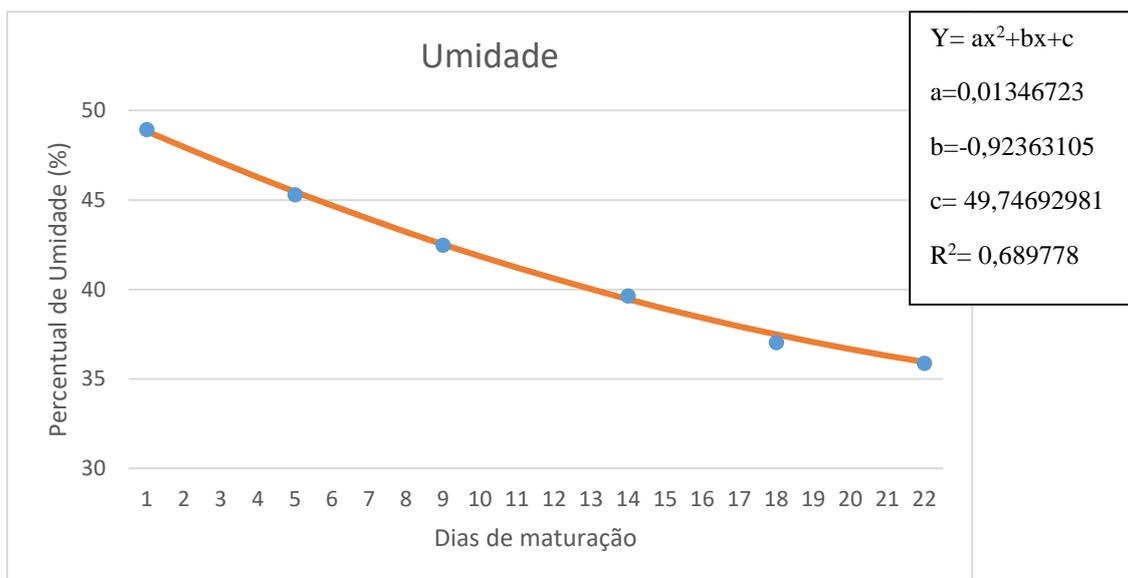
Dias de maturação	Umidade	
	Média (%)	CV (%)
1	48,9 ^A	4
5	45,3 ^B	5
9	42,47 ^C	7
14	39,76 ^D	8
18	37,19 ^E	10
22	35,88 ^F	10

Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste SNK ($p \leq 0,05$).

Encontrou-se diferença ($p \leq 0,05$) para teores percentuais de umidade em QMA entre todos os períodos pesquisados neste ensaio. De maneira similar, Lima *et al.* (2008) descreveram diferenças estatísticas ($p \leq 0,05$) para valores percentuais de umidade entre todos os períodos pesquisados por esses autores: 1; 7; 15; 30; 45 e 60 dias de maturação no QMA da cidade de Serra do Salitre-MG.

Diversos autores que pesquisam características físico-químicas de QMAs ao longo da maturação descrevem a tendência de queda na umidade dos queijos ao avançar da maturação (Valente 2022; Rocha 2021; Ferraz, 2016).

A umidade na massa do QMA é uma variável que normalmente é bem representada por modelo matemático de regressão linear. Deste modo, Ferraz (2016) encontrou coeficientes de regressão para teores percentuais de umidade próximos a -0,56 em QMA da Serra da Canastra, com R^2 de aproximadamente 0,96. O gráfico 01 apresenta o modelo matemático que melhor representou os resultados de teores percentuais de umidade observados durante os 22 dias de maturação pesquisados.



* Significativo pelo teste t ($p \leq 0,05$)

Gráfico 01. Evolução do teor percentual de umidade em queijo Minas artesanal da Serra da Canastra-MG durante a maturação até 22 dias.

Observa-se que o coeficiente de determinação encontrado foi baixo, sugerindo que o modelo matemático apresentado não representou bem os resultados observados na pesquisa. Avaliou-se o modelo de regressão linear, regressão quadrática e regressão cúbica, sendo a regressão quadrática que surpreendentemente apresentou-se mais adequada.

Diversos autores apresentaram modelo de regressão linear para teor de umidade durante a maturação de QMA (ROCHA, 2021; FIGUEIREDO 2018; FERRAZ, 2016; SALES 2015). Entretanto, a principal diferença é que estes autores estudaram maiores períodos de maturação. Ao se observar a perda de umidade em QMA pode-se notar que nos primeiros dias a redução é consideravelmente mais rápida, pois os queijos perdem umidade por gotejamento e por evaporação, assim como neste ensaio pesquisou-se a variação dentro de apenas 22 dias de maturação, o comportamento linear não foi preponderante.

O QMA é um queijo regulamentado pelo estado de Minas Gerais (MINAS GERAIS, 2020b) como queijo de média umidade sendo seu percentual máximo permitido é de 45,9% (MINAS GERAIS, 2021). Nesta pesquisa, até nove dias de maturação ainda foi possível detectar queijos com teor de umidade acima do permitido.

A umidade dos queijos está diretamente relacionada à atividade de água deste alimento (FERREIRA, 2004), logo, teores mais elevados de umidade representam mais quantidade de água disponível para os micro-organismos e maior risco de manutenção de possíveis contaminantes viáveis no alimento.

5.5.10 Teor de extrato seco total

O EST é o oposto do percentual de umidade dos queijos; portanto, apresentara o mesmo perfil de diferenças estatísticas ($p \leq 0,05$) observados para a umidade, porém com elevação dos valores de extrato seco ao longo da maturação (tabela 20).

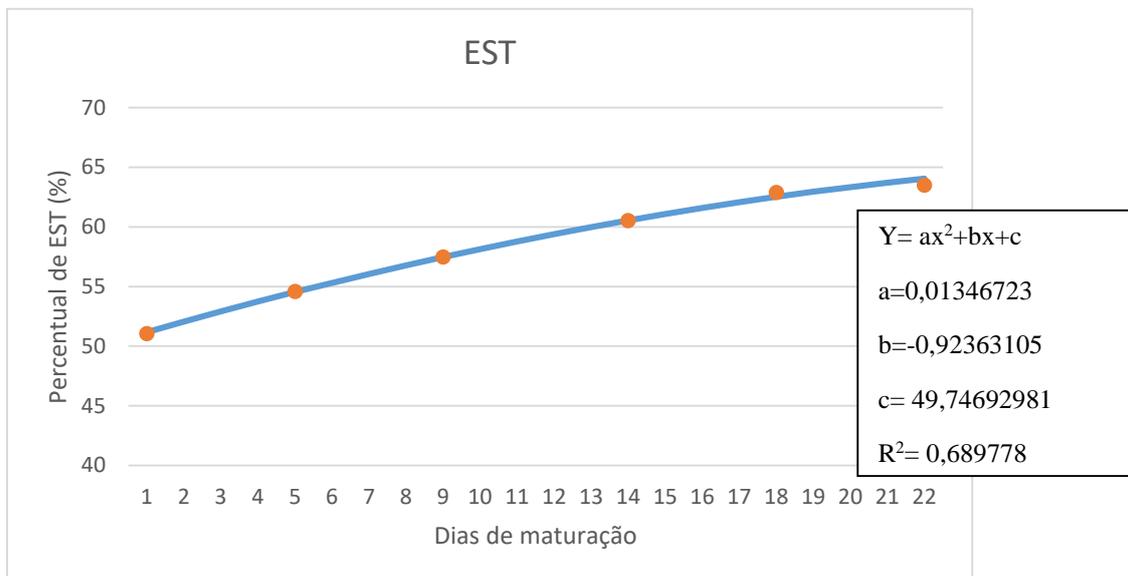
Tabela 20. Valores médios e coeficientes de variação (CV) do teor (%) de extrato seco total em queijo Minas artesanal da Serra da Canastra-MG durante o período de maturação de 22 dias em estação chuvosa

Dias de maturação	Extrato seco total	
	Média (g/100g)	CV (%)
1	51,0 ^A	4
5	54,7 ^B	5
9	57,4 ^C	7
14	60,2 ^D	8
18	62,8 ^E	10
22	63,9 ^F	10

Médias seguidas por letras distintas sobrescritas, maiúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste SNK ($p \leq 0,05$).

Conforme discutido acima, o início do período de maturação é caracterizado por intensa perda de água em QMAs maturados em temperatura ambiente. Assim, observou-se também intensa concentração de sólidos nos queijos pesquisados, com diferenças estatísticas ($p \leq 0,05$) entre todos os períodos estudados. Figueiredo (2018) encontrou 48,84 g/100g de EST em QMA de um dia de maturação da Serra do Salitre e 69,42 g/100g aos 21 dias. É de se esperar variações entre regiões e até mesmo entre produtores de QMA para o teor de EST, uma vez que se trata de um queijo artesanal com elaboração predominantemente manual que implica em baixa padronização do produto final.

O gráfico 02 apresenta o modelo matemático que melhor representou os resultados de teores percentuais de EST observados durante os 22 dias de maturação pesquisados.



* Significativo pelo teste t ($p < 0,05$)

Gráfico 02: Evolução do teor percentual de estrato seco em queijo Minas artesanal da Serra da Canastra-MG durante 22 dias de maturação.

Assim como observado no modelo matemático encontrado para o percentual de umidade, a regressão quadrática foi o modelo que melhor representou a evolução do percentual de EST, entretanto o coeficiente de determinação também não foi satisfatório neste caso.

5.5.11 Teor de proteínas

Assim como observado para o percentual de gordura, o percentual de proteínas nos queijos também apresentou aumento no período estudado (tabela 21).

Tabela 21. Valores médios e coeficientes de variação (CV) do teor (%) de proteínas em queijo Minas artesanal da Serra da Canastra-MG durante 22 dias de maturação em estação chuvosa

Dias de maturação	Proteínas	
	Média (%)	CV (%)
1	21,48 ^A	11
5	23,31 ^B	7
9	24,94 ^C	8
14	25,45 ^C	12
18	24,99 ^C	8
22	25,92 ^C	7

Médias seguidas por letras distintas sobrescritas, maiúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste SNK ($p \leq 0,05$).

Observa-se que o período de maturação exerceu influência ($p \leq 0,05$) sobre os valores médios de proteína do QMA do primeiro até o nono dia de maturação. Neste período é quando se tem a maior perda de água nos queijos, resultando em maior concentração dos constituintes sólidos na massa do alimento. Sales (2015) também não observou diferenças nos valores percentuais de proteínas entre os 14 a 29 dias de maturação em QMA de propriedades com habilitação sanitária na região de Araxá-MG. De maneira também similar, Valente (2022) não encontrou diferença

entre o teor de proteínas de QMA da região do Campo das Vertentes-MG entre os sete a 22 dias de maturação em estação chuvosa, e Rocha (2021) não encontrou variações entre 14 a 21 dias em queijos artesanais de Serra Geral-MG.

Sabe-se de dois fenômenos que incidem sobre a resposta teor de proteínas na massa dos queijos durante a maturação: a concentração dos constituintes sólidos por perda de umidade e a proteólise. A proteólise em QMA é decorrente não apenas da atividade proteolítica dos micro-organismos do queijo, como também do efeito proteolítico de enzimas oriundas do leite cru, principalmente a plasmina, além de proteases oriundas do pingo (MARTINS, 2006).

5.5.12 Teor de gordura

O percentual de gordura durante a maturação do QMA apresentou comportamento crescente ($p \leq 0,05$) durante os 22 dias de maturação em estação chuvosa na região da Serra da Canastra-MG (tabela 22).

Tabela 22. Valores médios e coeficientes de variação (CV) do teor (%) de gordura em queijo Minas artesanal da Serra da Canastra-MG durante o período de 22 dias de maturação

Dias de maturação	Gordura	
	Média (%)	CV (%)
1	21,3 ^A	15
5	23,9 ^B	12
9	24,9 ^B	10
14	27,5 ^C	11
18	28,2 ^D	12
22	29,0 ^D	10

Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste SNK ($p \leq 0,05$).

