

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Escola de Veterinária

Programa de Pós-graduação em Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal

Gabriela Cândido Nunes

**Caracterização microbiológica e físico-química de queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por afinadores não habilitados na região metropolitana de Belo Horizonte**

Belo Horizonte

2020

Gabriela Cândido Nunes

**Caracterização microbiológica e físico-química de queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por afinadores não habilitados na região metropolitana de Belo Horizonte**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

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

Orientadora: Cláudia Freire de Andrade Morais Penna

Coorientadora: Carla Ferreira Soares

Belo Horizonte

2020

Nunes, Gabriela Cândido – 1993-  
N972c      Caracterização microbiológica e físico-química de queijos artesanais de Minas Gerais  
              maturados por afinadores não habilitados na região metropolitana de Belo Horizonte/ Gabriela  
              Cândido Nunes – 2020.  
              72 f.:il.

Orientadora: Cláudia Freire de Andrade Morais Penna  
Coorientadora: Carla Ferreira Soares

Dissertação de Mestrado apresentado à Escola de Veterinária da Universidade Federal de  
Minas Gerais.

1- Alimentos - Qualidade – Teses - 2 - Leite - Teses - 3 – Ciência animal – Teses – I – Penna,  
Cláudia Freire de Andrade – II – Soares, Carla Ferreira - III - Universidade Federal de Minas  
Gerais, Escola de Veterinária – IV – Título.

CDD – 641

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes – CRB2569



## FOLHA DE APROVAÇÃO

### GABRIELA CÂNDIDO NUNES

Dissertação submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL, como requisito para obtenção do grau de MESTRE em CIÊNCIA ANIMAL, área de concentração Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal.

Aprovado(a) em 21 de fevereiro de 2020, pela banca constituída pelos membros:

Prof(a). Dr.(a). Claudia Freire de Andrade Moraes Penna  
Presidente - Orientador(a)

Prof(a). Dr.(a). Bruna Maria Selotti de Souza

Prof(a). Dr.(a). Leticia Goulart Oliveira



## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Roberto e Eliane, pelo amor, apoio e incentivo em todos os anos de minha formação. Obrigada por serem meus exemplos de respeito, humildade e honestidade.

Ao meu querido irmão Gabriel pelo carinho e companheirismo mesmo estando distante.

Ao meu marido Fabio por todo o amor, compreensão e por sempre sonhar junto comigo, mesmo os sonhos mais loucos.

A todos os familiares e amigos que fizeram parte da minha caminhada.

Aos meus animais, Raul, Minnie, Pitico e Billy, por me alegrarem todos os dias.

Agradeço a professora Cláudia pelos ensinamentos, pela companhia, confiança e por ter me acolhido tão bem nesta etapa.

Agradeço a professora Joana pela disponibilidade em me auxiliar nas análises estatísticas.

Às amizades antigas e àquelas feitas durante o mestrado. Obrigada Claudis, Sarah, Manu, Cosme e Nath, por estarem presentes e nos apoiarmos nas dificuldades e nos momentos de alegria.

Às alunas de iniciação científica e estagiárias, Jéssica, Nath, Lívia, Luiza, Izabella e Catarina, por toda a ajuda e dedicação nos laboratórios.

Aos técnicos do DTIPOA, Marco Antônio, Cosme, Miltinho, César e Joelma, pela paciência e ajuda indispensável.

Aos afinadores pela participação neste experimento.

Ao CNPQ pelo apoio financeiro e à CAPES pela concessão da bolsa.

## Resumo

Os queijos Artesanais mineiros são amplamente produzidos em todo o estado de Minas Gerais, contribuindo como fonte de renda e incentivando a economia local. Queijos elaborados com leite cru possuem características únicas determinadas pela diversidade do solo, clima, raça produtora de leite, alimentação fornecida aos animais e técnicas utilizadas na produção e maturação. A afinação de queijos artesanais vem crescendo e o trabalho de aperfeiçoar este produto tem se tornado comum, porém a maturação em locais não habilitados não está prevista em legislação, podendo tornar estes queijos potenciais riscos à saúde pública. Objetivou-se neste trabalho avaliar as mudanças físico-químicas e microbiológicas de queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por três afinadores não habilitados durante 30 dias na região metropolitana de Belo Horizonte - MG e verificar a adequação aos parâmetros de qualidade propostos para queijos Minas Artesanais. Em relação aos parâmetros físico-químicos a redução ( $P < 0,05$ ) da umidade ocorreu para os queijos dos afinadores A e C. Os teores de umidade do queijo A se encontraram dentro do limite máximo exigido pela legislação desde o primeiro dia e do queijo C após 20 dias, já o queijo B não se enquadraram em nenhum dos tempos analisados. Com base na Portaria 146/1996, o queijo C se enquadraram como extra gordo ao longo de toda a maturação, já os queijos A e B como gordos até os 10 dias e extra gordos dos 20 aos 30. Os teores de proteína, cloretos e cinzas dos queijos dos três afinadores não foram influenciados ( $P > 0,05$ ) pela maturação. As contagens de bactérias ácido-láticas e bolores e leveduras mantiveram-se elevadas durante os 30 dias, com valores variando entre  $10^6$  e  $10^7$  UFC/g. Com 20 dias todas as amostras dos queijos A e C se enquadraram nos limites físico-químicos e microbiológicos estabelecidos pelas legislações, enquanto o queijo B em nenhum dos tempos propostos para as contagens de coliformes a  $30\text{ }^\circ\text{C}$  e teor de umidade. *Salmonella* spp. e *Listeria* spp. não foram detectadas em nenhuma das amostras analisadas. A maturação não deve ser usada como única forma de se obter produtos seguros microbiologicamente e neste experimento não foi eficiente em assegurar a inocuidade de todos os queijos avaliados, destacando que a adoção de boas práticas agropecuárias e de produção são extremamente importantes para a obtenção de alimentos seguros.

Palavras-chave: Maturação. Afinação. Saúde pública. Microbiologia de alimentos.

## Abstract

Artisanal cheeses from Minas Gerais are widely produced throughout the state of Minas Gerais, contributing as a source of income for families and encouraging the local economy. Raw milk cheeses have unique characteristics provided by the diversity of soil, climate, animal productivity, nutrition and production and maturation technologies. The activities of artisanal affineur of cheeses are increasing and the work of maturing this product has become habitual, however this type of activity, once carried out outside a suitable and permitted place, is not covered by the legislation, which makes these products a potential risk to public health. This work aims to evaluate the physicochemical and microbiological parameters of aged artisanal cheeses from the state of Minas Gerais, made by three non-allowed affineur during 30 days, in the metropolitan region of Belo Horizonte, Minas Gerais and check the suitability to the quality parameters proposed to the artisanal Minas cheeses. About the physicochemical parameters, the reduced ( $P < 0,05$ ) moisture has occurred to the cheeses of the affineur A and C. The moisture content of the cheese A was within the maximum limits according to the legislation since the beginning, while the cheese C reached that after 20 days. However the cheese B did not fit in the limits during all the time, due the refrigeration conditions for maturation. According to the Brazilian ordinance 146/1996, the cheeses from the group C showed as extra fat during the entire maturation time, but in other hand the cheeses from groups A and B fits as fat until the 10 th day and as extra fat from the 20 th day until the 30 th day. The protein content, chlorides and ashes of all the products from every affineur were not influenced ( $P > 0,05$ ) by the maturation. The counts of lactic acid bacteria and mold and yeast remained high over the 30 days, in which the values were between  $10^6$  and  $10^7$  UFC/g. Within 20 days all the samples of the cheeses from the group A and C fit in the physicochemical and microbiological limits established by the legislation. However, the cheese from the affineur B did not fit in the mentioned limits in any of the proposed times to the counting of coliform at  $30^\circ\text{C}$  and moisture content. *Salmonella* spp. and *Listeria* spp. were not detected in any samples. The maturation process don't have to be used as a single way to obtain microbiologically safe products and in this experiment it was not efficient to ensure the harmlessness of the analyzed cheeses, It is important to say that the good practices adoption in the farming and production process are extremely important to obtain safe foods.

Keywords: Ripening. Affineur. Public health. Food microbiology.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Mapeamento das regiões produtoras de queijos artesanais em Minas Gerais	16
Figura 2 -	Extensão e profundidade da proteólise	21
Figura 3 -	Sala de maturação/afinação do queijo A	33
Figuras 4/5-	Janelas no interior da sala com comunicação com árvore externa e presença de formiga em uma das prateleiras	33
Figura 6 -	A) Interior da geladeira de maturação B) Recipiente da mistura salmoura e pingo C) Termostato acima de uma das geladeiras D) Visão de uma das geladeiras contendo as caixas com queijos em seu interior	34
Figura 7 -	Interior da geladeira utilizada como ambiente de maturação em parte do experimento	35
Figura 8 -	Evolução da umidade dos queijos A e C durante a maturação por 30 dias	38
Figura 9 -	Evolução do extrato seco total dos queijos A e C durante a maturação por 30 dias	39
Figura 10 -	Evolução da gordura dos queijos A, B e C durante a maturação por 30 dias	40
Figura 11 -	Evolução dos teores de proteínas dos queijos A, B e C durante a maturação por 30 dias	42
Figura 12 -	Evolução da acidez titulável do queijo B durante a maturação por 30 dias	48
Figura 13 -	Queijo B após 30 dias de maturação	49
Figura 14 -	Evolução do pH do queijo B durante a maturação por 30 dias	50
Figura 15 -	Presença de insetos na janela da sala de maturação	56
Figura 16 -	Presença de insetos nas prateleiras utilizadas para maturação dos queijos	56



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Padrões físico-químicos estabelecidos pela Lei 14.185 de 2002 e pela Portaria 146 de 1996	23
Tabela 2 -	Padrões microbiológicos estabelecidos para inspeção do queijo Minas Artesanal	25
Tabela 3 -	Valores médios e coeficientes de variação (CV) de umidade em queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por afinadores da região metropolitana de Belo Horizonte	36
Tabela 4 -	Valores médios e coeficientes de variação (CV) do extrato seco total em queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por afinadores da região metropolitana de Belo Horizonte	38
Tabela 5 -	Valores médios e coeficientes de variação (CV) de gordura em queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por afinadores da região metropolitana de Belo Horizonte	39
Tabela 6 -	Valores médios e coeficientes de variação (CV) dos teores de gordura no EST em queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por afinadores da região metropolitana de Belo Horizonte e classificação perante portaria 146/1996 do MAPA	41
Tabela 7 -	Valores médios e coeficientes de variação (CV) de proteína em queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por afinadores da região metropolitana de Belo Horizonte	42
Tabela 8 -	Valores médios e coeficientes de variação dos IEP e IPP em queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por afinadores da região metropolitana de Belo Horizonte	43
Tabela 9 -	Valores médios e coeficientes de variação dos teores de cloretos em queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por afinadores da região metropolitana de Belo Horizonte	45
Tabela 10 -	Valores médios e coeficientes de variação (CV) dos teores de cinzas em queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por afinadores da região metropolitana de Belo Horizonte	46
Tabela 11 -	Valores médios e coeficientes de variação (CV) de acidez titulável em queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por afinadores da região metropolitana de Belo Horizonte	47
Tabela 12 -	Valores médios e coeficientes de variação (CV) do pH em queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por afinadores da região metropolitana de Belo Horizonte	48
Tabela 13 -	Valores médios e coeficientes de variação (CV) da contagem de BAL em queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por afinadores da região metropolitana de Belo Horizonte	50
Tabela 14 -	Valores médios e coeficientes de variação (CV) da contagem de coliformes a 30 °C em queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por afinadores da região metropolitana de Belo Horizonte	52

Tabela 15 - Valores médios e coeficientes de variação (CV) da contagem de <i>E. coli</i> em queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por afinadores da região metropolitana de Belo Horizonte	54
Tabela 16 - Valores médios e coeficientes de variação (CV) da contagem de <i>Staphylococcus</i> spp. em queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por afinadores da região metropolitana de Belo Horizonte	55
Tabela 17 - Valores médios e coeficientes de variação (CV) da contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positivo em queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por afinadores da região metropolitana de Belo Horizonte	57
Tabela 18 - Valores médios e coeficientes de variação (CV) da contagem de bolores e leveduras em queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por afinadores da região metropolitana de Belo Horizonte	58