Este comportamento observado para o percentual de gordura na massa dos queijos também foi observado por outros pesquisadores. Ferraz (2016) descreveu teores de gordura em QMA da Serra da Canastra que variaram de 22,2% no início da maturação a 30,8% com 28 dias de maturação. Nesta mesma região pesquisada, Resende (2010) encontrou 29% de gordura na massa de queijos entre sete a quinze dias de maturação.

O comportamento dos valores percentuais de gordura na massa dos queijos ao longo da maturação está intimamente ligado ao comportamento do EST. Assim, à medida que o QMA avança no processo de maturação, tem-se mais perda de água nos queijos e consequente concentração dos constituintes sólidos do queijo, como a gordura (Valente, 2022).

A legislação brasileira estabelece critérios de classificação para queijos no país segundo o conteúdo de gordura no extrato seco. Deste modo, queijos com mais de 60% de gordura no extrato seco são classificados como extra gordos, queijos entre 45,0 e 59,9% são considerados gordos, sendo semi-gordos são aqueles entre 44,9 e 25%, queijos magros variando de 24,9 a 10% e queijos desnatados os que apresentam menos de 10% (BRASIL,1996).

Tabela 23. Valores médios, coeficientes de variação (CV) do teor (%) de gordura no EST em queijo Minas artesanal da Serra da Canastra-MG durante o período de maturação e classificação perante portaria 146/1996 do MAPA

Dias de maturação	Gordura no EST		Classificação
	Média (%)	CV (%)	
1	42,76 ^A	8	Semi-Gordo
5	44,00 ^A	10	Semi-Gordo
9	43,63 ^A	9	Semi-Gordo
14	44,67 ^A	8	Semi-Gordo
18	45,19 ^A	8	Gordo
22	45,64 ^A	6	Gordo

Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste SNK ($p \leq 0,05$).

Nesta pesquisa o QMA da região da Serra da Canastra foi classificado como semi-gordo entre um a catorze dias de maturação e como queijo gordo entre 18 a 22 dias de maturação na estação chuvosa (tabela 23). Sabe-se que a gordura é o constituinte sólido do leite que mais pode oscilar, uma vez que possui caráter não limitante para a produção láctea e por não ser hidrofílica, não se relaciona intimamente com os componentes limitantes para a produção, como a lactose, a água e alguns aminoácidos, principalmente. Deste modo em vacas que produzem maiores volumes de leite, é comum observar menor percentual de gordura no leite, pelo princípio da diluição. Do mesmo modo, em estações do ano que os animais a pasto possuem maior oferta de alimentos e, conseqüentemente, maior produção leiteira, observa-se também o menor percentual de gordura no leite e eventualmente nos queijos (SALES, 2015).

Outro fenômeno conhecido que envolve o teor percentual de gordura em QMA ao longo da maturação, é a incidência de lipólise decorrente da atividade microbiana nos queijos (MARTINS *et al.*, 2015). Embora alguns micro-organismos normalmente presentes no QMA se notabilizem por utilizar a gordura em sua atividade metabólica, como principalmente leveduras e algumas bactérias, a lipólise ocorre lentamente durante o processo de maturação. Isto se deve à dificuldade dos micro-organismos em hidrolisar a gordura, liberando os ácidos graxos livres (MESSIAS *et al.*, 2011).

5.5.13 Teor de cloretos

Os valores de teor de cloretos dos queijos pesquisados não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) entre os períodos analisados (tabela 24).

Tabela 24. Valores médios e coeficientes de variação (CV) do teor (%) de cloretos em queijo Minas artesanal da Serra da Canastra-MG durante 22 dias de maturação em estação chuvosa

Dias de maturação	Teor de cloretos	
	Média (%)	CV (%)
1	1,0 ^A	35
5	0,9 ^A	27
9	1,0 ^A	35
14	1,0 ^A	34
18	1,1 ^A	38
22	1,1 ^A	40

Médias seguidas por letras distintas sobrescritas, maiúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste SNK ($p \leq 0,05$).

Observa-se que, mesmo se tratando de uma variável físico-química, que normalmente apresenta baixos coeficientes de variação, o teor de cloretos nos queijos pesquisados oscilou

consideravelmente. Figueiredo (2018) observou que dentre as variáveis físico-químicas estudadas no QMA de propriedades cadastradas de Serra do Salitre-MG, o teor de cloretos apresentou CV mais elevado. Esta alta variação está relacionada ao caráter artesanal do QMA, pois cada produtor imprime uma característica sensorial à sua maneira, sem um padrão definido de sal a ser obedecido por todos. Assim, cada produtor utiliza do seu saber para determinar a quantidade de sal a ser utilizada na elaboração, respeitando grande número de variáveis que norteiam sua decisão, como época do ano e a temperatura ambiente, as características dos últimos queijos elaborados, a quantidade de pingo utilizada, dentre outras variáveis. Outros pesquisadores também pesquisaram teor de cloretos em QMA da Serra da Canastra. Entretanto, foram observadas diferenças estatísticas ($p>0,05$), com aumento do teor observado ao longo da maturação (FERRAZ, 2016; DORES *et al.*, 2013).

Valente (2022) discorreu que o principal representante dos cloretos presentes no QMA é justamente o sal de cozinha (NaCl), utilizado na salga dos produtos e que apresenta característica de fácil solubilização em água, facilitando as perdas decorrentes da dessoragem dos queijos. Por outro lado, a evaporação, típica da maturação após os primeiros dias, acarreta em aumento da concentração dos resíduos minerais presentes no QMA. Assim, possivelmente a incidência destes dois fenômenos durante o período de 22 dias de maturação estudados neste ensaio foram determinantes para a não detecção de diferenças estatísticas ($p>0,05$), nos percentuais de cloretos encontrados.

O percentual de cloretos presente em alimentos como o QMA possui relação direta com os micro-organismos presentes no alimento. Sabe-se que o sal de cozinha apresenta elevada solubilidade em água, e deste modo, pode exercer elevada pressão osmótica nas membranas celulares de micro-organismos (JAY, 2012). De modo geral, concentrações de NaCl em água entre 0,85% a 0,90% são isotônicos para a maioria dos seres vivos não marinhos (JAY, 2012). Assim, diante destes conceitos, o sal de cozinha é um dos mais antigos elementos utilizados para a conservação de alimentos, e embora ele não tenha esta finalidade em QMA, sabe-se que sua utilização pode influenciar na diversidade de micro-organismos vivos presentes no queijo ao longo do período de maturação (FIGUEIREDO, 2018).

5.5.14 Acidez

A acidez observada em queijos de um dia não foi diferente da acidez observada em queijos de 22 dias de maturação (tabela 25).

Tabela 25. Valores médios e coeficientes de variação (CV) da acidez titulável de queijo Minas artesanal da Serra da Canastra-MG durante 22 dias de maturação em estação chuvosa

Dias de maturação	Acidez	
	Média (% de ácido láctico)	CV (%)
1	0,52 ^{AB}	19
5	0,53 ^{AB}	26
9	0,45 ^B	33
14	0,53 ^{AB}	22
18	0,61 ^A	31
22	0,61 ^A	21

Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste SNK ($p\leq 0,05$).

Embora normalmente se observe aumento da acidez titulável ao longo do período de maturação, em decorrência da rápida utilização da lactose disponível pela microbiota dos queijos, com consequente produção de ácido láctico, alguns autores também não detectaram diferenças estatísticas ($p > 0,05$) nos valores de acidez titulável ao longo da maturação de QMA (MARTINS *et al.*, 2015; OLIVEIRA, 2014).

Os fatores que atuam impedindo o aumento do percentual de ácido láctico nos queijos ao longo da maturação, são a utilização desse ácido como fonte energética para alguns micro-organismos, como os bolores e leveduras, por exemplo (ROCHA, 2021) e o carreamento de ácido láctico no soro que escorre dos queijos nos primeiros dias de maturação.

5.5.15 pH

Os valores de pH do QMA não apresentaram distribuição paramétrica, e se distribuíram ao longo do período de maturação estudado sem apresentar uma tendência definida de queda ou elevação (tabela 26).

Tabela 26. Valores mínimos, máximos, medianas e coeficientes de variação (CV) do pH de queijo Minas artesanal da Serra da Canastra-MG durante 22 dias de maturação em estação chuvosa

Dias de maturação	pH			
	Mediana	CV (%)	Mínimo	Máximo
1	5,15 ^{AB}	1	4,97	5,25
5	4,73 ^A	7	4,37	5,60
9	5,25 ^{BC}	2	5,06	5,44
14	5,39 ^E	2	5,08	5,59
18	5,27 ^{CD}	3	4,87	5,49
22	5,43 ^E	2	5,06	5,54

Médias seguidas por letras distintas sobrescritas, maiúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste de Friedman ($p \leq 0,05$).

O resultado observado aos 22 dias de maturação foi maior ($p \leq 0,05$) que o observado no primeiro dia. Do mesmo modo, assim como observado por Ferraz (2016) o pH encontrado no 14º dia de maturação de QMA da Serra da Canastra foi maior que os valores observados em períodos inferiores de maturação. A formação de aminas de caráter básico, em decorrência da proteólise naturalmente observada ao longo da maturação e o consumo do ácido láctico como fonte de energia a alguns grupos microbianos, podem explicar o maior pH encontrado aos 22 dias de maturação.

O pH é uma medida logarítmica de acidez; portanto, tende a oscilar menos que medidas decimais. Deste modo, nem sempre é possível detectar diferenças ($p \leq 0,05$) de pH em QMA ao longo da maturação, conforme observado por Valente (2022) e por Oliveira (2014) em 60 dias de maturação do QMA no Campo das Vertentes.

Figueiredo (2018) encontrou diminuição do pH no QMA de Serra do Salitre, ao longo dos 63 dias de maturação. Por sua vez, Martins e colaboradores (2015) e Dores e colaboradores (2013) apresentaram tendência de elevação do pH ao longo da maturação em QMA das regiões do Serro e da Serra da Canastra, respectivamente.

5.5.16 Detecção de amido e nitrato na massa dos queijos

Não houve detecção de presença de amido ou de nitrito em nenhum queijo pesquisado. Este resultado vai de encontro ao estabelecido na legislação estadual para a inspeção de queijo Minas artesanal (MINAS GERAIS, 2021), e vai de encontro também ao modo de elaboração reconhecido como patrimônio histórico imaterial do Brasil (IPHAN, 2008). A adição de amido à massa de queijos é empregada em fraudes para se obter maiores rendimentos econômicos na comercialização do queijo Minas artesanal. E a adição de nitrito, popularmente chamado de “sal de cura” entre os produtores é um aditivo proibido na elaboração do QMA e que é utilizado em fraudes devido à sua ação antimicrobiana.

5.6 Integração pesquisa - extensão rural

Os resultados encontrados nesta pesquisa foram apresentados individualmente e coletivamente aos produtores que participaram da pesquisa e à sociedade, de modo geral, na região da Serra da Canastra-MG. Os resultados individuais foram apresentados exclusivamente aos produtores participantes da pesquisa, de modo a preservar o caráter sigiloso das informações e resultados particulares. Este encontro individual é uma forma de retornar ao produtor participante da pesquisa os benefícios gerados por ela. Assim, o pesquisador discutiu todos os resultados encontrados para os queijos e demais amostras, esclarecendo os resultados mais importantes, possíveis riscos à saúde do consumidor, eventualmente detectados, além de formas de se evitar ou reverter este resultado indesejado. Além disso, foi fornecido um laudo individual com todos os resultados do produtor, uma vez que esta é uma demanda dos produtores que por sua vez podem utilizar o laudo como análise não oficial de rotina junto ao órgão oficial de inspeção.

Os resultados coletivos foram apresentados em evento gratuito e aberto ao público no município de São Roque de Minas. Nesta etapa, os pesquisadores apresentaram à sociedade os benefícios e conhecimentos gerados pela pesquisa a toda coletividade interessada. Esta etapa teve ainda mais importância devido aos investimentos públicos cruciais para a execução desta pesquisa.