## LISTA DE ABREVIATURAS

AOAC	Association of Official Analytical Chemists
ATN	Ágar tryptose com ácido nalidíxico
BAL	Bactérias Ácido-Láticas
BHI	Ágar Brain Heart Infusion
BPA	Boas Práticas Agropecuárias
BPF	Boas Práticas de Fabricação
BPLS	Ágar verde brilhante vermelho de fenol lactose sacarose
CV	Coeficiente de Variação
DIC	Delineamento inteiramente casualizado
DTIPOA	Departamento de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal
EMATER	Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Minas Gerais
EST	Extrato Seco Total
EV	Escola de Veterinária
g	Gramma
GES	Gordura no Extrato Seco
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IEP	Índice de Extensão da Proteólise
IMA	Instituto Mineiro de Agropecuária
IPHAN	Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional
IPP	Índice de Profundidade da Proteólise
L	Litro
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MG	Minas Gerais
mL	Mililitro
MRS	Ágar Man-Rogosa-Sharpe
NS	Nitrogênio Solúvel em pH 4,6
NSTCA	Nitrogênio solúvel em TCA 12%
NT	Nitrogênio Total
PDA	Ágar Batata Dextrose
QAMG	Queijo Artesanal de Minas Gerais
QMA	Queijo Minas Artesanal
RIISPOA	Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal
SS	Ágar Salmonella-Shigella
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
µL	Microlitros

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	12
<b>2.</b>	<b>OBJETIVOS</b>	13
<b>2.1</b>	<b>Objetivo geral</b>	13
<b>2.2</b>	<b>Objetivos específicos</b>	13
<b>3.</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	13
<b>3.1</b>	<b>Queijos artesanais</b>	13
<b>3.1.1</b>	<b>Características do Queijo Minas Artesanal</b>	14
	<b>Dados e histórico das legislações sobre queijos artesanais em Minas</b>	
<b>3.2</b>	<b>Gerais</b>	15
<b>3.3</b>	<b>Maturação em queijos artesanais</b>	18
<b>3.3.1</b>	<b>Principais fenômenos da maturação em queijos artesanais</b>	18
<b>3.3.1.1</b>	<b>Glicólise</b>	18
<b>3.3.1.2</b>	<b>Lipólise</b>	19
<b>3.3.1.3</b>	<b>Proteólise</b>	19
<b>3.4</b>	<b>Maturadores/afinadores de queijos artesanais</b>	21
<b>3.5</b>	<b>Qualidade físico-química de queijos artesanais</b>	23
<b>3.6</b>	<b>Qualidade microbiológica de queijos artesanais</b>	24
<b>4.</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	27
<b>4.1</b>	<b>Amostragem</b>	27
<b>4.2</b>	<b>Visitas e observação de boas práticas</b>	28
<b>4.3</b>	<b>Análises laboratoriais realizadas nos queijos</b>	28
<b>4.3.1</b>	<b>Análises físico-químicas</b>	28
<b>4.3.1.1</b>	<b>Frações nitrogenadas</b>	28
<b>4.3.2</b>	<b>Análises microbiológicas</b>	29
<b>4.3.2.1</b>	<b>Contagem de bactérias ácido-láticas</b>	29
<b>4.3.2.2</b>	<b>Contagem de coliformes a 30 °C e <i>Escherichia coli</i></b>	30
<b>4.3.2.3</b>	<b>Pesquisas de <i>Staphylococcus</i> spp. e <i>Staphylococcus</i> coagulase positivo</b>	30
<b>4.3.2.4</b>	<b>Contagem de bolores e leveduras</b>	30
<b>4.3.2.5</b>	<b>Pesquisa de <i>Listeria</i> spp.</b>	30
<b>4.3.2.6</b>	<b>Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.</b>	31
<b>4.4</b>	<b>Delineamento experimental e análises estatísticas</b>	31
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	32
<b>5.1</b>	<b>Particularidades de cada processo de afinação</b>	32
<b>5.1.1</b>	<b>Queijo A</b>	32
<b>5.1.2</b>	<b>Queijo B</b>	33
<b>5.1.3</b>	<b>Queijo C</b>	34
<b>6.1</b>	<b>Características físico-químicas</b>	35
<b>6.1.1</b>	<b>Umidade</b>	35
<b>6.1.2</b>	<b>Extrato seco total</b>	38
<b>6.1.3</b>	<b>Teores de gordura e gordura no extrato seco</b>	39
<b>6.1.4</b>	<b>Proteína</b>	41

6.1.5	Índices de extensão e profundidade da proteólise	42
6.1.6	Teores de cloretos	45
6.1.7	Cinzas	45
6.1.8	Acidez titulável	46
6.1.9	pH	48
6.2	Características microbiológicas	50
6.2.1	Bactérias ácido-láticas	50
6.2.2	Coliformes a 30 °C	51
6.2.3	<i>Escherichia coli</i>	54
6.2.4	<i>Staphylococcus spp.</i>	55
6.2.5	<i>Staphylococcus coagulase</i> positivo	56
6.2.6	Bolores e leveduras	58
6.2.7	<i>Listeria spp.</i>	59
6.2.8	<i>Salmonella spp.</i>	60
7.	CONCLUSÕES	60
8.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	61
9.	REFERÊNCIAS	62

## 1. INTRODUÇÃO

A produção de queijos artesanais elaborados com leite cru é uma atividade tradicional em Minas Gerais e seu consumo está enraizado no cotidiano dos mineiros. O estado figura como o maior produtor de leite do país, com 26,7% da produção nacional, e desponta como maior produtor de queijos, sejam eles artesanais ou não (IBGE, 2017).

Os queijos Artesanais de Minas Gerais (QAMG) têm sua produção distribuída em diferentes regiões do estado e contribuem como fonte de renda para os produtores, incentivando a economia local, a agricultura familiar e a fixação do homem no campo. Apesar disso, nem toda sua produção e comercialização ocorrem de maneira legal e dentro das condições mínimas de qualidade e higiene pré-determinadas pelas legislações. Aliado ao fato de ser elaborado com leite que não passou por nenhum tratamento térmico, ser extremamente manipulado durante seu processamento e normalmente ser consumido fresco, estes queijos podem representar riscos à saúde do consumidor se as boas práticas de fabricação (BPF) e boas práticas agropecuárias (BPA) não forem respeitadas.

A maturação é uma etapa complexa e única no processo de produção dos queijos artesanais que envolve eventos microbiológicos, bioquímicos e físicos sob a ação de enzimas lipolíticas e proteolíticas que resultarão na textura e sabor particulares de cada variedade de queijo. Durante ela há alteração do pH, da umidade, concentração de cloreto de sódio e outras transformações que podem favorecer ou não a permanência de micro-organismos desejáveis e indesejáveis (PAGTHINATHAN; NAFEES, 2015).

Em meio a recente valorização dos queijos artesanais no país, vem se tornando comum o trabalho dos afinadores, profissionais que utilizam diferentes técnicas durante a maturação dos queijos a fim de aperfeiçoar e potencializar o sabor e características do produto. Entretanto, a maturação do queijo artesanal fora das queijarias e entrepostos habilitados não é permitida legalmente. Os queijos Minas Artesanal (QMA) afinados em locais não habilitados não passam por inspeção e já não se enquadram mais dentro dessa categoria após a saída da propriedade produtora e aplicação das técnicas de afinação (BRASIL, 2018a).

São escassas ou praticamente ausentes as pesquisas científicas que abordam a qualidade microbiológica e físico-química de queijos Artesanais de Minas Gerais maturados fora de queijarias e entrepostos habilitados no Brasil. As condições em que estes queijos são maturados

não estão previstas em legislação, dessa forma, sua comercialização ocorre de maneira ilegal, configurando um possível risco à saúde pública.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar a qualidade físico-química e microbiológica de queijos Artesanais de Minas Gerais submetidos ao processo de maturação e afinação fora das propriedades produtoras por afinadores não habilitados, na região metropolitana de Belo Horizonte.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Avaliar os QAMG em processo de afinação, quanto à presença ou contagens de *Staphylococcus* coagulase positivo, coliformes a 30°, *Escherichia coli*, bactérias ácido-láticas (BAL), bolores e leveduras, *Salmonella* spp. e *Listeria* spp.
- Caracterizar parâmetros físico-químicos do QAMG avaliando acidez titulável, pH, percentuais de extrato seco total, umidade, gordura e proteína, índices de profundidade e de extensão da proteólise.
- Verificar diferenças da qualidade microbiológica e físico-química dos QAMG afinados na região metropolitana de Belo Horizonte, nos tempos de maturação de 1, 10, 20 e 30 dias, a fim de investigar o prazo de segurança microbiológica desses produtos e comparar seus valores com aqueles propostos na legislação do QMA e no Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos.

## **3. REVISÃO DE LITERATURA**

### **3.1 Queijos artesanais**

Segundo a legislação brasileira, queijos artesanais são produzidos exclusivamente com leite cru. Conforme o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA (BRASIL, 2013), esses queijos devem ser maturados por um período mínimo de 60 dias, salvo quando estudos técnico-científicos comprovarem que a redução do período de maturação não compromete a qualidade e inocuidade do produto. A *Food and Drug Administration*, agência dos Estados Unidos que supervisiona a segurança alimentar, também recomenda que os 60 dias

de maturação para consumo de queijos elaborados com leite não pasteurizado sejam respeitados (FDA, 2019).

O queijo elaborado a partir de leite cru é um queijo cujo leite não foi submetido ao processo térmico da pasteurização e, portanto, mantém inalteradas as características iniciais do leite, conservando os odores e sabores típicos da região da qual é proveniente. Essas características que moldam a identidade dos queijos compreendem a microbiota inata e dependem da raça produtora do leite, da alimentação fornecida aos animais, das estações do ano e do território em que vivem (YOON, 2016). Queijos elaborados com leite cru possuem quantidades maiores de compostos voláteis, tais como ácidos, ésteres e álcoois advindos da fermentação promovida pelas populações microbianas naturais do leite (OCAK; JACIDIPOUR; TUNCTURK, 2015).

Italo Calvino, escritor italiano do século XX, disse que “Por trás de cada queijo há um pasto de um verde distinto sob um céu distinto: prados incrustados com o sal que as marés da Normandia depositam todas as tardes; prados perfumados de aromas ao sol ventoso de Provença; há rebanhos distintos com suas estabulações e transumâncias; há segredos de elaboração transmitidos por séculos e séculos (...)” (CALVINO, 1994). Isso mostra que, mesmo que dois queijos fossem produzidos com técnicas e maturação idênticas, mas com leite proveniente de dois diversos lugares, os dois seriam diferentes pois cada um expressaria características intrínsecas da região em que foi elaborado.

No Brasil, inúmeros queijos são produzidos desta maneira e são típicos de várias regiões. Eles são elaborados há dezenas ou até centenas de anos em pequena escala e por pequenos produtores rurais, sendo que normalmente a produção é familiar e tem o derivado como a principal fonte do orçamento mensal. A produção de alimentos artesanais estimula a fixação do homem no campo, gera empregos e oferece a manutenção da cultura e tradições locais. A região Sudeste, especialmente o estado de Minas Gerais, merece destaque pela quantidade e variedade de queijos que são produzidos de forma artesanal.

### **3.1.1 Características do Queijo Minas Artesanal**

O QMA é a modalidade dos queijos Artesanais de Minas Gerais que tem definições legais específicas e possui maior reconhecimento. O modo artesanal de fazer QMA foi descrito no Livro de Registro dos Saberes pelo Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional (IPHAN) em 2008.



A origem das técnicas típicas de elaboração destes queijos é atribuída à região da Serra da Estrela ou à região de Açores, em Portugal, a depender da vertente estudada (IPHAN, 2008; NETTO, 2011). O modo de fazer QMA é relativamente homogêneo em todo o estado, apesar de os queijos das diferentes regiões terem sabores bastante específicos. Os aspectos comuns mais relevantes são o uso do leite cru e a adição do pingo, um fermento natural recolhido do soro dos próprios queijos (MINAS GERAIS, 2002; IPHAN, 2008).

De acordo com a legislação, o QMA é caracterizado como o queijo elaborado à partir de leite cru, integral e fresco, que não tenha passado por nenhum tratamento térmico, sendo o ato da prensagem manual, e que o produto final apresente consistência firme, massa uniforme, isenta de corantes e conservantes, produzido conforme a tradição histórica e cultural da região onde for elaborado (MINAS GERAIS, 2002). Além disso, a etapa da maturação deve ser realizada em temperatura ambiente, em ambientes climatizados ou subterrâneos, na própria queijaria ou em entrepostos habilitados. Portanto, segundo a Lei nº 23.157/2018 que versa sobre a produção de queijos Artesanais de Minas Gerais, não é permitida a maturação em temperatura de refrigeração (MINAS GERAIS, 2018).