Por fim, relata-se ainda que foi gerado um Relatório Técnico de Resultados Parciais, em 2019, entregue à Associação dos Produtores de Queijo Canastra – APROCAN para subsidiar o pleito de redução do período mínimo de maturação exigido ao QMA da região da Serra da Canastra-MG. De posse deste relatório, a APROCAN solicitou oficialmente ao poder público estadual a revisão do período mínimo de maturação, e após análises da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – Epamig, da Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento – Seapa, e do Instituto Mineiro de Agropecuária – IMA, publicou-se a Portaria IMA nº2051 de 07 de abril de 20221, definindo o período de 14 dias como o mínimo necessário à comercialização do QMA da região da Serra da Canastra (MINAS GERAIS, 2021b).

5.7 Período mínimo de maturação para adequação à legislação vigente

Conforme apresentado nesta pesquisa, com 14 dias de maturação as propriedades que tiveram resultados sugestivos de recontaminação não conseguiram se adequar aos limites máximos estabelecidos para parâmetros físico-químicos e microbiológicos legalmente estabelecidos para a inspeção de queijo Minas artesanal. De maneira similar, Campos (2019) determinou em estudo

longitudinal, que todos os produtores com habilitação sanitária na região da Serra da Canastra-MG não violavam os limites máximos para parâmetros microbiológicos a partir do 14º dia de maturação.

A tabela 27 apresenta o percentual de propriedades que neste estudo apresentaram conformidade com os limites máximos estabelecidos em legislação.

Tabela 27. Percentual de amostras de queijo Minas artesanal da Serra da Canastra (n=16) em conformidade com a Portaria IMA nº2033/2021 e Portaria MAPA nº 146/1996 ao longo de 22 dias de maturação em estação chuvosa.

Parâmetro	Dias de maturação					
	1	5	9	14	18	22
Umidade	0%	62,5%	81,25%	100%	100%	100%
Coliformes totais	18,75%	43,75%	56,25%	68,75%	75%	87,5%
Coliformes a 45 °C	25%	37,5%	37,5%	62,5%	68,75	87,5%
<i>Staphylococcus</i> coagulase positivo	18,75%	31,25%	81,25%	87,5%	93,75%	93,75%
<i>Salmonella</i> spp.	100%	100%	100%	100%	100%	100%
<i>Listeria monocytogenes</i>	100%	100%	100%	100%	100%	100%

Em nenhum período de maturação estudado encontrou-se 100% das propriedades de acordo com todos os limites de parâmetros microbiológicos e físico-químicos. Esta constatação reflete a influência dos casos sugestivos de recontaminação criando viés nos resultados em que se poderia estudar com nitidez os efeitos da maturação sobre as características microbiológicas e físico-químicas do QMA.

Embora se possa determinar que, sem recontaminações, os QMAs elaborados em queijarias com habilitação sanitária e em fase de habilitação da região da Serra da Canastra-MG respeitem com segurança todos os limites máximos estabelecidos em legislação aos 14 dias de maturação, deve-se ser crítico aos limites estabelecidos. Os limites máximos de contagens microbiológicas estabelecidos para estes queijos são questionáveis. ECP, por exemplo, pode se tornar indetectável em muitos queijos de 14 dias de maturação; entretanto, se em algum momento anterior do processo de elaboração as contagens foram elevadas e em condições favoráveis, é possível a ocorrência de produção de toxinas estafilocócicas que se mantenham viáveis após os 14 dias de maturação (SALES, 2015). De forma similar, as contagens máximas de coliformes totais e termotolerantes são apenas um indicativo de higiene apropriado para mensurar a qualidade de queijos industriais. As metodologias de contagens de coliformes totais e termotolerantes não distinguem a detecção de amostras potencialmente patogênicas e amostras inócuas ou quem sabe potencialmente benéficas à saúde do consumidor. Assim, deve-se considerar que é possível encontrar queijos que extrapolam todos os limites máximos previstos em legislação e não causam nenhum dano à saúde do consumidor, como também queijos que não extrapolam estes limites; porém, possuem toxinas ou contaminação por micro-organismo potencialmente patogênico.

Assim, ao se associar esta discussão aos resultados positivos para presença de *Salmonella* spp. que não se confirmaram nas metodologias proteômicas de identificação microbiana, nesta

pesquisa e em outras similares (ROCHA, 2021), pode-se determinar a urgência de se modernizar as metodologias laboratoriais oficiais empregadas na inspeção de queijos artesanais.

6. CONCLUSÕES

A maturação do QMA da Serra da Canastra-MG foi eficiente em reduzir e, até mesmo, tornar indetectáveis, por metodologia de cultivo, grupos microbianos de interesse para a inspeção de produtos de origem animal. Os queijos apresentam elevadas contagens de bactérias ácido-láticas e bolores e leveduras ao longo dos 22 dias de maturação. Não foi detectada presença de *Listeria monocytogenes* no leite, pingos e queijos analisados. *Salmonella* spp. foi detectada em uma amostra de leite e dois queijos de um e cinco dias de maturação por metodologia de cultivo baseada em reações bioquímicas e indicadores colorimétricos; entretanto, as detecções foram invalidadas por meio de identificação proteômica das colônias detectadas. Detectou-se presença de *Bacillus cereus* em dois queijos, um de cinco e outro de 14 dias de maturação. No início da maturação observou-se predominância de BALs iniciadoras, especialmente *Lactococcus lactis* e bactérias do gênero *Streptococcus* spp. Em nenhum dos períodos de maturação estudados, observou-se todos os queijos respeitando todos os limites máximos de padrões físico-químicos e microbiológicos estabelecidos em legislações aplicadas à inspeção de produtos de origem animal. Cinco queijarias apresentaram ao menos um tipo de recontaminação nos queijos ao longo do período de maturação pesquisado. Para as demais propriedades, 14 dias de maturação foram adequados para manter os queijos em conformidade com a legislação.

Não se pode excluir a possibilidade de que os QMA pesquisados de propriedades habilitadas de Serra da Canastra-MG, maturados por período inferior e até mesmo superior a 14 dias, e que não atenderam aos parâmetros legislados sejam considerados alimentos inócuos, sendo admitida a possibilidade de serem alimentos saudáveis e de qualidade.

Não se pode também excluir a possibilidade de que queijos maturados por 14 dias ou mais e que atenderam aos limites impostos em legislação, sejam portadores de micro-organismos patogênicos ou de toxinas pré-formadas, sendo alimentos capazes de ocasionar quadros patológicos no consumidor e, portanto, impróprios ao consumo.

Em geral a água, o soro-fermento e o leite cru apresentaram qualidade microbiológica e físico-química desejável, entretanto dez queijarias (62,5%) não atenderam a legislação que estabelece critérios de qualidade para a água utilizada nas queijarias no que se refere ao teor de cloro residual livre. Em adição, uma amostra de leite apresentou contaminação por resíduo antimicrobiano.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACURCIO, L. B.; BASTOS, R. W.; SANDES, S. H. C.; GUIMARÃES, A. A. A.; ALVES, C. G.; REIS, D. C.; WUYTS, S., NUNES, A. C.; CASSALI, G. D.; LEBEER, S.; SOUZA, M. R.; NICOLI, J. R. Protective effects of milk fermented by *Lactobacillus plantarum* B7 from Brazilian artisanal cheese on a *Salmonella enterica* serovar Typhimurium infection in BALB/c mice. *Journal of Functional Foods*, v. 33, p. 436-445, 2017a.

ACURCIO, L. B.; SANDES, S. H. C.; BASTOS, R. W.; SANT'ANNA, F. M.; PEDROSO, S. H. S. P.; REIS, D. C.; NUNES, A. C.; CASSALI, G. D.; SOUZA, M. R.; NICOLI, J. R. Milk fermented by *Lactobacillus* species from Brazilian artisanal cheese protect germ-free-mice against *Salmonella* Typhimurium infection. *Beneficial Microbes*, v. 8, n. 4, p. 579-588, 2017b.

ALTEKRUSE, S. F., TIMBO, B. B., MOWBRAY, J. C., BEAN, N. H., & POTTER, M. E. Cheese-associated outbreaks of human illness in the United States, 1973 to 1992: sanitary manufacturing practices protect consumers. *Journal of food protection*, v. 61, 1405-1407. 1998.

ANDRADE, C. R. G., SOUZA, M. R., PENNA, C. F. A. M., ACURCIO, L. B., SANT'ANNA, F. M., CASTRO, R. D., & OLIVEIRA, D. L. S. Propriedades probióticas in vitro de *Lactobacillus* spp. isolados de queijos minas artesanais da Serra da Canastra - MG. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 66, n. 5, p. 1592-1600, 2014.

AOAC. International. *Official methods of analysis of AOAC*. 16 ed. Arlington, VA: AOAC International, 1995.

AOAC. International. *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists: food composition: additives: natural contaminants*. 15th ed. Arlington: Association of official analytical chemists, 1990. v. 2, p. 640-641.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 21a ed. Washington, DC. 2005.

ATHERTON, H.V.; NEWLANDER, J.A. Acidity of milk and its products. In. *Chemistry and testing of dairy products*. 4th ed. Westport. 1977

BACHMANN, H. P., & SPAHR, U. The fate of potentially pathogenic bacteria in Swiss hard and semihard cheeses made from raw milk. *Journal of Dairy Science*, 78(3), 476-483. 1995.

BAITER, S., BENIN, A., PINTO, S. W. L., TEIXEIRA, L. M., ALVIM, G. G., LUNA, E., SCHUCHAT, A. Epidemic nephritis in Nova Serrana, Brazil. *The Lancet*, v. 355(9217), 1776-1780. 2000.

BARANDIKA, J. F., ALVAREZ-ALONSO, R., JADO, I., HURTADO, A., & GARCÍA-PÉREZ, A. L. Viable *Coxiella burnetii* in hard cheeses made with unpasteurized milk. *International journal of food microbiology*, V.303, 42-45. 2019.

BENKERROUM, N. Mycotoxins in dairy products: a review. *International dairy journal*, v. 62, p. 63-75. 2016

BORELLI, B. M., LACERDA, I. C. A., BRANDÃO, L. R., VIANNA, C. R., FERREIRA, M. C., GOMES, F. C. O. *et al.* Identification of *Staphylococcus* spp. isolated during the ripening process of a traditional Minas cheese. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 63, n. 2, p. 481–487, 2011.

BORELLI B.M., FERREIRA E.G., LACERDA I.C.A. Yeast populations associated with the artisanal cheese produced in the region of Serra da Canastra, Brazil. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22:1115–1119. Doi:10.1007/s11274-006-9151- 2006

BRASIL. Ministério da Agricultura, pecuária e Abastecimento. Portaria n° 146, de 7 de março de 1996. Aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos produtos lácteos. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 11 mar. 1996. Seção 1, p. 3977-3986.1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Resolução n° 7, de 28 de novembro de 2000. Critérios de funcionamento e de controle da produção de queijarias, para seu relacionamento junto ao serviço de inspeção federal. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 02 jan. 2001. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/>>. Acessado em: 10 dez. 2017. 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Instrução Normativa n° 51, de 20 de setembro de 2002*. Aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade, qualidade, coleta e transporte de leite. *Diário Oficial da União*, Brasília, Seção I, p.13-22, 21 set. de 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa n° 62, de 26 de agosto de 2003. Métodos Analíticos Oficiais Microbiológicos para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de origem Animal e Água. *Diário Oficial da União Federativa do Brasil*, 18 de setembro de 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa no68, de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios

Nacionais Agropecuários. *Diário Oficial da União Federativa do Brasil*, 14 de dezembro de 2006, seção 1, p.8-30, 2006a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 57, 15 dez. 2011. Critérios adicionais para elaboração de queijos artesanais. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 16 Dez. 2011. Seção 1, p 23.

BRASIL. Ministério Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. *Diário Oficial da União*, Brasília. 2011.

BRASIL. Ministério Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 07, de 03 de maio de 2016. *Diário Oficial da União*, de 04 de maio de 2016 nº 84, Seção 1, pág. 11. Brasília. 2016.