### **3.2 Dados e histórico das legislações sobre queijos artesanais em Minas Gerais**

Minas Gerais é o estado brasileiro com maior produção leiteira. Somente no ano de 2017 foram 8,97 bilhões de litros produzidos, representando 26,7% da produção nacional (IBGE, 2017). O estado também é um tradicional e importante elaborador de queijos no país. São mais de nove mil produtores de queijos artesanais envolvidos no Programa Queijo Minas Artesanal, com produção superior a 29 mil toneladas/ano e geração de 26 mil empregos diretos (EMATER, 2013).

O QMA é popular e reconhecido no Brasil e nos últimos anos vem conquistando espaço e notoriedade também no exterior. Esse destaque pode ser atribuído aos inúmeros prêmios que estão sendo conquistados em concursos de queijos artesanais na Europa, frutos do trabalho dos produtores e do estímulo das medidas governamentais que vêm sendo implementadas há alguns anos no estado.

Uma dessas medidas foi o Programa do Queijo Minas Artesanal, criado em parceria do Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) e da Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Minas Gerais (EMATER – MG), com o objetivo principal de organizar e cadastrar

os produtores, regularizar a produção do QMA e consequentemente promover a segurança alimentar, já que normas mínimas para sua produção, transporte e comercialização foram determinadas.

A primeira destas normas surgiu em 2002 com a Lei nº 14.185, que regulou o processo de produção de queijos artesanais de leite cru elaborados em microrregiões tradicionais do estado de Minas Gerais (MINAS GERAIS, 2002). A partir disso, estudos históricos, agroecológicos e edafoclimáticos foram realizados para identificação das microrregiões tradicionalmente produtoras do então QMA. Até o presente momento o IMA reconhece sete regiões tradicionalmente produtoras de QMA: Araxá, Campo das Vertentes, Cerrado, Serra da Canastra, Serra do Salitre, Serro e Triângulo Mineiro, sendo que atualmente existem 277 produtores cadastrados no programa do Queijo Minas Artesanal pelo IMA (IMA, 2019).

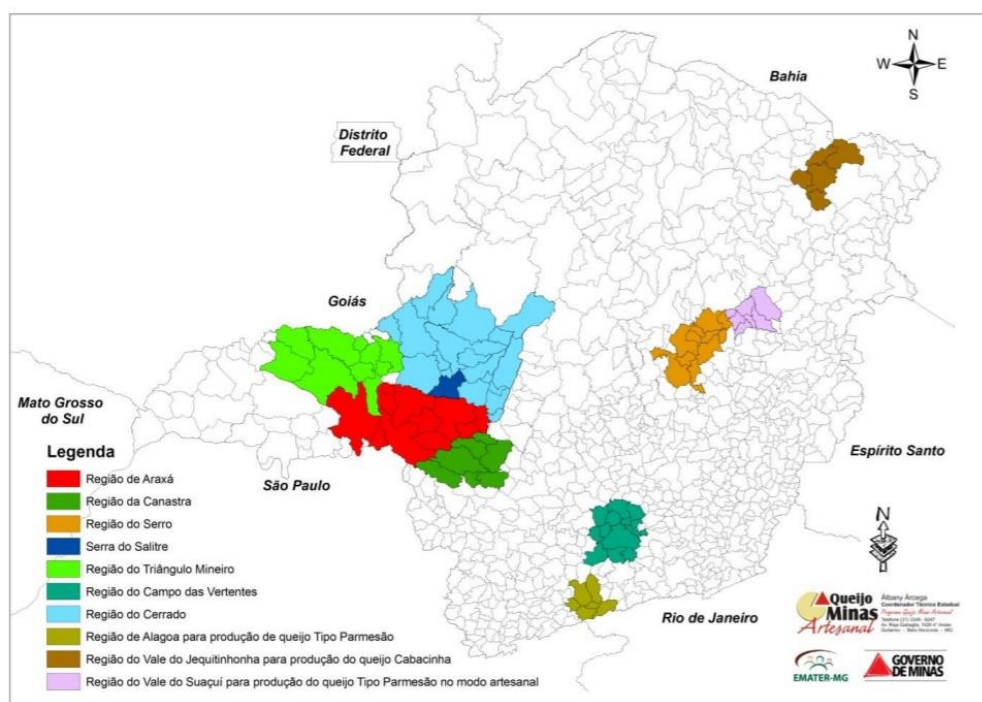


Figura 1. Mapeamento das regiões produtoras de queijos artesanais em Minas Gerais. Fonte: EMATER, 2016

Em 2008 foi publicado o Decreto Estadual nº 44.864 que alterou a Lei nº 14.185/2002 e trouxe modificações em relação aos parâmetros microbiológicos dos queijos e ao percentual de umidade (MINAS GERAIS, 2008). Após alguns anos, foram percebidas certas limitações dessas legislações já publicadas, como o fato de que os queijos artesanais de leite cru são produzidos em praticamente todo o território mineiro. Desta forma, a Lei estadual nº 19.492/2011 ampliou o reconhecimento das regiões mineiras produtoras do QMA, porém a utilização do nome das regiões ficou restrita aos locais já caracterizados anteriormente (MINAS

GERAIS, 2011). Até o fim de 2010 havia 63 municípios reconhecidos dentro do estado, já com a implementação da nova lei, este número chegou a mais de 600 municípios (IMA, 2012).

A Lei nº 20.549, publicada em 2012, dispôs sobre a produção e comercialização dos QAMG. Foi estabelecido o reconhecimento de novos tipos de queijos artesanais no estado, tais como o meia-cura, o requeijão artesanal e o queijo Cabacinha. Também é mencionado o entreposto como local destinado à maturação dos queijos (MINAS GERAIS, 2012). No ano de 2014 duas novas variedades de queijos Artesanais mineiros foram reconhecidas, o queijo tipo Parmesão das regiões do Vale do Suaçuí e Alagoa (MINAS GERAIS, 2014a; MINAS GERAIS, 2014b). Posteriormente, a Lei nº 20.549/2012 foi revogada pela Lei estadual nº 23.157 de 2018, que também trata sobre a produção e comercialização dos queijos Artesanais de Minas Gerais. Ela traz mais detalhadamente as atribuições dos entrepostos e aborda termos como a afinção, que ainda não havia sido citado em outros documentos oficiais (MINAS GERAIS, 2018). A ideia é possibilitar a criação e inclusão de outros tipos de queijos artesanais produzidos no estado, estimulando a diversificação dos produtos.

De acordo com o artigo 373 do Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), não há obrigação de realizar pasteurização em leite destinado à elaboração de queijos que serão maturados a temperaturas superiores a 5 °C por um período mínimo de 60 dias, sendo que este período pode ser reduzido após estudos que comprovem a inocuidade dos produtos (BRASIL, 2017). A Instrução Normativa nº 30 de 2013 também define as mesmas condições, porém sem mencionar temperatura mínima de maturação (BRASIL, 2013).

A Lei nº 13.680 entrou em vigor no dia 15 de junho (BRASIL, 2018a) alterando a Lei 1.283 nº de 1950 que exigia o selo federal SIF (Serviço de Inspeção Federal) para a circulação dos produtos em território nacional. Esta lei assegurou a comercialização, em todo o país, de alimentos de origem animal produzidos artesanalmente, e estes receberão o selo ARTE, concedido pelas Secretarias estaduais de Agricultura aos produtores artesanais. Em dezembro de 2019 a IN 73 estabeleceu o Regulamento Técnico de Boas Práticas Agropecuárias. O documento é destinado aos produtores rurais fornecedores de leite para a elaboração dos produtos lácteos artesanais que queiram requisitar o selo ARTE (BRASIL, 2019). A implementação do selo ARTE está sendo bem recebida pelos produtores e comerciantes, pois irá desburocratizar e ampliar as possibilidades de comercialização de seus produtos em todo o território brasileiro.

### **3.3 Maturação em queijos artesanais**

Entende-se por maturação a etapa em que os queijos passam por diversos processos microbiológicos, bioquímicos e físicos, assumindo assim características sensoriais específicas, tais como consistência, coloração, sabor e aroma (PERRY, 2004).

A microbiota presente nos queijos artesanais é altamente diversificada. As interações entre bactérias, bolores e leveduras são essenciais durante a maturação e podem contribuir positivamente para a formação das características particulares de cada variedade de queijo. Isto ocorre através da atividade metabólica e pela liberação de enzimas desses micro-organismos (BERESFORD; WILLIAMS, 2004).

A maturação ocorre nos queijos que não serão consumidos frescos e pode levar poucos dias ou até anos para ser finalizada (PERRY, 2004). Conhecer e investigar esse processo é fundamental para se obter queijos que tenham sempre boa qualidade, com custos reduzidos e alta aceitação dos consumidores (KHATTAB *et al.*, 2019).

Grande parte dos queijos italianos, franceses e espanhóis têm o processo de produção e maturação bem detalhados e definidos. Queijos com certificações de origem e amparados por estatutos fazem parte da realidade desses países. O Brasil, por sua vez, tem um longo caminho a percorrer em relação a essas certificações e na determinação da maturação de diferentes queijos aqui produzidos, assim sendo, existe uma infinidade de técnicas de maturação ou afinação sendo empregadas em um mesmo tipo de queijo, mas estas muitas vezes ainda são feitas sem o devido reconhecimento pelos órgãos de inspeção.

#### **3.3.1 Principais fenômenos da maturação em queijos artesanais**

##### **3.3.1.1 Glicólise**

Os queijos maturados possuem baixas quantidades de lactose pois ela é perdida no soro durante a produção ou é convertida em ácido lático no começo da maturação (FOX *et al.*, 2015). Os principais agentes responsáveis pela transformação da lactose residual em ácido lático são as BAL *starters* ou iniciadoras. Estes micro-organismos podem ser classificados como homofermentativos ou heterofermentativos de acordo com sua via metabólica. As

homofermentativas produzem unicamente ácido láctico, enquanto as heterofermentativas podem produzir, além do ácido láctico, outras substâncias como o etanol, ácido acético, diacetil e dióxido de carbono (JAY, 2012).

A lactose que permanece não fermentada pelas BAL iniciadoras será provavelmente metabolizada pelas BAL não iniciadoras e outros micro-organismos (MCSWEENEY; OTTOGALLI; FOX, 2004). Esse processo é responsável pela acidificação do queijo e confere o sabor ácido característico de algumas variedades. Durante a glicólise o ácido láctico sofre transformações secundárias, e são formados outros compostos voláteis importantes para a conferência de aroma e sabor dos queijos, como o etanol e o acetato (KHATTAB *et al.*, 2019).

### **3.3.1.2 Lipólise**

Como alimentos com alto teor de gordura, os queijos são susceptíveis a mudanças lipolíticas (BALDINI, 1998). A lipólise é caracterizada pela hidrólise das gorduras com formação de ácidos graxos de cadeia curta e média que são convertidos em outros componentes, como cetonas, álcoois e aldeídos, através de reações de oxidação, descarboxilação e saponificação (COLLINS; MCSWEENEY; WILKINSON, 2003; WALSTRA; WOUTERS; GEURTS, 2006). Os agentes lipolíticos podem ser lipases nativas do próprio leite, tais como as lipoproteínas lipases, podem ser provenientes de micro-organismos endógenos, da microbiota secundária ou do fermento adicionado (MARTINS, 2006; PAGTHINATHAN; NAFEEES, 2015; KHATTAB *et al.*, 2019). As BAL também são capazes de hidrolisar a gordura e estudos mostram que suas enzimas contribuem para o sabor característico do queijo Cheddar, por exemplo (COLLINS; MCSWEENEY; WILKINSON, 2003).

Os principais ácidos formados durante a lipólise são o butírico, caprílico, capróico, cáprico e láurico. A proporção destes ácidos varia conforme o agente lipolítico atuante (PERRY, 2004). Os ácidos graxos de cadeia curta contribuem significativamente para o desenvolvimento do sabor, porém a lipólise intensa pode ser considerada desagradável em algumas variedades de queijos, já que pode trazer rancidez. Por outro lado, no caso dos queijos azuis, Emmental, Pecorino Romano e Provolone, a lipólise se torna favorável e desejada, sendo essencial para o desenvolvimento das características de sabor desses queijos. (CLARK *et al.*, 2009).

### **3.3.1.3 Proteólise**

A proteólise é um dos principais fenômenos bioquímicos que ocorrem durante o processo da maturação (PERRY, 2004). Nela ocorre a quebra das ligações peptídicas das proteínas do leite por meio de enzimas específicas, dando origem a cetonas, peptídeos e aminoácidos livres de cadeia curta que são responsáveis por conferir aroma, sabor e textura característicos dos queijos. As enzimas envolvidas na maturação são predominantemente de origem microbiana, podendo ser provenientes das BAL, da microbiota secundária, de bactérias contaminantes, do agente coagulante, assim como proteinases endógenas presentes naturalmente no leite também podem contribuir nessa etapa (BALDINI, 1998; SOUSA; ARDO; MCSWEENEY, 2001; PERRY, 2004).

As alterações na textura dos queijos vêm por meio da hidrólise da matriz proteica, do aumento da capacidade de retenção de água pela quebra das ligações peptídicas e, conseqüentemente, da liberação dos grupos carboxílico e amino (UPADHYAY *et al.*, 2004). Outras mudanças que ocorrem na etapa da maturação incluem a diminuição do conteúdo de água, do potencial de oxidação e mudanças no pH, o que dificulta a multiplicação e/ou permanência de microorganismos, principalmente dos patogênicos (MARTINS, 2006).

Dito isto, as expressões “profundidade” e “extensão” são utilizadas para designar algumas transformações ocorridas durante a maturação. Segundo Wolfschoon-Pombo (1983), a extensão é indicativa de proteólise primária e se deve principalmente à ação proteolítica do coagulante sobre as caseínas do queijo, e como resultado têm-se peptídeos de alto e médio peso molecular. O índice de extensão da proteólise (IEP) é empregado na avaliação da composição final e da qualidade do produto. Já o índice de profundidade da proteólise (IPP) verifica a formação de substâncias nitrogenadas de baixo peso molecular a partir da hidrólise daquelas liberadas na extensão. Os compostos característicos são aminoácidos, aminas, oligo-peptídeos, dentre outros.

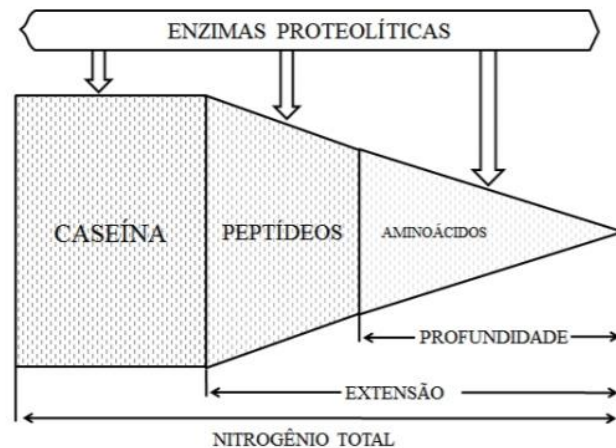


Figura 2. Extensão e profundidade da proteólise. Fonte: Wolfschoon-Pombo, 1983

A atividade proteolítica e sua natureza durante a maturação variam de acordo com o tipo do queijo, as enzimas envolvidas no processo, assim como as condições ambientais de maturação (MCSWENEY, 2004). Öner e colaboradores (2005), estudando o queijo Turco branco, observaram IEP que variou entre 7,20% a 16,74% durante 105 dias de maturação sob refrigeração a 5-6 °C. Niro e colaboradores (2017) encontraram IPP de até 18,8%, 19,8% e 7,8% para queijos Cacciocavallo maturados por 120 dias e elaborados com leite bovino, ovino e caprino, respectivamente. A grande diferença entre os índices dos queijos analisados pode ser devido às particularidades dos leites de cada espécie, como o perfil de caseínas e enzimas presentes.

### 3.4 Maturadores/afinadores de queijos artesanais

O afinador, ou *affineur* na língua francesa, é a pessoa encarregada por aperfeiçoar e terminar a maturação dos queijos. Esse profissional é responsável por definir o tempo de maturação do produto, os fatores que irão garantir a sua qualidade e as suas particularidades sensoriais e essa atividade requer grande conhecimento sobre o comportamento dos queijos nas diversas condições de temperatura e umidade. Figura rara e ainda não reconhecida, o afinador vem ganhando espaço no Brasil graças à valorização da cura de queijos e maior demanda dos consumidores por produtos *gourmet*.

As técnicas de maturação podem incluir o controle de temperatura e umidade, a lavagem dos queijos em bebidas alcoólicas, adição de especiarias, crescimento de fungos, passagem em carvão, dentre tantas outras que só dependem da criatividade do afinador.

Diferente dos produtores, que têm como matéria-prima o leite cru, para os afinadores, o queijo recém produzido é seu produto bruto. A busca dessa matéria-prima geralmente recai sobre queijos jovens e que possuam grande potencial de transformação. Dessa forma, o afinador deve ter sensibilidade e conhecimento suficientes para saber se aquele determinado queijo será bom dentro de alguns dias, meses ou anos. Para assegurar que o produto final seja de boa qualidade, é necessário cuidado ao escolher o queijo que será maturado, ou seja, conhecer a procedência do produto, o leite utilizado em sua elaboração e a forma de sua produção. Além disso, as técnicas e o ambiente em que será realizada a maturação são fundamentais e devem ser controlados com rigor. Existe quem utilize espaços dentro de sua própria casa e até mesmo grutas, bunkers ou cavernas.

O queijo é um alimento vivo e, portanto, susceptível a mudanças ocasionadas por diversos fatores intrínsecos e extrínsecos. A matéria-prima de baixa qualidade e eventuais erros cometidos ao longo do processo de maturação podem levar ao desenvolvimento de microorganismos não desejáveis à microbiota e a modificações físicas e químicas que comprometam a qualidade sensorial dos queijos e que podem ser nocivos à saúde humana.

A Lei estadual nº 23.157 de 2018 dispõe sobre a produção e comercialização dos queijos Artesanais de Minas Gerais e define como entreposto o estabelecimento destinado ao recebimento, à maturação, à afinação, ao acondicionamento, à armazenagem, à rotulagem e à expedição de queijos artesanais, podendo ou não estar inclusa a etapa de fracionamento. Os entrepostos devem respeitar o período mínimo de maturação pertencente ao QMA de cada região e estão sob inspeção e fiscalização do IMA. Cumprindo o prazo, o queijo pode ser embalado e distribuído (MINAS GERAIS, 2018). Os entrepostos de maturação atendem à demanda de muitos produtores que não têm espaço suficiente para realizar a maturação de todos os queijos por eles produzidos.

Este documento legal diferencia a maturação da afinação, caracterizando a primeira como a etapa na qual ocorrem alterações físicas, químicas e sensoriais relacionadas ao amadurecimento do queijo, e necessárias para a definição de identidade do produto. Enquanto a afinação é a etapa na qual ocorrem alterações que transformam as características do produto por meio da utilização de técnicas específicas.

Há referência ao termo maturador ou afinador no art. 10 da referida Lei, mas somente como possíveis responsáveis pelo estabelecimento do entreposto. Dessa forma, o maturador ou



afinador que desenvolve suas atividades fora de queijarias e entrepostos registrados é um profissional não regulamentado no Brasil e, portanto, seus produtos não são fiscalizados ou inspecionados pelos órgãos oficiais, trazendo consigo uma importante questão de saúde pública.

### 3.5 Qualidade físico-química de queijos artesanais

O estudo da qualidade físico-química nos permite compreender a identidade dos queijos e avaliar se estão em conformidade com os padrões legais. A composição do queijo reflete fortemente a qualidade da matéria-prima, a técnica de fabricação empregada, as condições ambientais que envolvem o produto, além da microbiota presente durante a maturação.

A legislação do queijo Minas Artesanal indica alguns parâmetros físico-químicos a serem observados, como o teor de umidade de até 45,9%, classificando o QMA como queijo de média umidade (BRASIL, 1996; MINAS GERAIS, 2002).

Tabela 1. Padrões físico-químicos estabelecidos pela Lei 14.185 de 2002 e pela Portaria 146 de 1996

<b>Parâmetro</b>	<b>Padrão legal</b>
Umidade (%)	Máximo de 45,9
Presença de amido	Negativa
Atividade de fosfatase alcalina	Positiva

Fonte: Brasil, 1996; Minas Gerais, 2002.

Silva e colaboradores (2011) avaliaram queijos artesanais coletados em 120 propriedades da microrregião da Canastra com 8 dias de maturação e os teores médios encontrados foram: 43,63% de umidade, 28,15% de gordura, 49,86% de gordura no extrato seco (GES) e 23,90% de proteína. Com base no teor de umidade os queijos se enquadrariam como de média umidade e pelo teor de GES como gordos. Também foram verificados os índices de extensão e profundidade da proteólise, sendo os resultados 12,28% e 9,47% respectivamente. Estes parâmetros apresentaram elevados coeficientes de variação que podem ser explicados pela grande variedade de micro-organismos do pingo, bem como a utilização em quantidades indiscriminadas de diferentes tipos de coalho pelos produtores (SILVA *et al.*, 2011).

Em estudo envolvendo QMA da região do Cerrado, os valores de umidade variaram de 36,9% a 44,9% ao longo de 23 dias de maturação e o teor de GES decaiu de 38,86% para 35,9%. Os queijos analisados se enquadraram todos como média umidade e semi-gordos (OLIVEIRA *et al.*, 2017). Sales (2015) avaliando as características do QMA de Araxá observou que os queijos

foram classificados como de média umidade até os sete dias de maturação, e como de baixa umidade quando tinham entre 14 a 57 dias, independentemente da estação seca ou chuvosa.

### 3.6 Qualidade microbiológica de queijos artesanais

A qualidade microbiológica dos queijos é de grande importância por estar relacionada à saúde pública. O queijo se destaca como grande problema na questão higiênico-sanitária por ser extremamente manipulado durante sua elaboração e, portanto, mais passível de ser contaminado. Queijos artesanais ainda estão mais susceptíveis à contaminação por serem elaborados com leite cru e pela tecnologia empregada em sua produção que proporciona uma intensa manipulação dos produtos durante o processamento e maturação.

Os micro-organismos presentes nos queijos podem ser classificados como desejáveis e indesejáveis, divididos por sua vez em deteriorantes e patogênicos. As particularidades do produto e as características do ambiente estão ligadas aos gêneros e espécies que estarão presentes, uma vez que cada micro-organismo tem requerimentos nutricionais e ambientais específicos (JAY, 2012).

O consumo de queijos contaminados pode trazer danos à saúde da população, como por exemplo os casos de intoxicações alimentares e gastroenterites que são frequentes no país. Dessa forma, micro-organismos indicadores e patogênicos são utilizados na detecção de possíveis contaminações. Segundo Landgraf (2008), os indicadores fornecem informações sobre a ocorrência de contaminações de origem fecal, sendo os mais comuns os coliformes a 30 e a 45 °C. Dentre os patogênicos, *Salmonella* spp. é responsável por causar infecções de origem alimentar tanto em países em desenvolvimento, como nos desenvolvidos. *Staphylococcus aureus* é um micro-organismo produtor de toxinas termoestáveis capazes de causar intoxicação mesmo se o leite utilizado na elaboração dos queijos estiver sido pasteurizado. Outro patógeno que pode estar presente em leite e derivados é *Listeria* spp., causadora de febre, mal-estar, diarreia e quadros que comprometam o sistema nervoso.

Dentre a microbiota desejável encontra-se o grupo das BAL. Estes micro-organismos são responsáveis pela fermentação e desenvolvimento da acidez durante a formação do coágulo e durante a maturação dos queijos. Outra atribuição importante às BAL é a inibição da microbiota patogênica dos queijos mediante competição por nutrientes, produção de substâncias

antimicrobianas e pela diminuição do pH associada à produção de ácido lático (PINTO *et al.*, 2009; PERIN *et al.*, 2012).