BRASIL. Decreto nº 11.099, de 21 de junho de 2022. Regulamenta o art. 10-A da Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 13.860, de 18 de julho de 2019, para dispor sobre a elaboração e a comercialização de produtos alimentícios de origem animal produzidos de forma artesanal. *Diário Oficial da União*, 22 de Junho de 2022. Edição: 116 | Seção: 1 | Página: 5. Brasília. 2022.

BRITISH STANDARDS. Methods for chemical analysis of cheese. Determination of pH value. BS 770: Part 5. British Standards Institute, London, UK. 1976

BRUMANO, É. C. D. C. Impacto do tipo de fermento endógeno na qualidade e tempo de maturação de queijo Minas artesanal produzido em propriedades cadastradas pelo IMA (Instituto Mineiro de Agropecuária) na região do Serro–MG. Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*. Viçosa. 2016

BRUNO, L. M.; CARVALHO, J. D. G. *Microbiota láctica de queijos artesanais*. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2009. 30p.

CAMARGOS, D. Premiado na França, queijo mineiro tem vida clandestina no resto do país. *Jornal Folha de São Paulo*. São Paulo. 2017. Disponível em: <http://www1.folha.uol.com.br/mercado/2017/07/1903561-premiado-na-franca-queijo-mineiro-tem-vida-clandestina-no-resto-do-pais.shtml>. Acesso em 12 de outubro de 2017

CARMO, L. S.; DIAS, R. S.; LINARDI, V. R. et al. Food poisoning due to enterotoxigenic strains of *Staphylococcus* present in Minas cheese and raw milk in Brazil. *Food Microbiology*., v. 19, n. 1, p. 9-14, 2002.

CASTRO, R. D. *Queijo Minas artesanal fresco de produtores não cadastrados da mesoregião de campo das vertentes – MG: qualidade microbiológica e físico – química em diferentes épocas do ano*. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 2015. 126p.

CASTRO, R. D., OLIVEIRA, L. G., SANT'ANNA, F. M., LUIZ, L. M. P., SANDES, S. H. C., SILVA, C. I. F., A.M. SILVA, A.C. NUNES, PENNA, C.F.A.M., SOUZA, M. R. Lactic acid microbiota identification in water, raw milk, endogenous starter culture, and fresh Minas artisanal

cheese from the Campo das Vertentes region of Brazil during the dry and rainy seasons. *Journal of Dairy Science*, vol. 99, n.8, p. 6086–6096. 2016.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Salmonella typhimurium infection associated with raw milk and cheese consumption--Pennsylvania, 2007. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report*, 56(44), 1161. 2007.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC et al. Campylobacter jejuni infection associated with unpasteurized milk and cheese--Kansas, 2007. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report*, v. 57, n. 51, p. 1377, 2009.

CERQUEIRA, M., Paiva, C. A. V., LEITE, M., FONSECA, L., SOUZA, M., & PENNA, C. *Impacto da qualidade da matéria-prima na indústria de laticínios*. Disponível em: <http://multimedia.3m.com/mws/media/6859110/impacto-qualidade-materia-prima.pdf>. 2012.

CERQUEIRA, M. M. O. P., SOUZA, F. N., CUNHA, A. F., PICININ, L. C. A., LEITE, M. O., PENNA, C. F. A. SOUZA, M. R., FONSECA, L. M. Detection of antimicrobial and anthelmintic residues in bulk tank milk from four different mesoregions of Minas Gerais State-Brazil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v66(2), 621-625. 2014.

CEUGNIEZ, A., TAMINIAU, B., COUCHENEY, F., JACQUES, P., DELCENSERIE, V., DAUBE, G., & DRIDER, D. Use of a metagenetic approach to monitor the bacterial microbiota of “Tomme d'Orchies” cheese during the ripening process. *International journal of food microbiology*, 247, 65-69. 2017.

CODY, S. H., ABBOTT, S. L., MARFIN, A. A., SCHULZ, B., WAGNER, P., ROBBINS, K., VUGIA, D. J. Two outbreaks of multidrug-resistant *Salmonella* serotype typhimurium dt104 infections linked to raw-milk cheese in northern California. *Jama*, v281(19), 1805-1810. 1999.

COELHO, M. A. Z., AMARAL, P. F. F., & BELO, I. *Yarrowia lipolytica*: an industrial workhorse. *Formatex Research Center*. 2010

COSTA, H. H. S. *et al.* Potencial probiótico in vitro de bactérias ácido-láticas isoladas de queijo-de-minas artesanal da Serra da Canastra, MG. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 65, n. 6, p. 1858–1866, 2013.

CURRY, A. The milk revolution. *Nature*, 500(7460), 20. 2013.

DA COSTA, M. A., PINTO-FERREIRA, F., DE ALMEIDA, R. P. A., MARTINS, F. D. C., PIRES, A. L., MAREZE, M., NAVARRO, I. T. Artisan fresh cheese from raw cow's milk as a possible route of transmission in a toxoplasmosis outbreak, in Brazil. *Zoonoses and public health*, 67(2), 122-129. 2020.

DA SILVA MACEDO, L. C., & DE ARIMATÉIA FREITAS, J. Ocorrência de resíduos de antimicrobianos em leite. *Revista de Ciências Agrárias Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, v.52(1), 147-157. 2009

DE SOUZA, T. P., EVANGELISTA, S. R., PASSAMANI, F. R. F., BERTECHINI, R., DE ABREU, L. R., BATISTA, L. R. Mycobiota of Minas artisanal cheese: Safety and quality. *International Dairy Journal*, 120, 105085. 2021

DIAS, J. C. *O Leite na Paulicéia*. Calandra Editorial. São Paulo, 2004. 148 p.

DIXON, P. European systems for the safe production of raw milk cheese. *Relatório Vermont Cheese Council*, 28. 2000.

DOMINGUEZ, M., JOURDAN-DA SILVA, N., VAILLANT, V., PIHIER, N., KERMIN, C., WEILL, F. X., DE VALK, H. Outbreak of *Salmonella enterica* serotype montevideo infections in France linked to consumption of cheese made from raw milk. *Foodborne pathogens and disease*, V.6(1), 121-128. 2009.

DORES, M. T. DAS; NOBREGA, J. E. DA; FERREIRA, C. L. DE L. F. Room temperature aging to guarantee microbiological safety of Brazilian artisan Canastra cheese. *Food Science and Technology (Campinas)*, v. 33, n. 1, p. 180–185, 2013.

DUAN, J., CHENG, Z., BI, J., XU, Y. Residue behavior of organochlorine pesticides during the production process of yogurt and cheese. *Food chemistry*, 245, 119-124. 2018.

DUCH, A. A. S., SILVA, M. R., DE ASSIS LAGE, R. T. P., MENEZES, L. D. M., RIBEIRO, J. B., DE SOUZA, G. N., DA COSTA, R. R. Ocorrência de Brucella em queijo Minas artesanal da microrregião do Serro: um importante problema de saúde pública. *Embrapa Gado de Leite-Artigo em periódico indexado (ALICE)*. 2018

EBRAHIM, A., & MOHAMMADI, K., E. Evaluation of Aflatoxin M1 Residues in Traditional Iranian Cheese (Koupeh Cheese) samples by ELISA. *Medical Laboratory Journal*, 12(3), 1-5. 2018.

EL-SHAROUD, W.M., BELLOCH, C., PERIS, D., QUEROL, A. Molecular identification of yeasts 654 associated with traditional egyptian dairy products. *Journal of Food Science*. 74. 2009.

EMATER/MG. Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Minas Gerais. *Perfil da Agricultura Familiar de Minas Gerais*. Belo Horizonte, 78p. 2014.

ESPIE, E., VAILLANT, V., MARIANI-KURKDJIAN, P., GRIMONT, F., MARTIN-SCHALLER, R., DE VALK, H., & VERNZOY-ROZAND, C. *Escherichia coli* o157 outbreak associated with fresh unpasteurized goats' cheese. *Epidemiology & Infection*, 134(1), 143-146. 2006.

FAO/WHO. Food and Agricultural Organization/World Health Organization. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. London: FAO/WHO, 11p. 2002.

FARIA, L., S. prevalência e fatores de risco para *Coxiella burnetii* em queijos minas artesanais da microrregião do Serro. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial a obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados. Juiz de Fora. 2017.

FERNANDES, J. Produção de queijo: origem dos coalhos. AGROTEC, Revista Técnico Científico Agrícola, n. 8, p. 101-102, 2003.

FERRAZ, W. M. *Queijo Minas artesanal da Serra da Canastra: Influência do ambiente sobre a maturação*. Dissertação apresentada ao Campus Rio Pomba, do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Rio Pomba. 2016.

FEUTRY, F.; ONECA, M.; BERTHIER, F. et al.. Biodiversity and growth dynamics of lactic acid bacteria in artisanal PDO Ossau-Iraty cheeses made from raw ewe's milk with different starters. *Food Microbiol.*, v. 29, n. 1, p. 33-42, 2012.

FIALHO, T. L., EUGÊNIO, M. H. A., SILVÉRIO, A. S. D., MELO, C. M. S., ABREU, L. R., PINTO, S. M. Evolução da Qualidade do Leite de Cooperativas da Região do Alto Paranaíba Perante a Instrução Normativa 51. *Revista Instituto Laticínios "Cândido Tostes"*. Nº 385, p.53 – 57. 2012.

FIGUEIREDO, N. C. *Leite de cabra: diagnóstico de qualidade na mesorregião da Zona da Mata Mineira e estudo da degradação do leite armazenado por sete dias em condições laboratoriais*. Dissertação apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal. UFMG. Belo Horizonte, 2017.

FIGUEIREDO, R. C. *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. 119 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

FLEET, G.H. Yeast in food and beverages: impact on products quality and safety. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 18, p. 170-175, 2007.

FONSECA, L. F. L e SANTOS, M. V. *Qualidade do leite e controle de mastite*. 1.ed. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 175p.

FONSECA, L. M.; RODRIGUES, R.; CERQUEIRA, M. M. O. P.; LEITE, M. O.; SOUZA, M. R.; PENNA, C. F. de A. M. Bulk tank milk quality in Brazil - 2007/2008. *Journal of Dairy Science*, Suppl..2, v. 92, p. 427-427, 2009.

FORSYTHE, S. J. *Microbiologia da Segurança dos Alimentos*. Artmed Editora. 2013.

GATTI, M.; BOTTARI, B.; LAZZI, C.; NEVIANI, E.; MUCCHETTI, G. Invited review: Microbial evolution in raw-milk, long-ripened cheeses produced using undefined natural whey starters. *Journal of Dairy Science*, v.97, p.573–591, 2014.

GONÇALVES, L.; RAMIREZ, M. A.; OLIVEIRA, A.F.; DOS SANTOS, D. *Tópicos de Setor Agrário e de Extensão Rural*. Editora Fepe. Belo Horizonte. 120p. 2019.

HENNART SL, FARAGHER J. Validation report of the Delvotest Delvotest SP NT DA. Performance Tested Method 011101. *Journal AOAC Int*. 2012; 95(1); 252-260. 2012.

IBGE, INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. *Censo Agropecuário 2006*. Brasília: IBGE, 2008, 775p.

IBGE, INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. *Produção Pecuária Municipal 2014*. Rio de Janeiro. Brasil. v. 42. 2014. 39 p. 2015

IBGE, INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICAS. Disponível em: <<http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?codmun=316680>> Acesso em 20 agosto 2016. 2015.

IBGE, INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICAS. Disponível em: <<http://cidades.ibge.gov.br/xtras/temas.php?lang=&codmun=316680&idtema=147&search=minas-gerais|serra-do-salitre|pecuaria-2014>> Acesso em 20 agosto 2016.

IFST, INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY. *Food safety and cheese*. Institute of Food Science and Technology. 1998.

IMA, INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Lista de produtores cadastrados no programa do Queijo Minas Artesanal - atualizada em 01/08/2018. Disponível em:

http://www.ima.mg.gov.br/material-curso-cfo-cfoc/doc_details/680-produtores-queijo-minas-artisanal-. Acesso em 17 de abril de 2018.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA, INMET. Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=estacoes/estacoesAutomaticas>. Acesso em 15 de novembro de 2017. 2017.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. *Yogurt: enumeration of characteristic microorganisms colony count technique at 37°C*. IDF Standard 117A. Brussels: IDF, 1988.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Milk: enumeration of somatic cell. IDF Standard 148A. Brussels: IDF, 1995.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Whole milk: determination of milkfat, protein and lactose content. Guidance on the operation midinfrared instruments. IDF Standard 141C. Brussels: IDF, 2000.