O QMA possui uma microbiota muito rica e complexa, e isso se deve ao fato de ser elaborado com leite cru, pela inclusão do soro-fermento também rico em micro-organismos e pela etapa de maturação artesanal. Nos últimos anos estudos vêm sendo realizados acerca da microbiota destes queijos, mostrando que o QMA possui bactérias benéficas à saúde humana, mas uma série de micro-organismos patogênicos também têm sido identificados (ALMEIDA *et al.*, 2012; MARTINS *et al.*, 2015; PEREIRA *et al.*, 2017; SANTOS *et al.*, 2017).

As análises requeridas pela legislação brasileira para micro-organismos não desejáveis em QMA são: contagem de coliformes a 30 e a 45 °C, contagem de *Staphylococcus* coagulase positivo, pesquisas de *Salmonella* spp. e de *Listeria* spp., como apresentadas na tabela a seguir (BRASIL, 1996; MINAS GERAIS, 2008).

Tabela 2. Padrões microbiológicos estabelecidos para inspeção do queijo Minas Artesanal

Parâmetros	Padrão legal
Coliformes a 30°C (UFC/g)	5,0 x 10 <sup>3</sup>
Coliformes a 45°C (UFC/g)	5,0 x 10 <sup>2</sup>
<i>Staphylococcus</i> coagulase positivo (UFC/g)	1,0 x 10 <sup>3</sup>
<i>Salmonella</i> spp.	Ausência
<i>Listeria</i> spp.	Ausência

Fonte: Brasil, 1996; Minas Gerais, 2008.

A microbiota patogênica ou não desejável dos queijos artesanais vem sendo avaliada em diversas pesquisas no país. Pereira e colaboradores (2017) detectaram *Listeria* spp. em 33,33% (3/10) das amostras de queijo artesanal colonial analisadas aos 30 dias de maturação. Em função dos dados obtidos foi recomendado respeitar o período mínimo de 60 dias de maturação para a comercialização e consumo do produto.

Os coliformes a 30 °C, também conhecidos como coliformes totais, são um grupo de micro-organismos capazes de fermentar a lactose e produzirem gás a 35 °C em 24-48 horas. Os coliformes a 45 °C são considerados um subgrupo dos coliformes a 30 °C e estes fermentam a lactose a 44,5-45,5 °C no período de até 48 horas. O principal representante deste subgrupo é a *Escherichia coli*, que possui origem exclusivamente fecal, mas os gêneros *Enterobacter* e *Klebsiella* também estão incluídos (JAY, 2012). *E. coli* são comumente encontradas no intestino de animais e humanos, e embora existam estirpes não patogênicas, algumas delas são responsáveis por causar severas gastroenterites (PINTO, 2004).

Em trabalho avaliando a qualidade microbiológica de queijos artesanais serranos, houve identificação de coliformes a 30 °C em 58,33% (63/108) das amostras e em 59,26% (64/108) delas para coliformes a 45 °C. Observou-se diminuição ( $p < 0,05$ ) das populações após os 30 e 45 dias de maturação, respectivamente (MELO *et al.*, 2013). A diminuição das contagens ao longo da maturação ocorre devido aos fenômenos de diminuição da atividade de água, aumento da concentração de sal e acidificação do meio de cultura. Essa tendência pode ser verificada em vários estudos envolvendo queijos artesanais (DORES *et al.*, 2013; SALES, 2015; FIGUEIREDO, 2018).

O gênero *Staphylococcus* spp. é encontrado com frequência nos estudos envolvendo queijos elaborados com leite cru (FAVA *et al.*, 2012; FERREIRA *et al.*, 2016, JOHLER *et al.*, 2018). A presença destas bactérias em leite e derivados lácteos aponta para condições precárias de higiene durante a elaboração dos produtos, assim como sugere a existência de animais com mastite no rebanho. Humanos podem ser portadores assintomáticos de *Staphylococcus*, portanto a manipulação dos queijos na elaboração e durante a maturação deve ser realizada de forma extremamente higiênica (JOAQUIM *et al.*, 2016).

Carmo *et al.* (2002) notificou intoxicações alimentares em Minas Gerais causadas por enterotoxinas de *Staphylococcus* coagulase positivo e negativo. As análises de um dos surtos mostraram a produção das toxinas SEA, SEB e SEC, sendo que as contagens do micro-organismo variaram de  $2,4 \times 10^3$  até  $2,0 \times 10^8$  UFC/g em leite cru e queijo fresco produzido com leite não pasteurizado. A legislação brasileira não determina a pesquisa de toxinas estafilocócicas, apenas a contagem de *Staphylococcus* coagulase positivo, porém sabe-se que *Staphylococcus* coagulase negativo são também capazes de produzir estas toxinas (BORELLI *et al.*, 2006).

*Staphylococcus aureus* foram confirmados em 33,9% (19/56) das amostras de queijos artesanais comercializados em Goiânia, sendo que 44,8% dos isolados das amostras apresentaram os genes codificadores de enterotoxinas SEH, SEO, SEG, SEM, SEN e SEC (FERREIRA *et al.*, 2016). Sales (2015) não detectou enterotoxinas em nenhum dos QMA de Araxá analisados na época das chuvas, apesar das altas contagens de *Staphylococcus* coagulase positivo presentes nas amostras. Martins (2006) e Dores (2007) também não identificaram enterotoxinas ao avaliarem QMA da região do Serro e Canastra.

Os bolores e leveduras não fazem parte da microbiota a ser analisada requerida pela legislação do QMA, mas são micro-organismos normalmente presentes nos queijos artesanais. Eles fazem

parte da microbiota secundária dos queijos e podem apresentar características lipolíticas e proteolíticas, contribuindo com o sabor e textura destes produtos (ARAÚJO, 2004). Apesar de contribuírem para a qualidade sensorial dos queijos, estes micro-organismos podem levar à sua deterioração, trazendo sabores desagradáveis e produção de gás (BORELLI *et al.*, 2016).

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Amostragem**

O experimento contou com a participação voluntária de três profissionais responsáveis pelos cuidados de afinação/maturação de queijos Minas artesanais produzidos em propriedades rurais localizadas nas regiões de Araxá (afinador A), Canastra (afinador C) e Cerrado/MG (afinador B), mas que executam a afinação em dependências próprias, na região metropolitana de Belo Horizonte.

Cada afinador forneceu uma peça de queijo nos seguintes tempos de maturação: 1, 10, 20 e 30 dias, sendo este o maior tempo relatado por eles, como o praticado em seus locais de afinação. Ao longo do experimento foram analisadas quatro repetições por afinador. O dia 1 de maturação representou o dia em que os queijos chegaram ao afinador, independentemente da data em que foram elaborados na propriedade rural. Vale ressaltar que o período entre a produção e começo da maturação foi padronizado por afinador, de acordo com a rotina já realizada por eles.

Os tempos médios de produção com que os queijos chegavam aos afinadores e ao laboratório para a realização das análises variou entre 14 a 21 dias para o afinador A e entre 5 a 7 dias para os afinadores B e C. Cada queijo era proveniente de uma só propriedade rural.

As amostras do dia 1 foram transportadas para o Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal da Escola de Veterinária da UFMG (DTIPOA/EV/UFMG) e imediatamente encaminhadas aos procedimentos de análise. Queijos das mesmas partidas das quais as amostras do dia 1 foram coletadas continuaram no estabelecimento para maturação ou afinação até os demais dias, quando foram novamente coletados e analisados, nos tempos propostos acima. As coletas e análises aconteceram entre os meses de maio e setembro de 2019.

Retirou-se de cada queijo uma amostra para posterior envio ao Laboratório de Zoonoses Bacterianas da Universidade de São Paulo (USP), onde foi realizada a pesquisa de *Listeria* spp.

Tais amostras foram acondicionadas em temperatura de congelamento de -18°C para serem encaminhadas.

Os resultados das análises, juntamente com um relatório esclarecendo a situação da qualidade do queijo produzido, foram encaminhados aos maturadores ao final da pesquisa e foi realizada discussão para esclarecimento dos dados obtidos.

## **4.2 Visitas e observação de boas práticas**

O ambiente de maturação de cada um dos maturadores foi visitado uma vez durante o experimento, sendo observadas as técnicas de maturação utilizadas e as práticas higiênicas de produção, a fim de obter-se possível suporte aos resultados relatados.

## **4.3 Análises laboratoriais realizadas nos queijos**

### **4.3.1 Análises físico-químicas**

Visando avaliar os efeitos da maturação sobre os parâmetros físico-químicos dos queijos, foram realizadas determinações de pH (BRASIL, 2018b), do índice da acidez titulável, teores de umidade pelo método A, cinzas, cloretos pelo método argentométrico (BRASIL, 2006a), frações nitrogenadas pelo método de Kjeldhal (AOAC, 1995) e matéria gorda pelo método de Gerber (ISO 3433). Para cálculo da gordura no extrato seco total (GES) utilizou-se a equação:  $\% \text{ GES} = (\% \text{ de gordura}) / (\% \text{ sólidos totais}) \times 100$ . As análises físico-químicas foram realizadas em triplicata.

#### **4.3.1.1 Frações nitrogenadas**

Os teores percentuais (m/m) de nitrogênio total (NT), nitrogênio solúvel em pH 4,6 (NS) e nitrogênio solúvel em ácido tricloroacético (NSTCA) a 12% (m/v) foram determinados pelo método de Kjeldhal, segundo a técnica descrita pela AOAC - Association of Official Analytical Chemists (1995). O fator de correção utilizado para cálculo do teor proteico foi de 6,38. Para o cálculo do índice de extensão (IEP =  $\text{NS} / \text{NT} * 100$ ) e do índice de profundidade de proteólise (IPP =  $\text{NSTCA} / \text{NT} * 100$ ) foram empregadas as fórmulas citadas por Wolfschoon-Pombo (1983).

O preparo da amostra procedeu-se conforme metodologia de Pereira *et al.* (2001), em que 10 g de queijo, 80 mL de água destilada a 40-50 °C e 40 mL de citrato de sódio 0,5 mol L<sup>-1</sup> foram transferidos para agitador elétrico por alguns minutos, até a mistura se tornar homogênea e então ser transferida para um balão volumétrico de 200 mL. O volume do balão foi completado com água destilada (solução A).

**Nitrogênio total:** Alíquotas de 5 mL da solução A foram retiradas para posterior digestão, destilação e titulação pelo método oficial de Kjeldhal.

**Nitrogênio solúvel em pH 4,6:** Para a determinação do nitrogênio solúvel em pH 4,6, 100 mL da solução A foram transferidos para um béquer e 10 mL de ácido clorídrico 1,41 mol L<sup>-1</sup> e 15 mL de água destilada foram adicionados. O pH dessa mistura foi determinado e corrigido para 4,6 com hidróxido de sódio 0,1 mol. A suspensão foi filtrada com papel filtro Whatman n° 42 e do filtrado foram retiradas as alíquotas de 5 mL para serem digeridas.

**Nitrogênio solúvel em TCA 12%:** 50 mL da solução A foram transferidos para um béquer com posterior adição de 50 mL de ácido tricloroacético 24% e repouso por 15 minutos. A suspensão foi filtrada com papel filtro Whatman n° 42 e do filtrado foram retiradas as alíquotas para digestão.

#### 4.3.2 Análises microbiológicas

Para a detecção de coliformes a 30 °C, *E. coli*, *Staphylococcus* spp. e *Staphylococcus* coagulase positivo, bolores e leveduras e bactérias ácido-láticas foram utilizadas alíquotas de 25 g das amostras de queijos diluídas em 225 mL de salina peptona 0,1%. Dessa diluição de 1:10 foram preparadas as diluições subsequentes transferindo 1 mL da diluição anterior para 9 mL de diluente (salina peptona 0,1%). As diluições utilizadas variaram em decorrência dos resultados dos tempos de análise iniciais e de testes realizados previamente.

##### 4.3.2.1 Contagem de bactérias ácido-láticas

Alíquotas de 0,1 mL de determinadas diluições foram inoculadas, com auxílio da alça de Drigalski, em ágar Man-Rogosa-Sharpe (MRS). As placas foram incubadas em estufa a 37 °C por 48 horas em aerobiose (RESENDE *et al.*, 2011).

#### **4.3.2.2 Contagem de coliformes a 30 °C e *Escherichia coli***

A contagem foi realizada pelo método rápido Petrifilm® EC da 3M - método oficial da AOAC nº 991.14 (AOAC, 2005). Alíquotas de 1 mL das diluições das amostras de queijo foram inoculadas nas placas. As placas foram incubadas em aerobiose, a 37 °C, por 24 e 48 horas para leitura das colônias. Colônias avermelhadas associadas à presença de gás foram contadas como coliformes totais (coliformes a 30 °C) e as colônias azuis associadas a bolhas como *E. coli*.

#### **4.3.2.3 Pesquisas de *Staphylococcus spp.* e *Staphylococcus coagulase positivo***

Alíquotas de 0,1 mL de determinadas diluições foram inoculadas, com auxílio da alça de Drigalski, em ágar Baird-Parker enriquecido com emulsão de gema de ovo e telurito de potássio. As placas foram incubadas a 37 °C por 48 horas e em seguida foi realizada a contagem de colônias presentes para a enumeração de *Staphylococcus spp.* As colônias foram classificadas como típicas ou atípicas para a pesquisa de *Staphylococcus coagulase positivo*. Em placas contendo apenas um tipo de colônia foram selecionadas cinco delas para serem inoculadas individualmente em tubos contendo 5 mL de Brain Heart Infusion (BHI). No caso de haver dois tipos de colônias presentes, foram selecionadas e inoculadas três de cada tipo em caldo BHI. Os tubos de BHI foram incubados a 37 °C por 24 horas e após esse período 300 µL dessa suspensão foram adicionados em tubo estéril, assim como a mesma quantidade de plasma de coelho reconstituído. Por fim, após incubação por 24 horas e a 37 °C, foi verificada a presença ou ausência de coagulação e turbidez no interior dos tubos para determinação de *Staphylococcus coagulase positivo* (BRASIL, 2003).

#### **4.3.2.4 Contagem de bolores e leveduras**

Alíquotas de 0,1 mL de determinadas diluições foram inoculadas, com auxílio da alça de Drigalski, em ágar batata dextrose 2% (PDA) adicionado de ácido tartárico 1% estéril. As placas foram incubadas invertidas por sete dias 25 °C (BRASIL, 2003).

#### **4.3.2.5 Pesquisa de *Listeria spp.***

A pesquisa de *Listeria spp.* foi realizada conforme metodologia adaptada da IN 62 (BRASIL, 2003). Foram utilizadas alíquotas de 25 g dos queijos para homogeneização em 225 mL de



salina peptonada tamponada para a primeira etapa de pré-enriquecimento. As amostras foram incubadas a 30 °C durante 48 horas. Em sequência, 0,1 mL deste caldo foi semeado em 10 mL de caldo Fraser e incubado a 30 °C por um período de 24 a 48 horas, a depender do enegrecimento do meio. Foi realizado o plaqueamento seletivo, com auxílio de alça de platina, nos meios Ágar PALCAM e Ágar tryptose com ácido nalidíxico (ATN). Após serem incubadas por 24 a 48 horas foi realizada a leitura e interpretação dos resultados.

#### **4.3.2.6 Pesquisa de *Salmonella* spp.**

Foram diluídas 25 g das amostras em sacos stomacher para homogeneização contendo 225 mL de salina peptonada tamponada 1%. Logo após, as amostras diluídas permaneceram em temperatura ambiente por uma hora e foram incubadas em estufa a 37 °C por 24 horas, sendo esta a etapa de pré-enriquecimento.

Posteriormente, para o enriquecimento seletivo, foram transferidos 1 mL e 0,1 mL das amostras para caldo Selenito Cistina e Rappaport Vassiliadis, respectivamente. Os tubos com caldo foram incubados em banho maria a 41 °C, por 24 horas. Com auxílio de alça de níquel cromo foram estriadas alíquotas sobre meios sólidos seletivos para *Salmonella* spp., sendo eles: ágar verde brilhante vermelho de fenol lactose sacarose (BPLS), ágar *Salmonella*- *Shigella* (SS) e ágar Hektoen entérico (HE). Após 24 horas de incubação a 37 °C, foram selecionadas colônias típicas para serem inoculadas em meio ágar Rugai modificado, pelo mesmo período e temperatura de incubação anterior (PESSOA; SILVA, 1972). Os tubos suspeitos tiveram suas colônias selecionadas, estriadas e incubadas em ágar nutriente por 24 horas, a 37 °C. Como procedimento final, foi realizada a adição de salina peptonada 0,85% para teste de confirmação sorológica por meio do soro *Salmonella* polivalente (BRASIL, 2003).

#### **4.4 Delineamento experimental e análises estatísticas**

As análises foram realizadas separadamente por afinador e utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado (DIC).

Foi realizada a análise de variância para verificar o efeito do período de maturação sobre os parâmetros microbiológicos e físico-químicos dos queijos e as médias foram testadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. A análise de regressão verificou a significância dos efeitos linear e quadrático do período de maturação sobre todos os parâmetros estudados.

Estimou-se os coeficientes de correlação de Pearson entre as variáveis. Quando necessário, para atender as premissas na análise de variância, foi realizada a transformação logarítmica.

Os dados foram analisados pelo software R Core Team (2019) e os gráficos construídos utilizando-se software Microsoft Excel 365.

## **5. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **5.1 Particularidades de cada processo de afinação**

Os queijos dos três afinadores analisados neste experimento eram QMA em sua origem, provenientes de três regiões distintas de Minas Gerais (Araxá, Canastra e Cerrado). Optou-se por utilizar a nomenclatura “queijo Artesanal de Minas Gerais”, pois após a retirada da propriedade produtora e maturação/afinação em ambiente não habilitado os queijos não se enquadravam mais nas definições legais do QMA.

Além disso, ainda que os termos maturação e afinação sejam diferenciados pela Lei nº 23.157 de 2018, os dois serão utilizados sem distinção neste trabalho, pois ainda não é claro o limite de onde termina uma etapa e se inicia a outra.

Apesar das condições de maturação/afinação terem sido esclarecidas antes da realização do experimento, algumas mudanças precisaram ser realizadas por parte dos afinadores.

#### **5.1.1 Queijo A**

O queijo A, proveniente da micro-região de Araxá, era maturado em prateleiras móveis de madeira (pinho), viradas de lado uma vez por semana. Quinzenalmente as prateleiras eram retiradas e lavadas para remoção de sujeira e gordura. Os queijos eram limpos e virados de três em três dias com auxílio de papel toalha e espátula de madeira. Quando havia muita umidade os queijos eram limpos com esponja de cozinha (pelo lado áspero) para remoção de mofo. Vale salientar que os queijos eram rotacionados pelas prateleiras com certa frequência, dessa forma, não permaneciam na mesma posição por toda a maturação/afinação.

Em 3 repetições o queijo foi recebido com 14 dias de produção e em uma repetição com 21 dias. Houve variações no peso do queijo A durante o período de análises. O queijo que inicialmente era coletado pesava em média 1 kg, mas após três (3/16) coletas o afinador passou

a enviar as peças pela metade e nas duas últimas repetições peças muito menores, com cerca de 300 g cada.

A porta da sala em que os queijos eram maturados permanecia aberta durante o dia e era fechada somente à noite, portanto, havia entrada de luz solar diretamente na sala e nos queijos. Pôde-se notar uma janela acima das prateleiras com árvores muito próximas. Foi observada a presença de insetos na sala, principalmente formigas, como pode ser observado na figura 3.



Figura 3. Sala de maturação/afinação do queijo A. Fonte: arquivo pessoal



Figuras 4 e 5. Janelas no interior da sala com comunicação com árvore externa e presença de formiga em uma das prateleiras. Fonte: arquivo pessoal

Foi relatado que em dias com temperaturas altas um ou dois ventiladores são ligados na sala, mas não diretamente nos queijos para não haver ressecamento da casca.

### 5.1.2 Queijo B

O queijo B, da micro-região do Cerrado, pesava cerca de 230 g e era recebido com cinco a sete dias de produção. Era considerado um queijo de casca lavada pelo afinador, sendo maturado

dentro de caixas plásticas fechadas, em temperaturas constantes entre 11 a 13 °C, alta umidade relativa, permanecendo sobre um pano durante todo o período de maturação.

Após a produção o queijo permanecia em ambiente refrigerado, tanto na propriedade, quanto no momento de transporte.

Os queijos eram colocados em caixas plásticas, sendo quatro unidades em cada uma delas. As caixas e o pano abaixo dos queijos eram higienizados somente ao final da maturação, após 30 dias do recebimento de cada lote de queijo.

As lavagens e viragens dos queijos eram realizadas três vezes por semana numa mistura que incluía salmoura com 4 a 5% de sal e ocasionalmente a adição de pingo vindo da propriedade onde os queijos eram elaborados. A mistura era realizada na proporção de 50%-50%. A salmoura ou a mistura da salmoura e pingo eram mantidos em potes de vidro dentro das geladeiras, assim eram utilizados em outros queijos por período de tempo indeterminado.



Figura 6. A) Interior da geladeira de maturação B) Recipiente da mistura salmoura e pingo C) Termostato acima de uma das geladeiras D) Visão de uma das geladeiras contendo as caixas com queijos em seu interior. Fonte: arquivo pessoal

### 5.1.3 Queijo C

O queijo C, da micro-região da Canastra, era recebido com cinco a sete dias após sua produção e as suas condições de maturação também foram alteradas. No início os queijos eram maturados

em temperatura ambiente, mas após as duas primeiras repetições a maturação foi realizada sob refrigeração com temperatura controlada de 16 °C e umidade relativa do ar indo de 80% a saturada. O peso padrão do queijo C era de 1,1 kg.

As lavagens eram realizadas em água corrente não tratada de uma a duas vezes por semana, a critério do afinador. Após as lavagens, era feita a secagem em papel toalha. Os queijos eram virados diariamente e as prateleiras de plástico lavadas semanalmente.



Figura 7. Interior da geladeira utilizada como ambiente de maturação em parte do experimento. Fonte: arquivo pessoal

## 6.1 Características físico-químicas

### 6.1.1 Umidade

O teor de umidade dos queijos A e C apresentou diferença ( $P < 0,05$ ) ao longo da maturação, ao contrário do que ocorreu com o queijo B ( $P > 0,05$ ) que permaneceu com valores constantes. A redução da umidade é um evento esperado em queijos maturados, como apontam diversos outros trabalhos com QMA (OLIVEIRA, 2014; MARTINS *et al.*, 2015; SALES, 2015; FERRAZ, 2016; FIGUEIREDO, 2018).

Tabela 3. Valores médios e coeficientes de variação (CV) de umidade em queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por afinadores da região metropolitana de Belo Horizonte

Umidade	Afinador A		Afinador B		Afinador C	
	Média (%)	CV (%)	Média (%)	CV (%)	Média (%)	CV (%)
Dias de maturação						
1	27,40 <sup>A</sup>	17,9	49,80 <sup>A</sup>	5,0	54,20 <sup>A</sup>	9,6
10	24,50 <sup>AB</sup>	45,9	48,20 <sup>A</sup>	6,7	48,60 <sup>AB</sup>	8,4
20	20,90 <sup>AB</sup>	33,8	48,10 <sup>A</sup>	6,9	44,10 <sup>B</sup>	8,1
30	19,20 <sup>B</sup>	26,4	47,30 <sup>A</sup>	7,1	43,10 <sup>B</sup>	12,5

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

Diferentes fatores podem afetar a umidade da massa durante o beneficiamento dos queijos. O corte da massa está ligado à dessoragem, a forma em que a prensagem é realizada pode favorecer a perda de umidade, assim como a etapa de salga (PINHO *et al.*, 2004). O tamanho da peça do queijo também é fator determinante, já que peças maiores concentram umidade em seu interior por um período maior (MARTINS, 2006). Sabe-se também que temperaturas mais elevadas contribuem para a perda de água dos queijos durante a maturação (MARTINS, 2006; ONER *et al.*, 2006).

O queijo A era recebido pelo afinador com 14 a 21 dias de produção, por isso já apresentava no primeiro dia de afinação umidade reduzida. A maturação em temperatura ambiente em uma sala que permitia a entrada de luz solar na parte da tarde e as variações no peso das peças ao longo das análises podem ter influenciado na velocidade e intensidade da perda de água destes queijos. As alterações no tamanho e redução do peso do queijo ao longo do experimento explicam os altos coeficientes de variação verificados.

As lavagens constantes, baixas temperaturas e alta umidade relativa do ar criadas no microambiente em que ocorria a maturação do queijo B podem ter favorecido a menor perda de água entre os períodos analisados ( $P > 0,05$ ).