IPHAN- INSTITUTO DO PATRIMÔNIO HISTÓRICO E ARTÍSTICO NACIONAL. *Livro de Registro de Saberes*. Brasília, DF. 2008. v. 1, registro n.4. Disponível em: <<http://www.iphan.gov.br/bcrE/pages/folProcessoRegistroE.jsf>> Acessado em: 10 abril. 2016.

ISO 9622:2013 (IDF 141): Milk and liquid milk products. *Guidelines for the application of mid-infrared spectrometry*. 2013

ISO 11290-1. *Microbiology of the food chain -- Horizontal method for the detection and enumeration of Listeria monocytogenes and of Listeria spp.* -- Part 1: Detection method. 2017

ISO 6611. Milk and milk products -- *Enumeration of colony-forming units of yeasts and/or molds -- Colony-count technique at 25 degrees C*. 2004

ISO 6888:1. *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (Staphylococcus aureus and other species)*. 1999

ISO 6579-1. *Microbiology of the food chain -- Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella -- Part 1: Detection of Salmonella spp*. 2007.

JAY, J. M. *Modern Food Microbiology*. Springer Science & Business Media. 2012.

JAROS, P.; COGGER, N.; FRENCH, N. A systematic review of the human disease evidence associated with the consumption of raw milk and raw milk cheeses. *A report prepared for the New Zealand Food Safety Authority (NZFSA)*. 2008.

JENSEN, A.; FREDERIKSEN, W.; GERNER-SMIDT, P. Risk factors for listeriosis in Denmark, 1989–1990. *Scandinavian journal of infectious diseases*, v. 26, n. 2, p. 171-178, 1994.

JOHNSON, E. A., NELSON, J. H., JOHNSON, M. Microbiological safety of cheese made from heat-treated milk, part I. Executive summary, introduction and history. *Journal of food protection*, 53(5), 441-452. 1990.

KAMIMURA, B. A., DE FILIPPIS, F., SANT'ANA, A. S., & ERCOLINI, D. Large-scale mapping of microbial diversity in artisanal Brazilian cheeses. *Food microbiology*, 80, 40-49. 2019.

KORB A., BRAMBILLA D.K, TEIXEIRA D.C. & RODRIGUES R.M. Riscos para a saúde humana do uso de antibióticos na cadeia produtiva leiteira. *Revista Saúde Pública*, 4:21 36, 2011.

LACERDA, A. H. D. Negócios de Minas: Família, fortuna, poder e redes de sociabilidades - os Ferreira Armonde (1751-1850). *Intermeios*. Juiz de Fora. 2017

LAMAITA, H. C.; CERQUEIRA, M. M. O. P.; CARMO, L. S. et al. Contagem de *Staphylococcus* sp. e detecção de enterotoxinas estafilocócicas e toxina da síndrome do choque tóxico em amostras de leite cru refrigerado. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 57, n. 5, p. 702-709, 2005.

LICITRA, G. World wide traditional cheeses: Banned for business? *Dairy Science & Technology*, v. 90,(4), p. 357-374, 2010.

LIM, S. K., NAM, H. M., JANG, G. C., LEE, H. S., JUNG, S. C., & KIM, T. S. Transmission and Persistence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Milk, Environment, and Workers in Dairy Cattle Farms. *Foodborne Pathogens and Disease*, v. 10, n. 8, p. 731–736, 2013.

LE LOIR, Y.; BARON, F.; GAUTIER, M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genetics and Molecular Research* v. 2, n. 1, p. 63-76, 2003.

LIMA, C. D. L. C. CERQUEIRA, M.M.O.P., FERREIRA E.G. Microbiological, physical-chemical and sensory evaluation of a traditional Brazilian cheese during the ripening process. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 24, n. 11, p. 2389–2395, 2008.

MACÊDO, J.A.B. *Métodos laboratoriais de análises físico-químicas e microbiológicas*. 3. ed. Belo Horizonte: Conselho Regional de Química, 602p. 2005.

MACHADO, E. C. et al. Características físico-químicas e sensoriais do queijo Minas artesanal produzido na região do Serro, Minas Gerais. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 24, n. 4, p. 516–521, 2004.

MELO, A. C. A., & SILVA, E. D. Queijo Minas Artesanal: Patrimônio Brasileiro Proibido e Oportunidade para o Desenvolvimento do Turismo Rural em Serro/MG. *Anais do VIII Fórum Internacional de Turismo do Iguaçu*. 2014.

MARTINS, J. M. *et al.* Determining the minimum ripening time of artisanal Minas cheese, a traditional Brazilian cheese. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 46, n. 1, p. 219–230, 2015.

MARTINE, G. A trajetória da modernização agrícola: a quem beneficia? Lua Nova: *Revista de Cultura e Política*, n. 23, p. 7-37, 1991.

MARTINS, J. M. Características físico-químicas e microbiológicas durante a maturação do queijo Minas artesanal da região do Serro. p. 158, 2006. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 2006

MARKOVINOVIĆ, L., LIČINA, M. K., TEŠIĆ, V., VOJVODIĆ, D., LUCIĆ, I. V., KNIEWALD, T., KRAJINOVIĆ, L. C. An outbreak of tick-borne encephalitis associated with raw goat milk and cheese consumption, Croatia, 2015. *Infection*, 44(5), 661-665. 2016.

MELO, J.; ANDREW, P. W.; FALEIRO, M. L. *Listeria monocytogenes* in cheese and dairy environment remains a food safety challenge: The role of stress responses. *Food Research International*, v. 67, p. 75-90, 2015.

MENEZES, S. de S. M. Queijo Artesanal: Identidade, Prática Cultural e Estratégia de Reprodução Social em Países da América Latina. *Revista Geográfica de América Central*, v. 2, n. 47, 2011

MERGAREJO NETTO, M. *A geografia do queijo minas artesanal*. 2011. 420 f. Tese (Doutorado em Geografia) — Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro-SP.

MESSIAS, J. M.; DA COSTA, B. Z.; DE LIMA, V. M. G., *et al.* Lipases microbianas: Produção, propriedades e aplicações biotecnológicas. *Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas*, v. 32, n. 2, p. 213-234, 2011.

METZ, M.; SHEEHAN, J.; FENG, P. C. H. Use of indicator bacteria for monitoring sanitary quality of raw Milk cheeses-A literature review. *Food Microbiology*, London, v. 85, p. 1-11, 2020.

MEYER, S. T. O Uso de Cloro na Desinfecção de Águas, a Formação de Trihalometanos e os Riscos Potenciais à Saúde Pública. *Cad. Saúde Públ.*, v. 10, n. 1, p. 99–110, 1994. Disponível em: <<http://www.scielo.org/pdf/csp/v10n1/v10n1a11>>.

MINAS GERAIS. ASSEMBLÉIA LEGISLATIVA DO ESTADO DE MINAS GERAIS. Decreto nº 42.645, de 05 de junho de 2002. Aprova o regulamento da Lei nº 14.185, de 31/01/2002, que dispõe sobre o processo de produção de queijo Minas artesanal. *Diário do Executivo*. Minas Gerais, Belo Horizonte, 6 jun. 2002a. p. 18 col. 2. Disponível em: <<http://www.almg.gov.br>>. Acessado em: 05 dez. 2017.

MINAS GERAIS. ASSEMBLÉIA LEGISLATIVA DO ESTADO DE MINAS GERAIS. Decreto nº 44.864 de 01 de agosto de 2008. Altera o regulamento da lei nº 14.185 de 31 de janeiro de 2002, que dispõe sobre o processo de produção do queijo de minas artesanal. *Diário do Executivo*. Minas Gerais, Belo Horizonte, 2 ago. 2008. p. 1 col. 2. Disponível em: <<http://www.almg.gov.br>>. Acessado em: 07 dez. 2017.

MINAS GERAIS. ASSEMBLÉIA LEGISLATIVA DO ESTADO DE MINAS GERAIS. Lei nº 14.185, de 31 de janeiro de 2002. Dispõe sobre o processo de produção do queijo Minas artesanal e dá outras providências. *Diário do Executivo*. Minas Gerais, Belo Horizonte, 1 fev. 2002b. p. 3 col. 2. Disponível em: <<http://www.almg.gov.br>>. Acessado em: 05 dez. 2017

MINAS GERAIS. ASSEMBLÉIA LEGISLATIVA DO ESTADO DE MINAS GERAIS. Lei nº 20.549, 18 dez. 2012. Dispõe sobre a produção e a comercialização dos queijos artesanais de Minas Gerais. *Diário do Executivo*. Minas Gerais, Belo Horizonte, 19 dez. 2012. p. 1 col. 2. Disponível em: <<http://www.almg.gov.br/>>. Acessado em: 05 dez. 2017.

MINAS GERAIS. INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria n. 619 de 01 dez. 2003b. Identifica a microrregião do Cerrado. Disponível em: <http://www.ima.mg.gov.br/component/docman/doc_details/256-portaria-619> Acessado em: 05 dez. 2017.

MINAS GERAIS. INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria nº 1428, de 29 ago. 2014b. Identifica a microrregião da serra do salitre como produtora do queijo minas artesanal. Disponível em: <<http://www.ima.mg.gov.br/component/search/?searchword=Queijo+Artesanal&ordering=&searchphrase=all>> Acessado em: 05 dez. 2017.

MINAS GERAIS. ASSEMBLEIA LEGISLATIVA DO ESTADO DE MINAS GERAIS. Decreto nº 48.024, de 19 ago. 2020b. Regulamenta a Lei nº 23.157, de 18 de dezembro de 2018, que dispõe sobre a produção e a comercialização dos queijos artesanais de Minas Gerais. *Diário do Executivo*. Minas Gerais, Belo Horizonte, 20 ago. 2020. p.1 col.1. Disponível em: <<https://www.almg.gov.br/consulte/legislacao/completa/completa.html?tipo=DEC&num=48024&comp=&ano=2020>>. Acesso em: 07 fev. 2022.

MINAS GERAIS. ASSEMBLEIA LEGISLATIVA DO ESTADO DE MINAS GERAIS. Lei nº 23.157, de 18 dez. 2018a.. Dispõe sobre a produção e a comercialização dos queijos artesanais de Minas Gerais. *Diário do Executivo*. Minas Gerais, Belo Horizonte, 19 dez. 2018. p.1 col.1. Disponível em: <<https://www.almg.gov.br/consulte/legislacao/completa/completa.html?tipo=LEI&num=23157&comp=&ano=2018>>. Acesso em: 12 jan. 2022.

MINAS GERAIS. INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria nº 546 de 29 out. 2002a. Identifica a microrregião do Serro. Disponível em: <<http://www.ima.mg.gov.br/institucional/portarias>> Acesso em: 11 jan. 2022.

MINAS GERAIS. INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria nº 594 de 10 jun. 2003. Identifica a microrregião de Araxá. Disponível em: <<http://www.ima.mg.gov.br/institucional/portarias>> Acesso em: 11 jan. 2022.

MINAS GERAIS. INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria nº 694 de 17 nov. 2004. Identifica a microrregião da Canastra.

MINAS GERAIS. INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria nº 2.016 de 26 nov. 2020. Identifica a Região Serras da Ibitipoca como Produtora do Queijo Minas Artesanal e Revoga a Portaria IMA nº 1834, de 04 de julho de 2018. 2020^a.

MINAS GERAIS. INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria nº1969 de 26 de março de 2020. Dispõe sobre a produção de Queijo Minas Artesanal em queijarias e entrepostos localizados dentro de microrregiões definidas e para as demais regiões do Estado, caracterizadas ou não como produtora de Queijo Minas Artesanal. 2020b

MINAS GERAIS. INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria nº 2033, de 23 de janeiro de 2021. Dispõe sobre os parâmetros e padrões físico-químicos e microbiológicos de alimentos de origem animal e água de abastecimento. 2021.