Martins (2006) verificou que os tempos e o ambiente de maturação influenciaram diretamente no percentual de umidade dos QMA do Serro. Os queijos maturados sob refrigeração foram considerados de alta umidade, com valores entre 46,0 a 54,9%, enquanto que aqueles maturados a temperatura ambiente foram de média a baixa umidade a partir dos 18 dias de maturação. Dores (2007) constatou que à temperatura ambiente a umidade dos QMA da Canastra diminuiu ( $P < 0,01$ ), ao passo que em temperatura de refrigeração a 8°C esse parâmetro não foi alterado ( $P > 0,01$ ).

As condições de maturação também foram alteradas para o queijo C. O fato de ter sido maturado a princípio em um ambiente com alta umidade e após a maturação ter sido realizada sob refrigeração a 16 °C e umidade relativa do ar indo de 80% a saturada, pode ter contribuído para a manutenção da umidade durante os 30 dias de análise.

Devido a não existência de legislações específicas que abordem os parâmetros físico-químicos e microbiológicos dos QAMG, as comparações ao longo deste trabalho foram feitas com base na legislação do QMA e no Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos.

A legislação estadual estabelece o limite máximo de 45,9% de umidade em QMA, dessa forma, os teores de umidade do queijo A se encontraram dentro do limite máximo exigido desde o primeiro dia; o queijo somente C a partir de 20 dias, enquanto o queijo B não se enquadrava em nenhum dos tempos analisados (MINAS GERAIS, 2008).

A legislação federal define padrões de classificação dos queijos de acordo com o seu conteúdo de umidade (BRASIL, 1996). Dessa forma, o queijo A se enquadraria como de baixa umidade e o B como de alta umidade em todos os períodos analisados. Enquanto o queijo C seria classificado como de alta umidade até os 10 dias de maturação e de média umidade após esse período.

Os resultados constantes do teor de umidade do queijo B não permitiram que a análise de regressão fosse realizada. A redução da umidade ao longo da maturação dos queijos A e C pode ser observada na figura 8. Os coeficientes de determinação são inferiores aos relatados em outros estudos envolvendo QMA (MARTINS, 2006; DORES, 2007; OLIVEIRA, 2014; MARTINS *et al.*, 2015; SALES, 2015; FERRAZ, 2016; FIGUEIREDO, 2018). Os baixos coeficientes de determinação encontrados para a umidade e alguns outros parâmetros podem estar relacionados ao pequeno tamanho amostral deste experimento. Para que a análise de regressão seja realizada é necessário que o conjunto de dados seja grande o suficiente para fornecer poder e precisão para o teste e assim estimar a força do relacionamento entre x (tempo de maturação), a variável independente, e y (umidade e outros constituintes do queijo), a variável dependente.

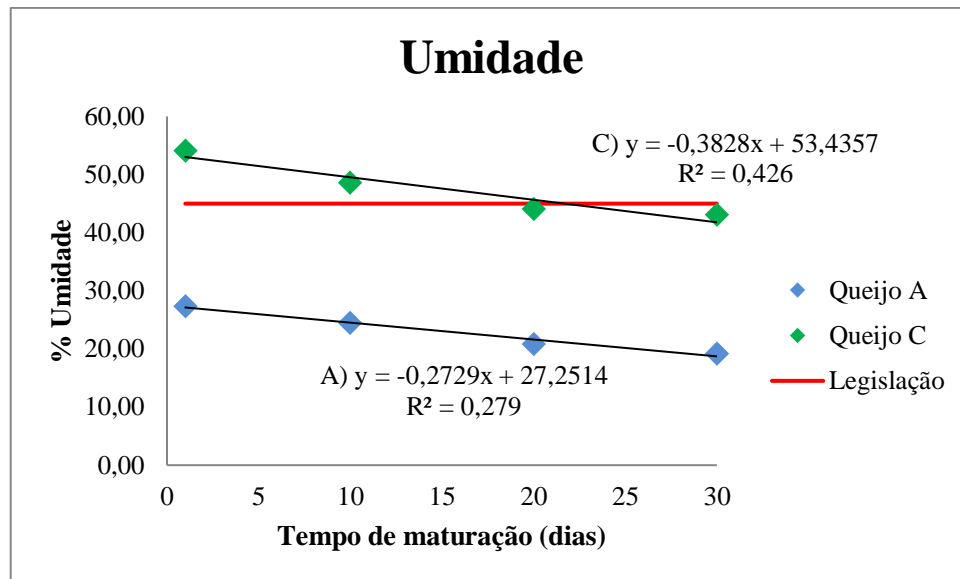


Figura 8. Evolução da umidade dos queijos A e C durante a maturação por 30 dias

### 6.1.2 Extrato seco total

Os valores de extrato seco total dos queijos A e C foram influenciados pelo tempo de maturação ( $P < 0,05$ ), enquanto que para o queijo B não houve diferença estatística ( $P > 0,05$ ), provavelmente devido à conservação dos queijos em condições de temperatura e umidade controladas. Os resultados apresentaram perfil semelhante ao observado na umidade, porém com concentração e elevação dos valores de extrato seco, como esperado. No decorrer da maturação, com a evaporação da água e perda de umidade há concomitante aumento do teor dos sólidos totais (Tabela 4). A análise de correlação mostrou interação forte e negativa entre a umidade e o extrato seco. Para o queijo A e B o coeficiente foi -1,00 e para o C -0,91.

Tabela 4. Valores médios e coeficientes de variação (CV) do extrato seco total em queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por afinadores da região metropolitana de Belo Horizonte

Extrato seco total	Afinador A		Afinador B		Afinador C		
	Dias de maturação	Média (%)	CV (%)	Média (%)	CV (%)	Média (%)	CV (%)
1		72,60 <sup>A</sup>	7,4	50,20 <sup>A</sup>	5,0	46,00 <sup>A</sup>	11,1
10		75,50 <sup>AB</sup>	14,0	51,80 <sup>A</sup>	6,3	55,20 <sup>AB</sup>	7,2
20		79,10 <sup>AB</sup>	9,0	51,90 <sup>A</sup>	6,4	55,60 <sup>AB</sup>	6,5
30		80,80 <sup>B</sup>	6,1	52,70 <sup>A</sup>	6,4	56,40 <sup>B</sup>	9,8

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



O aumento do extrato seco total é um fenômeno esperado e relatado em outras pesquisas (OLIVEIRA, 2014; SALES, 2015; FIGUEIREDO, 2018). Esse parâmetro engloba a soma dos constituintes do queijo com exceção da água.

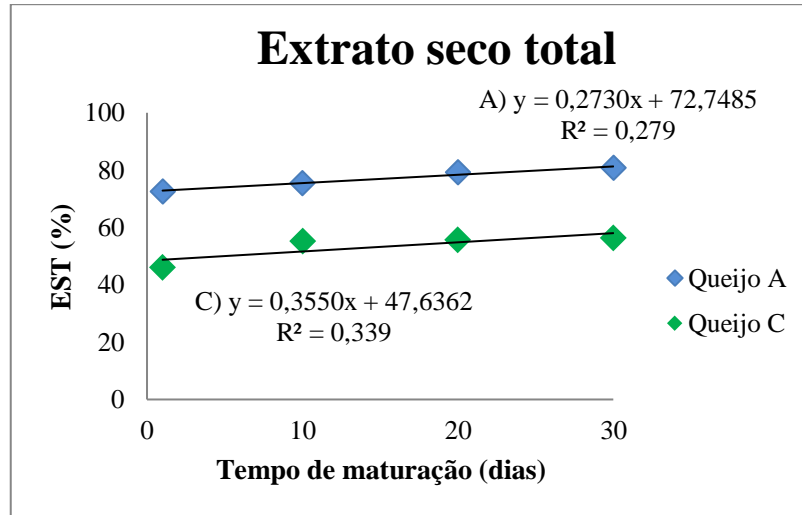


Figura 9. Evolução do extrato seco total dos queijos A e C durante a maturação por 30 dias

### 6.1.3 Teores de gordura e gordura no extrato seco

Os resultados dos teores percentuais de gordura e gordura no extrato seco apresentaram diferença ( $P < 0,05$ ) entre os períodos de maturação, como pode ser observado nas tabelas 5 e 6. Houve aumento gradativo desses parâmetros ao longo dos dias, o que é esperado, pois à medida que o percentual de umidade dos queijos diminui, os constituintes presentes no extrato seco total (EST) tendem a se concentrar (Figura 10). Houve correlação positiva e forte entre o EST e o teor de gordura do queijo A ( $r = 0,92$ ) e C ( $r = 0,72$ ).

Tabela 5. Valores médios e coeficientes de variação (CV) de gordura em queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por afinadores da região metropolitana de Belo Horizonte

Gordura	Afinador A		Afinador B		Afinador C		
	Dias	Média (%)	CV (%)	Média (%)	CV (%)	Média (%)	CV (%)
1		42,40 <sup>A</sup>	18,1	28,20 <sup>A</sup>	12,0	28,40 <sup>A</sup>	13,8
10		44,90 <sup>AB</sup>	13,9	29,70 <sup>A</sup>	6,8	33,90 <sup>B</sup>	7,8
20		46,70 <sup>AB</sup>	15,0	36,50 <sup>B</sup>	5,3	36,90 <sup>B</sup>	13,3
30		47,70 <sup>B</sup>	10,8	37,60 <sup>B</sup>	4,7	38,50 <sup>B</sup>	7,1

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

A gordura é um dos constituintes do leite que mais sofre alteração, a depender de fatores como a alimentação animal, estação do ano, número de crias, etc. (DORES, 2007). O queijo A

apresentou teores mais elevados de gordura em comparação aos demais, assim como maiores CV. Além desses fatores já citados em relação ao teor de gordura no leite, deve-se lembrar que o dia em que o queijo A se iniciou a partir dos 14 a 21 dias após serem produzidos, conseqüentemente os sólidos totais já estavam mais concentrados, incluindo o percentual de gordura. Os CV elevados também podem ser explicados pela não uniformidade dos tamanhos e pesos dos queijos ao longo das quatro repetições, dessa forma, a perda de umidade não ocorreu da mesma maneira durante a maturação.

Ferraz *et al.* (2016) relataram teores de gordura que variaram de 22,2% no início da maturação de QMA da Serra da Canastra a 30,7% com 28 dias, sendo estes queijos maturados no centro de qualidade de Medeiros - MG. Valores inferiores aos encontrados no queijo C, proveniente da mesma região, o que pode estar relacionado aos maiores tempos de maturação observados no experimento em questão.

O coeficiente de determinação do queijo A, de 0,196, é muito inferior ao encontrado em outras pesquisas envolvendo QMA de diferentes regiões (OLIVEIRA, 2014; SALES, 2015; FIGUEIREDO, 2018). Ou seja, apenas 19,6% dos dados de teores de gordura podem ser explicados pelo tempo de maturação (Figura 10).

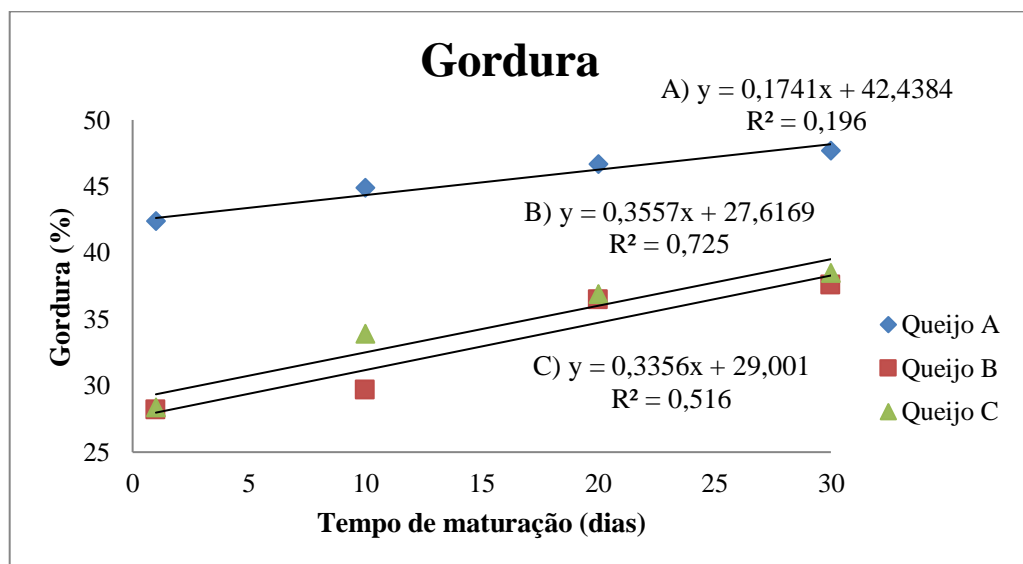


Figura 10. Evolução da gordura dos queijos A, B e C durante a maturação por 30 dias

A Portaria 146 (BRASIL, 1996) estabelece critérios de classificação para queijos de acordo com o conteúdo de matéria gorda no extrato seco. Dessa forma, queijos que contenham o mínimo de 60% de gordura no extrato seco são definidos como extra gordos, gordos são os que apresentam percentual entre 45,0 a 59,9%, semi-gordos aqueles entre 25,0 e 44,9%, nos queijos

magros a variação é de 10,0 a 24,9% e os queijos desnatados são aqueles que contêm menos de 10%. Com base nessa classificação, o queijo C se enquadraria como extra gordo em todas as fases da maturação, já os queijos A e B seriam considerados gordos até os 10 dias de maturação e extra gordos dos 20 aos 30 (Tabela 6).