MINAS GERAIS. INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria número 2129 de 22 de março de 2022. Identifica a região de Diamantina como produtora de queijo Minas artesanal. 2022^a.

MINAS GERAIS. INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria número 2051 de 07 de abril de 2021. Define o período de maturação do Queijo Minas Artesanal produzido nas microrregiões de Araxá, Campos das Vertentes, Canastra, Cerrado, Serra do Salitre, Serro e Triângulo Mineiro. 2022b.

MINAS GERAIS. INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria número 2141 de 19 de abril de 2022. Identifica a região de Entre Serras da Piedade ao Caraça como produtora de queijo Minas artesanal. 2022c.

MINAYO, M. D. S., MIRANDA, I., & TELHADO, R. S. Revisão sistemática sobre os efeitos dos probióticos na depressão e ansiedade: terapêutica alternativa?. *Ciência & Saúde Coletiva*, 26, 4087-4099. 2021

MIRI, S. T., DASHTI, A., MOSTAAN, S., KAZEMI, F., & BOUZARI, S. Identification of different *Escherichia coli* pathotypes in north and north-west provinces of Iran. *Iranian Journal of Microbiology*, 9(1), 33-37. 2017.

MITCHELL, G. E.; FREDERICK, I. A.; ROGERS, S. A.. The relationship between somatic cell count, composition and manufacturing properties of bulk milk 2. Cheddar cheese from farm bulk milk. *Australian Journal of Dairy Technology*, v. 41, p. 12-14, 1986.

MOREIRA, J., DE O. Resíduos de antiparasitários e agrotóxicos em leite bovino no Rio Grande do Norte. Tese (Doutorado em Ciência Animal) Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Mossoró. 2018.

NATARO, J. P.; KAPER, J. B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology* Washington, v.11, n.1, p.142-201, 1998.

NEAL, C. E., CALBERT, H. E., The use of 2, 3, 5 – triphenyltetrazolium chloride as a test for antibiotic substances in milk. *Journal of Dairy Science* v. 38, n. 6, p. 629 – 633. 1955.

NICOLAU, E. S.; KUAYE, A. Y.; MESQUITA, A. J. et al. Avaliação do potencial de produção e tipos de enterotoxinas estafilocócica encontradas em linhagens de *Staphylococcus aureus* e extratos de amostras de queijo tipo mussarela fabricado na região de Goiânia-GO. *Rev. Inst. Lat. Cândido Tostes*, v.56, p.92-101, 2001.

NOVAIS, G. T. Caracterização Climática da Mesorregião do Triângulo Mineiro / Alto Paranaíba e do entorno da Serra Da Canastra (Mg). 2011.

OLIVEIRA, D. L. S. *Staphylococcus spp. isolados de queijo artesanal da Serra da Canastra: identificação bioquímica e molecular, detecção de genes para produção de toxinas, susceptibilidade a antimicrobianos e atividade antagonista in vitro frente a Lactobacillus spp.* 2012. 47f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG. 2012.

OLIVEIRA, L. G.; SILVA, G. O.; BARBOSA, C. D.; SANT'ANNA, F. M.; CASTRO, R. D.; FIGUEIREDO, N. C.; NUNES, A. C.; LAGE, A. P.; SOUZA, M. R. Lactic acid bacteria isolated from Brazilian Minas artisanal cheeses and their *in vitro* antagonisms against *Mycobacterium bovis* BCG. *International Journal of Dairy Technology*, v.70, p.1-8, 2018.

OLIVEIRA, L. G. *Caracterização microbiológica e físico-química durante a maturação em diferentes épocas do ano de queijo minas artesanal de produtores cadastrados da mesorregião de Campo das Vertentes – MG.* 2014. 111p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

OLIVEIRA, F. A. S. *Resíduos de agrotóxicos em leite cru refrigerado: validação da ampliação do escopo de método por LC-MS/MS e análise multivariada de fatores que influenciam sua ocorrência no estado de Minas Gerais.* Tese apresentada como requisito para obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal. UFMG. Belo Horizonte. 2016. Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais

OLSVIK, Ø., WASTESON, Y., LUND, A., & HORNES, E. Pathogenic *Escherichia coli* found in food. *International Journal of Food Microbiology*, 12(1), 103-113. 1991.

ÖZOGUL, F.; HAMED, I. The importance of lactic acid bacteria for the prevention of bacterial growth and their biogenic amines formation: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Boca Raton, v. 58, n. 10, p. 1660-1670, 2018. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/313022314_The_importance_of_lactic_acid_bacteria_or_the_prevention_of_bacterial_growth_and_their_biogenic_amines_formation_A_review. Acesso em: 10 fev. 2021.

PAIVA, C. A. V. *Efeitos da produção e da Sazonalidade Sobre a qualidade do Leite Cru Refrigerado Processado em uma Indústria de Minas Gerais*. Dissertação de Mestrado em Ciência Animal, Curso de Pós-Graduação da Escola de Veterinária da UFMG. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 2010.

PAIXÃO, L. A., & DOS SANTOS CASTRO, F. F. Colonização da microbiota intestinal e sua influência na saúde do hospedeiro. *Universitas: Ciências da Saúde*, v.14(1), 85-96. 2016.

PAXSON, H. Post-pasteurian cultures: The microbiopolitics of raw-milk cheese in the United States. *Cultural Anthropology*, v. 23, (1), p. 15-47, 2008.

PEREIRA, D. Regras sanitárias constroem produtores de queijo que querem usar o nome "Canastra". 2015. Disponível em: <http://www.sertaobras.org.br/blog/2015/03/30/as-controvérsias-da-indicação-geográfica/>. Acessado em 18 de dezembro de 2017.

PERIN, L. M., SARDARO, M. L. S., NERO, L. A., NEVIANI, E., & GATTI, M. Bacterial ecology of artisanal Minas cheeses assessed by culture-dependent and-independent methods. *Food microbiology*, 65, 160-169. 2017

PEROBELLI, F. S. Determinantes do Crescimento da Pecuária de Leite em Minas Gerais: uma análise para o período de 2005 a 2014 Determinants of growth dairy cattle in Minas Gerais: an analysis for 2005 to 2014. *Reflexões Econômicas*, v. 2, n. 1, 2016.

PESSOA, G. V. A.; SILVA, E. A. M. Meios Rugai e Lisina-motilidade combinados em um só tubo para a identificação presuntiva de enterobactérias. *Rev. Inst. Adolfo Lutz.*, v. 32, p. 97-100, 1972.

PINTO, M. S. *Diagnóstico socioeconômico, cultural e avaliação dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos do queijo Minas artesanal do Serro*. 2004. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa. 2004.

PRADO, G., OLIVEIRA, M. S., PEREIRA, M. L., ABRANTES, F. M., SANTOS, L. G., & VELOSO, T. Aflatoxin M1 in samples of "minas" cheese commercialized in the city of Belo Horizonte-Minas Gerais/Brazil. *Food Science and Technology* (Campinas), 20(3), 398-400. 2000.

RANCE, P. *The French Cheese Book*. Macmillan London Limited. 1989.

RAMVI, G., V. Processamento do leite para a fabricação do queijo na indústria de laticínios camozzato ltda. SANANDUVA – RS. Disponível em: https://www.ideau.com.br/getulio/restrito/upload/revistasartigos/217_1.pdf. 2014

REMBACKEN, B. J. *et al.* Non-pathogenic *Escherichia coli* versus mesalazine for the treatment of ulcerative colitis: A randomised trial. *Lancet*, v. 354, n. 9179, p. 635–639, 1999.

RESENDE, M. F. S. *Queijo Minas Artesanal da Serra da Canastra: influência da altitude e do nível de cadastramento das queijarias nas características físico-químicas e microbiológicas*.

2010. 72p. Dissertação (Mestrado em Ciência animal). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

RESENDE, M. F. S., COSTA, H. H. S., ANDRADE, E. H. P., ACÚRCIO, L. B., DRUMMOND, A. F., CUNHA, A. F., SOUZA, M. R. Queijo de minas artesanal da Serra da Canastra: Influência da altitude das queijarias nas populações de bactérias ácido lácticas. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 63, n. 6, p. 1567–1573, 2011.

RIBEIRO, J.A. Queijos do Brasil. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, v. 14, n. 86, p. 33-34, 1959.

ROBINS-BROWNE, R. M., HOLT, K. E., INGLE, D. J., HOCKING, D. M., YANG, J., & TAUSCHEK, M. Are Escherichia coli Pathotypes Still Relevant in the Era of Whole-Genome Sequencing? *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v6. 2016

ROSA, D. L. S. O. *et al.* Detecção de genes toxigênicos, susceptibilidade antimicrobiana e antagonismo in vitro de *Staphylococcus* spp. isolados de queijos artesanais. *Vigilância Sanitária em Debate*, v. 0, n. 0, p. 37–42, 2014. Disponível em: <<http://www.visaemdebate.incqs.fiocruz.br/index.php/visaemdebate/article/view/226/196>>.

RONVEAUX, O., QUOILIN, S., VAN LOOCK, F., LHEUREUX, P., STRUELENS, M., BUTZLER, J. P. A *Campylobacter coli* foodborne outbreak in Belgium. *Acta Clínica Bélgica*, 55(6), 307-311. 2000.

RUDOLF, M., & SCHERER, S. High incidence of *Listeria monocytogenes* in European red smear cheese. *International journal of food microbiology*, 63(1-2), 91-98. 2001.

SABIONI, J. G.; HIROOKA, E. Y.; SOUZA, M. de L. R. de. Intoxicação alimentar por queijo Minas contaminado com *Staphylococcus aureus*. *Revista de Saúde Pública / Journal of Public Health*, v. 22, n.5, p. 458-461, 1988. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rsp/v22n5/10.pdf>>. Acesso em: 20 de dezembro de 2017. 1988.

SÁEZ-SÁEZ, J., WANG, G., MARELLA, E. R., SUDARSAN, S., PASTOR, M. C., BORODINA, I. Engineering the oleaginous yeast *Yarrowia lipolytica* for high-level resveratrol production. *Metabolic engineering*, 62, 51-61. 2020.

SALES, G. de A. *Caracterização microbiológica e físico-química de queijo Minas artesanal da microrregião de Araxá-MG durante a maturação em diferentes épocas do ano*. Dissertação (Mestrado em Ciência animal). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015

SALES, G. de A. *Soro-fermento de queijo Minas artesanal da canastra: característica físico-química, microbiológica e potencial probiótico de sua microbiota láctica*. Tese (Doutorado em Ciência Animal). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2019

- SALQUE, M., BOGUCKI, P. I., PYZEL, J., SOBKOWIAK-TABAKA, I., GRYGIEL, R., SZMYT, M., & EVERSLED, R. P. Earliest evidence for cheese making in the sixth millennium BC in northern Europe. *Nature*, 493(7433), 522-525. 2013.
- SANT'ANNA, F. M., ACURCIO, L. B., ALVIM, L. B., CASTRO, R. D., OLIVEIRA, L. G., SILVA, A. M., ... & SOUZA, M. R. Assessment of the probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from Minas artisanal cheese produced in the Campo das Vertentes region, Brazil. *International Journal of Dairy Technology*, 70(4), 592-601. 2017.
- SANT'ANNA, F. M.; WETZELS, S. U.; CICCIO, S. H. S. *et al.* Microbial shifts in Minas artisanal cheeses from the Serra do Salitre region of Minas Gerais, Brazil throughout ripening time. *Food Microbiol.*, v. 82, p. 349-362, 2019. *J. Dairy Vet. Sci.*, v. 6, n. 2, p.1-3, 2019.
- SANTOS, M. V.; OLIVEIRA, C.A.F.; LIMA, Y.V.R., *et al.* Remoção de células somáticas pela microfiltração não afeta a composição e a proteólise do leite. *Ciência Rural*, v. 36, n. 5, 2006.
- SANTOS, M. A. A. Characterization of artisanal minas cheese produced in the region of serra da canastra: fungal diversity and volatile compounds profile. Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Microbiologia de Alimentos e Processos Fermentativos, para a obtenção do título de Mestre. Lavras. 2021.
- SCHLEIFER FINAZZI, G.; FILIPELLO, V.; BERTOLETTI, I. *et al.* Foodborne outbreak of gastroenteritis caused by Staphylococcal enterotoxin in Northern Italy. *Eur. J. Public Health*, v. 28, n. suppl_4, p. cky218. 124, 2018.
- SCHNEIDER, S. *A Pluriatividade na Agricultura Familiar*. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2003. 556p.
- SCHMID, M., PRESI, P., SCHORER, M., BERGER, T., & BREIDENBACH, E. *Risk factors involved in the contamination of Swiss cheeses by Listeria monocytogenes and coagulase-positive staphylococci*. 2016.
- SILVA, B. C., SANDES, S. H. C., ALVIM, L. B., BOMFIM, M. R. Q., NICOLI, J. R., NEUMANN, E., & NUNES, A. C. Selection of a candidate probiotic strain of *Pediococcus pentosaceus* from the faecal microbiota of horses by in vitro testing and health claims in a mouse model of Salmonella infection. *Journal of Applied Microbiology*, 122(1), 225-238. 2017.
- SILVA, J. G.; CASTRO, R. D.; SANT'ANNA, F. M.; BARQUETE, R. M.; OLIVEIRA, L. G.; ACURCIO, L. B.; LUIZ, L. M. P.; SALES, G. A.; NICOLI, J. R.; SOUZA, M. R. *In vitro* assessment of the probiotic potential of lactobacilli isolated from Minas artisanal cheese produced in the Araxá region, Minas Gerais state, Brazil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.71, p.647 - 657, 2019.

SILVA, M. R.; ROCHA, B. B.; SOUZA, G. N. de; FARIA, L. S. de; CASTRO, K. N. de C.; MOREIRA, M. A. S. Ocorrência de *Mycobacterium bovis* em queijo Coalho na região de Parnaíba, Piauí Brasil. In: *Congresso internacional do leite, 12.; workshop de políticas públicas, 12.; simpósio de sustentabilidade da atividade leiteira, 13.*, 2013, Porto Velho. Anais... Brasília, DF: Embrapa, 2013.

SILVA, N., JUNQUEIRA, V. C., SILVEIRA, N. F., TANIWAKI, M. H., SANTOS, R. F., GOMES, R. A., & OKAZAKI, M. *Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos*. São Paulo: Varela. 1997

SIMEÃO DO CARMO, L., DIAS, R. S., LINARDI, V. R., JOSÉ DE SENA, M., APARECIDA DOS SANTOS, D., EDUARDO DE FARIA, M., HENEINE, L. G. Food poisoning due to enterotoxigenic strains of *Staphylococcus* present in Minas cheese and raw milk in Brazil. *Food Microbiology*, v.19(1), 9–14. 2002.

SOBRAL, D., COSTA, R. G. B., DE PAULA, J. C. J., TEODORO, V. A. M., MOREIRA, G. D. M. M., & PINTO, M. S. Principais defeitos em queijo Minas artesanal: uma revisão. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, 72(2), 108-120. 2017.

SPERAT-CZAR, A. Eric e Sophie, o Etivaz feito em família. 2012. Disponível em: www.socheese.fr/rencontres/article/eric-et-sophie-l-etivaz-en-duo?lang=pt. Acessado em 18 de dezembro de 2017.

STAHNKE, L. H. Aroma components from dried sausages fermented with *Staphylococcus xylosum*. *Meat science*, 38(1), 39-53. 1994

STEELE, J., BROADBENT, J., KOK, J. Perspectives on the contribution of lactic acid bacteria to cheese flavor development. *Current Opinion in Biotechnology*. 24, 135-141. 2013

STELLA, A. E. Fatores de virulência em isolados de *Escherichia coli* provenientes de amostras de água, leite e fezes de bovinos leiteiros da região de Ribeirão Preto-SP, Brasil. Tese de doutorado. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP. Botucatu-SP. 2009

STRASSBURGER, A. H., CAYE, V. A. H., COSTELLA, M. F., DALCANTON, F. Análise da variação da qualidade microbiológica do leite cru refrigerado: uma revisão sistemática de literatura. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, 74(1), 60-72. 2019.

STÜRMER, E. S., CASASOLA, S., GALL, M. C., & GALL, M. C. A importância dos probióticos na microbiota intestinal humana. *Revista Brasileira de Nutrição Clínica*, 27(4), 264-72. 2012

SUIÇA. Hygieneverordnung. Ordinanza del DFI del 23 novembre 2005 sui requisiti igienici (ORI). Disponível em: <https://www.admin.ch/opc/it/classified-compilation/20143394/index.html>. Acesso em 21/12/2019. 2005.

UNIÃO EUROPEIA. Regulamento (CE) n. o 853/2004 do Parlamento Europeu e do conselho de 29 de Abril de 2004 que estabelece regras específicas de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios de origem animal. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:02004R0853-20190726&qid=1576674462480&from=PT>. Acesso em: 20/02/2020. 2004.

UNIÃO EUROPEIA. Regulamento (CE) N. o 2073/2005 da comissão de 15 de Novembro de 2005, relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:02005R2073-20190228&from=PT>. Acessado em 20/02/2020. 2005.

TAHAMTAN, Y.; GOLESTAN, F.; MOAZAMIAN, E. Evaluation of Colicin Effect on the Induction of Treated Mice in Prevention of Infection Caused by Escherichia coli K99. *International Journal of Enteric Pathogens*, v. 4, n. 4, p. 28–32, 2016. Disponível em: <<http://enterpathog.abzums.ac.ir/FullHtml/ijep-20161017102942>>.

TANČIN, V.; MIKLÁŠ, Š.; MAČUHOVÁ, L. Possible physiological and environmental factors affecting milk production and udder health of dairy cows: a review. *Slovak J. Anim. Sci.*, v. 51, n. 1, p. 32-40, 2018.

TEIXEIRA, L. V.; FONSECA, L. M. Perfil físico-químico do soro de queijos mozzarella e minas-padrão produzidos em várias regiões do estado de Minas Gerais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 60, n. 1, p. 243–250, 2008.No Title. 2000.

UKENA, S. N.; SINGH, A.; DRINGENBERG, U.; ENGELHARDT, R.; SEIDLER, U.; HANSEN, W.; SUERBAUM, S. (2007). Probiotic Escherichia coli Nissle 1917 inhibits leaky gut by enhancing mucosal integrity. *PloS one*, 2(12), e1308. 2007

UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS, UFLA. Avaliação da diversidade de fungos filamentosos em queijo artesanal maturado da Serra da Canastra, municípios de Piumhi e São Roque de Minas. Lavras. 2017. 13p.

VARGAS, G. Discurso proferido pelo então presidente Getúlio Vargas durante visita à Porto Alegre em 12 de novembro de 1940. Biblioteca do Senado. 1951.

VALENTE, G. L. C.; ACURCIO, L. B.; FIGUEIREDO, R.C.; SANT'ANNA, F. M.; BRITO, R. F.; SILVA, A. M.; SOUZA, M. R.; PENNA, C. F. A. M. Effect of Storage on Physico-Chemical,

Microbiological and Sensory Characteristics of Goat Milk Fermented by *Lactobacillus* Strains Isolated from Minas Artisanal Cheeses. *International Journal of Food Studies* v10 398-410. 2021

VALENTE, G. L. C. Caracterização microbiológica e físico-química de água, leite cru, soro-fermento, swabs de superfícies e queijo Minas artesanal de Campo das Vertentes ao longo da maturação e em duas estações do ano. Tese apresentada para obtenção do título de doutor. Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. 2022.

VERDI, R. J. & BARBANO, D. M.. Preliminary investigation of the properties of somatic cell proteases. *Journal of Dairy Science*, v. 71, p. 534-8, 1988.

VILELA, D., RESENDE, J. C. D., LEITE, J. B., & ALVES, E. A evolução do leite no Brasil em cinco décadas. *Revista de Política Agrícola*, 26(1), 5-24. 2017.

WANG, Y., KUO, S., SHU, M., YU, J., HUANG, S., DAI, A., HUANG, C. M. *Staphylococcus epidermidis* in the human skin microbiome mediates fermentation to inhibit the growth of *Propionibacterium acnes*: implications of probiotics in acne vulgaris. *Applied microbiology and biotechnology*, 98(1), 411-424. 2014.

WEESE, J. S., ANDERSON, M. E., LOWE, A., & MONTEITH, G. J. Preliminary investigation of the probiotic potential of *Lactobacillus rhamnosus* strain GG in horses: fecal recovery following oral administration and safety. *The Canadian Veterinary Journal*, 44(4), 299. 2003.

WEHKAMP, J., HARDER, J., WEHKAMP, K.; WEHKAMP-VON MEISSNER, B.; SCHLEE, M.; ENDERS, C.; SCHRÖDER, J. M. NF- κ B-and AP-1-mediated induction of human beta defensin-2 in intestinal epithelial cells by *Escherichia coli* Nissle 1917: a novel effect of a probiotic bacterium. *Infection and immunity*, 72(10), 5750-5758. 2004.

WEST, H. G. Food fears and raw-milk cheese. *Appetite*, 51(1), 25-29. 2008.

WINCK, C. A., THALER NETO, A. Diagnóstico da adequação de propriedades leiteiras em Santa Catarina às normas brasileiras de qualidade do leite. *Revista de Ciências Agroveterinárias*. v.8, n.2, p. 164-172, Lages, 2009

WYCHERLEY, A; MCCARTHY, M.; COWANC. "Speciality food orientation of food related lifestyle segments in Great Britain," *Food Quality and Preference*. 2008

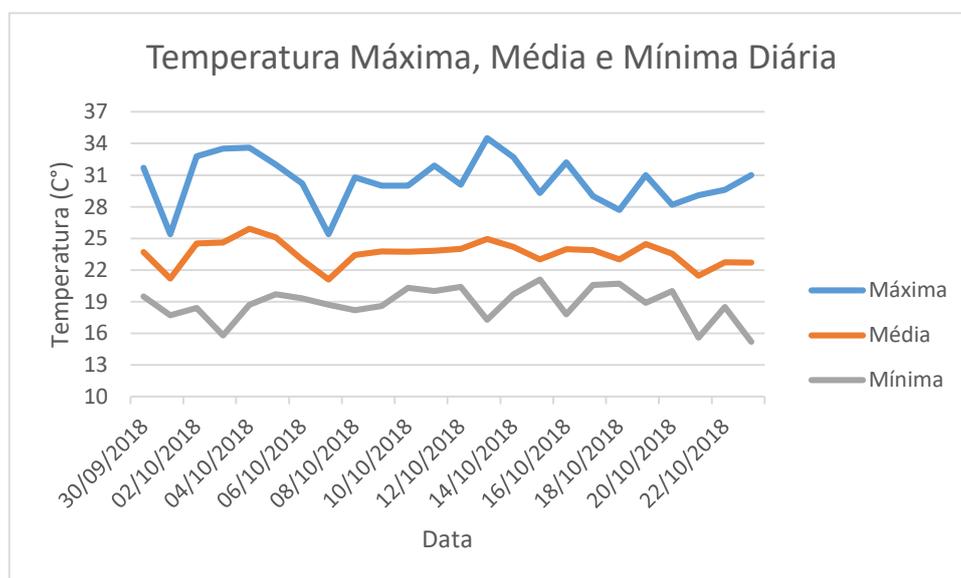
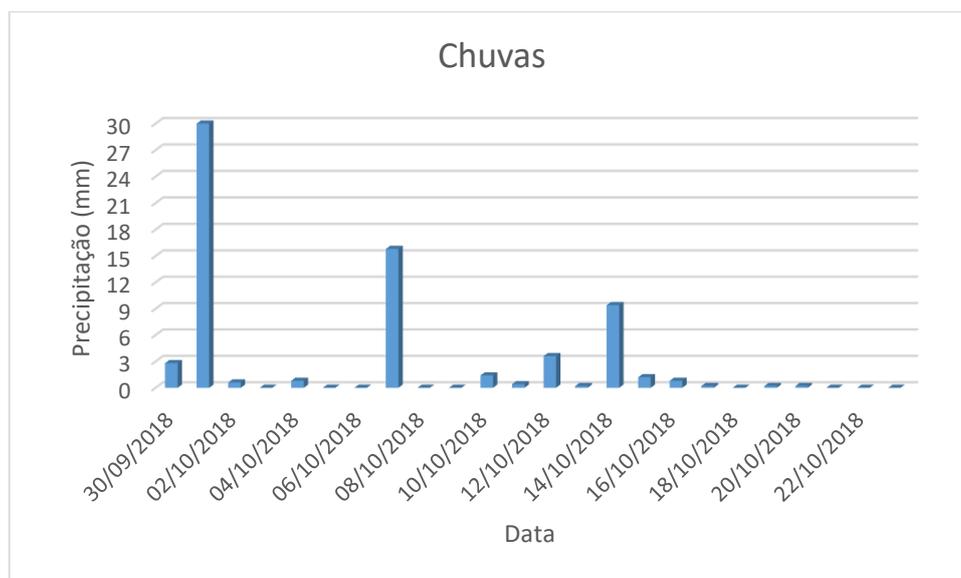
YOON, Y.; LEE, S.; CHOI, K. H. Microbial benefits and risks of raw milk cheese. *Food Control*, v. 63, p. 201-215, 2016.

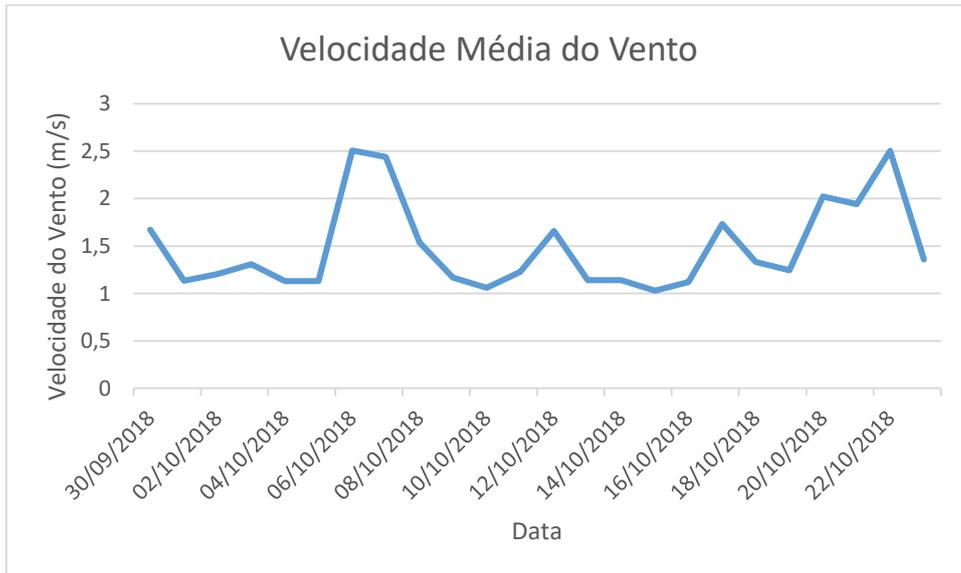
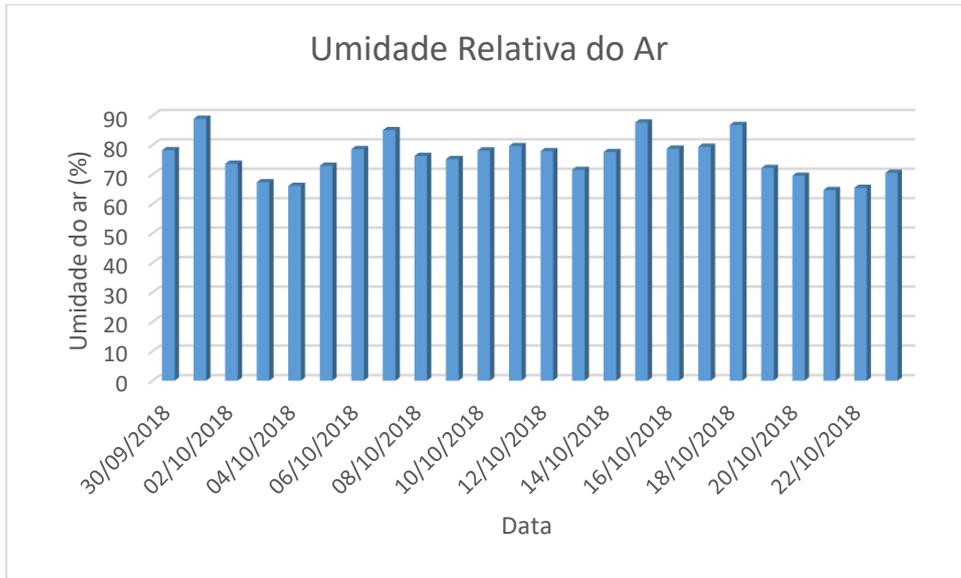
YU, Herbert; ROHAN, Thomas. Role of the insulin-like growth factor family in cancer development and progression. *Journal of the National Cancer Institute*, v. 92, n. 18, p. 1472-1489, 2000.

ZAGREBNEVIENE G., JASULAITIENE V., MORKUNAS B., TARBUNAS S., LADYGAITE J. *Shigella sonnei* outbreak due to consumption of unpasteurized milk curds in vilnius, Lithuania, 2004. *EURO SURVEILLANCE*. 2005

8. ANEXOS

1. Dados climatológicos da estação automática do Instituto Nacional de Meteorologia em Bambuí-MG





Fonte: INMET, 2018

2. Relatório emitido pelo aparelho FlexControl MicroFlex LT (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha) com sinalização em verde para *Score Value* que indica certeza na identificação da espécie *Citrobacter freundii*

Analyte1



Analyte Name:

A1

Analyte Description:

Analyte ID:

1

Analyte Creation Date/Time:

2019-01-18T12:16:07.382

Applied MSP Library(ies):

Applied Taxonomy Tree:

Project: Bruker Taxonomy; Taxonomy

Rank (Quality)	Matched Pattern	Score Value	NCBI Identifier
1 (++)	Citrobacter freundii_13158_2_CHB	2.007	546
2 (+)	Citrobacter freundii_22054_1_CHB	1.999	546
3 (+)	Citrobacter braakii_20663_2_CHB	1.91	57706
4 (+)	Citrobacter freundii_DSM_15979_DSM	1.817	546
5 (+)	Citrobacter braakii_9314_2_CHB	1.814	57706
6 (+)	Citrobacter freundii_DSM_30039T_DSM	1.796	546

3. Relatório emitido pelo aparelho FlexControl MicroFlex LT (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha) com sinalização em amarelo para *Score Value* que indica certeza na identificação do gênero e incerteza para identificação da espécie de

Yarrowia lipolytica

Analyte2



Analyte Name:

A2

Analyte Description:

Analyte ID:

2

Analyte Creation Date/Time:

2019-01-18T12:16:07.155

Applied MSP Library(ies):

Applied Taxonomy Tree:

Projects; Bruker Taxonomy; Taxonomy

Rank (Quality)	Matched Pattern	Score Value	NCBI Identifier
1 (+)	Yarrowia lipolytica DSM 3286 DSM	1.927	4952
2 (+)	Yarrowia lipolytica DSM 8218 DSM	1.909	4952
3 (+)	Yarrowia lipolytica CBS 2070 CBS	1.785	4952
4 (+)	Yarrowia lipolytica DSM 1345 DSM	1.768	4952
5 (+)	Yarrowia lipolytica CBS 7133 CBS	1.754	4952
6 (+)	Yarrowia lipolytica CBS 599 CBS	1.752	4952

4. Relatório emitido pelo aparelho FlexControl MicroFlex LT (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha) com sinalização em verde e maior *Score Value* que indica certeza na identificação da espécie de *Serratia marcescens*.

Analyte Name: A3
 Analyte Description:
 Analyte ID: 3
 Analyte Creation Date/Time: 2019-01-18T12:16:07.322
 Applied MSP Library(ies):
 Applied Taxonomy Tree: Projects_Bruker_Taxonomy_Taxonomy

Rank (Quality)	Matched Pattern	Score Value	NCBI Identifier
1 (++)	Serratia marcescens 13103_1 CHB	2.244	615
2 (++)	Serratia ureilytica DSM 16952T DSM	2.136	300181
3 (+)	Serratia marcescens DSM 30122 DSM	1.972	615
4 (+)	Serratia marcescens ssp sakunensis CIP 107489T HAM	1.968	211760
5 (+)	Serratia marcescens DSM 12483 DSM	1.948	615
6 (+)	Serratia marcescens ssp marcescens DSM 30121T DSM	1.945	211759
7 (+)	Serratia marcescens DSM 12485 DSM	1.931	615

5. Relatório emitido pelo aparelho FlexControl MicroFlex LT (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha) com sinalização em amarelo com *Score Value* que indica certeza na identificação do gênero *Enterobacter* spp.

Analyte Name: A4
 Analyte Description: A4
 Analyte ID: 4
 Analyte Creation Date/Time: 2019-01-18T12:16:05.556
 Applied MSP Library(ies):
 Applied Taxonomy Tree: Projects; Bruker Taxonomy; Taxonomy

Rank (Quality)	Matched Pattern	Score Value	NCBI Identifier
1 (+)	Enterobacter aerogenes 15282_1 CHB	1.971	548
2 (+)	Enterobacter aerogenes ATCC 13048T THL	1.949	548
3 (+)	Enterobacter aerogenes DSM 30053T HAM	1.923	548
4 (+)	Enterobacter aerogenes LMG 2970 LMG	1.772	548
5 (+)	Klebsiella pneumoniae ssp rhinoscleromatis CCM 5791T CCM	1.711	39831
6 (-)	Klebsiella varicola NY 1036 MCW	1.697	244366
7 (-)	Klebsiella varicola CC 2123 MCW	1.693	244366

6. Relatório emitido pelo aparelho FlexControl MicroFlex LT (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha) com sinalização em verde e maior *Score Value* que indica certeza na identificação da espécie de *Serratia marcescens*.

Analyte Name: A5
 Analyte Description:
 Analyte ID: 5
 Analyte Creation Date/Time: 2019-01-18T12:16:06.728
 Applied MSP Library(ies):
 Applied Taxonomy Tree: Projects; Bruker Taxonomy; Taxonomy

Rank (Quality)	Matched Pattern	Score Value	NCBI Identifier
1 (++)	Serratia marcescens 13103_1.CHB	2.228	615
2 (++)	Serratia ureilytica DSM 16952T DSM	2.088	300181
3 (+)	Serratia marcescens ssp marcescens DSM 30121T DSM	1.994	211759
4 (+)	Serratia marcescens DSM 12485 DSM	1.979	615
5 (+)	Serratia marcescens ssp sakaiensis CIP 107489T HAM	1.971	211760
6 (+)	Serratia marcescens DSM 12481 DSM	1.93	615
7 (+)	Serratia marcescens DSM 30122 DSM	1.83	615

7. Relatório emitido pelo aparelho FlexControl MicroFlex LT (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha) com sinalização em verde e maior *Score Value* que indica certeza na identificação da espécie de *Pseudomonas aeruginosa*.

Analyte Name: A6
 Analyte Description:
 Analyte ID: 6
 Analyte Creation Date/Time: 2019-01-18T12:16:06.377
 Applied MSP Library(ies):
 Applied Taxonomy Tree: Project: Bruker Taxonomy; Taxonomy

Rank (Quality)	Matched Pattern	Score Value	NCBI Identifier
1 (++)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> DSM 1117 DSM	2.215	287
2 (++)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 8147_2 CHB	2.196	287
3 (++)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> DSM 50071T_QCC DSM	2.105	287
4 (++)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> A07_08_Pudb FLR	2.087	287
5 (++)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 THL	2.076	287
6 (++)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 19955_1 CHB	2.051	287
7 (+)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> DSM 1128 DSM	1.991	287