Tabela 6. Valores médios e coeficientes de variação (CV) dos teores de gordura no EST em queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por afinadores da região metropolitana de Belo Horizonte e classificação perante portaria 146/1996 do MAPA

<b>GES</b>		<b>Afinador A</b>	
Dias de maturação	Média (%)	CV (%)	Classificação
1	57,90 <sup>A</sup>	12,1	Gordo
10	59,60 <sup>A</sup>	2,8	Gordo
20	60,10 <sup>A</sup>	6,2	Extra gordo
30	60,10 <sup>A</sup>	5,1	Extra gordo
<b>GES</b>		<b>Afinador B</b>	
Dias de maturação	Média (%)	CV (%)	Classificação
1	56,60 <sup>A</sup>	12,7	Gordo
10	59,30 <sup>AB</sup>	7,2	Gordo
20	70,70 <sup>AB</sup>	11,7	Extra gordo
30	71,50 <sup>B</sup>	8,7	Extra gordo
<b>GES</b>		<b>Afinador C</b>	
Dias de maturação	Média (%)	CV (%)	Classificação
1	61,80 <sup>A</sup>	7,8	Extra gordo
10	61,90 <sup>A</sup>	7,7	Extra gordo
20	64,90 <sup>A</sup>	11,2	Extra gordo
30	67,40 <sup>A</sup>	13,4	Extra gordo

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

#### 6.1.4 Proteína

Houve concentração dos sólidos totais em resposta à redução da umidade dos queijos, porém esse aumento gradativo não foi significativo em relação ao teor de proteínas ( $P > 0,05$ ), como detalhado na tabela 7.

Tabela 7. Valores médios e coeficientes de variação (CV) de proteína em queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por afinadores da região metropolitana de Belo Horizonte

Proteína	Afinador A		Afinador B		Afinador C		
	Dias	Média (%)	CV (%)	Média (%)	CV (%)	Média (%)	CV (%)
1		22,00 <sup>A</sup>	9,1	15,50 <sup>A</sup>	10,5	15,40 <sup>A</sup>	12,5
10		26,60 <sup>A</sup>	9,1	17,10 <sup>A</sup>	6,2	18,50 <sup>A</sup>	15,6
20		26,10 <sup>A</sup>	11,3	17,40 <sup>A</sup>	8,9	18,50 <sup>A</sup>	17,2
30		26,60 <sup>A</sup>	13,1	18,40 <sup>A</sup>	14,0	18,80 <sup>A</sup>	9,6

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

A influência do tempo de maturação sobre os teores de proteínas em QMA foi relatada em outros trabalhos. Ferraz (2016) verificou variações nos valores médios proteicos de 22,0% para 29,2% em 28 dias de maturação de QMA da Serra da Canastra. Oliveira *et al.* (2018) observaram um aumento ( $P < 0,05$ ) de 19,82% aos três dias para 24,06% aos 31 em QMA do Serro maturados em fazendas e fabricados com pingo. Estes valores são superiores aos encontrados nos queijos B e C. Entretanto, os resultados encontrados por Vale, Rodrigues e Martins (2018) em QMA do Serro, que foram de 17,76% a 21,42% em 31 dias de maturação, são similares aos verificados neste experimento para estes queijos.

Os baixos coeficientes de determinação encontrados na análise de regressão sugerem que boa parte dos dados não sejam explicados pela influência da maturação (Figura 11).

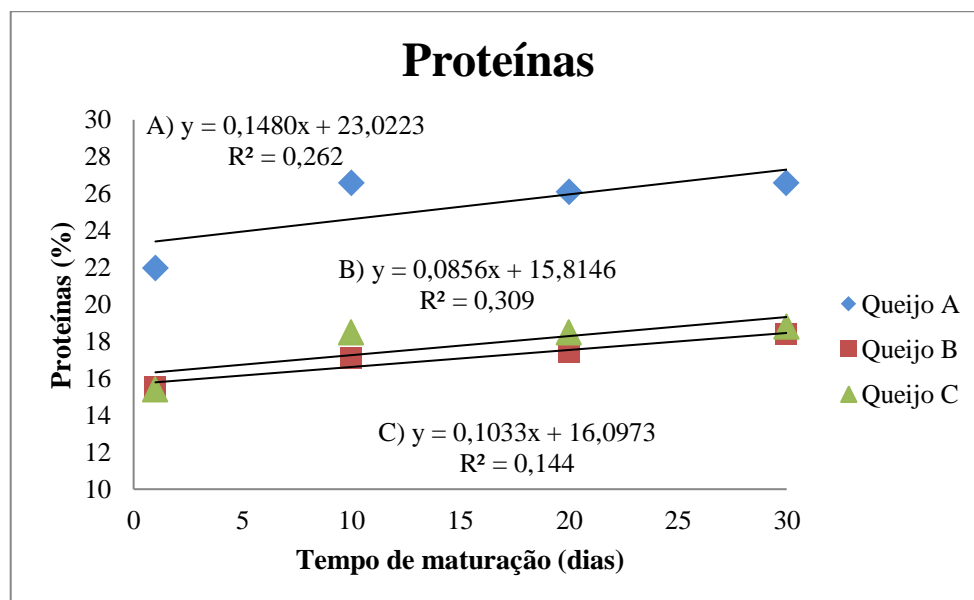


Figura 11. Evolução dos teores de proteínas dos queijos A, B e C durante a maturação por 30 dias

### 6.1.5 Índices de extensão (IEP) e profundidade (IPP) da proteólise

Os valores médios dos IEP e IPP estão representados na tabela 8.

Tabela 8. Valores médios e coeficientes de variação dos IEP e IPP em queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por afinadores da região metropolitana de Belo Horizonte

Índice de extensão da proteólise						
Dias de maturação	Afinador A		Afinador B		Afinador C	
	Média	CV (%)	Média	CV (%)	Média	CV (%)
1	10,39 <sup>A</sup>	33,2	8,52 <sup>AB</sup>	29,0	7,56 <sup>A</sup>	35,1
10	10,28 <sup>A</sup>	15,9	7,47 <sup>A</sup>	21,7	11,52 <sup>B</sup>	14,6
20	11,19 <sup>A</sup>	53,2	10,72 <sup>AB</sup>	10,1	15,00 <sup>C</sup>	6,4
30	9,89 <sup>A</sup>	22,7	11,66 <sup>B</sup>	27,9	16,03 <sup>C</sup>	15,5
Índice de profundidade da proteólise						
Dias de maturação	Média	CV (%)	Média	CV (%)	Média	CV (%)
	Média	CV (%)	Média	CV (%)	Média	CV (%)
1	10,83 <sup>A</sup>	45,5	5,40 <sup>A</sup>	15,0	6,65 <sup>A</sup>	8,4
10	9,43 <sup>A</sup>	39,5	6,22 <sup>A</sup>	9,6	10,26 <sup>A</sup>	2,9
20	7,57 <sup>A</sup>	27,4	8,24 <sup>A</sup>	20,3	12,17 <sup>AB</sup>	23,0
30	7,80 <sup>A</sup>	40,0	8,21 <sup>A</sup>	34,0	12,27 <sup>B</sup>	12,2

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

Embora temperaturas elevadas favoreçam o avanço da proteólise, valores constantes ( $P > 0,05$ ) de IEP e IPP e coeficientes de variação elevados foram observados no queijo A, o único maturado em temperatura ambiente durante todo o período experimental. As variações do peso das peças dos queijos e conseqüentemente da umidade podem estar relacionadas a estes resultados, o que pode ser comprovado pela correlação positiva moderada entre a umidade e IEP ( $r = 0,56$ ) e forte entre umidade e IPP ( $r = 0,85$ ).

O IEP dos queijos dos afinadores B e C foram influenciados pelo tempo de maturação ( $P < 0,05$ ). Segundo Lourenço Neto (2013) a proteólise é mais intensa em queijos que possuam maior teor de umidade. Com base nisto, pode-se observar que os percentuais de IEP dos queijos B e C ao fim da maturação são maiores se comparados aos do A. Estes queijos apresentaram umidade elevada, sendo classificados como queijos de alta e média umidade. A umidade está relacionada ao desenvolvimento dos micro-organismos e a atividade enzimática durante a maturação. Apesar disso, não houve correlação entre os parâmetros umidade e índices de proteólise do queijo B, já para o queijo C encontrou-se correlação negativa entre umidade e IEP ( $r = -0,65$ ) e IPP ( $r = -0,70$ ).

As enzimas proteolíticas têm maior ação em pH entre 5,0 e 6,5, sendo que meios ácidos reduzem sua atividade (UPADHYAY *et al.*, 2004). À medida que avança a proteólise há um aumento dos valores de pH devido a formação de compostos alcalinos. No presente trabalho, o pH do queijo A variou de 4,89 a 4,98 durante os 30 dias de maturação, por sua vez, os valores de pH

dos queijos B e C oscilaram de 5,05 a 6,49 e 5,06 a 5,41, respectivamente. Diante disto, pode-se supor que a umidade e pH influenciaram os resultados obtidos.

O IEP, medido pela relação percentual entre NS/NT, quantifica os peptídeos de alto peso molecular oriundos da quebra das proteínas resultantes, principalmente, da ação do coalho e das proteinases naturais do leite (NIRO *et al.*, 2017). Portanto, a variação no comportamento deste índice entre os queijos dos três afinadores pode remeter à falta de padronização no uso do coalho no momento da elaboração dos produtos, assim como o tempo médio de chegada dos queijos para o dia um das análises, que eram diferentes entre si, além do percentual proteico inicial do leite utilizado pelos produtores.

No caso do IPP, que verifica a formação de substâncias de baixa massa molecular advindas da degradação primária das proteínas pela ação proteolítica de enzimas microbianas, a variação pode ser devido ao uso em diferentes quantidades do pingo e diferentes concentrações de microorganismos presentes neste fermento láctico.

Assim como ocorreu com o IEP do queijo A, Vale *et al.* (2018) não encontraram diferenças ( $P > 0,05$ ) nos índices de QMA do Serro elaborados com pingo e maturados por um período de três a 31 dias. A variação foi de 15,42% a 27,53% no último dia de análise, resultados superiores aos encontrados no presente trabalho. O IPP aumentou ao longo do tempo ( $P < 0,05$ ), chegando a 22,06%. Lima *et al.* (2008) também relataram altos IPP em QMA da Serra do Salitre que variaram entre 7,54 - 12,86% a 15,36 - 20,92% em 60 dias de maturação.

Silva *et al.* (2011), avaliando QMA da Canastra elaborados com diferentes tecnologias, observaram IEP e IPP menores nos queijos produzidos sem uso do pingo. A média geral para IEP dos queijos que eram maturados por oito dias foi de 12,28% e de 9,27% para IPP. Martins *et al.* (2015) encontraram valores de IPP que variaram de 5,68% a 10,19% no período da seca e 7,33% a 12,85% no chuvoso para QMA do Serro maturados de 8 a 63 dias.

Em estudo avaliando QMA da Serra da Canastra, Ferraz (2016) observou valores de IEM entre 5,5% (um dia de maturação) e 9,2% (28 dias) nos queijos maturados em centro de qualidade e valores entre 5,5% (um dia de maturação) e 9,9% (28 dias) para aqueles maturados nas propriedades rurais. A média do IPM foi de 4,28% nas amostras do centro de qualidade e 4,98% nas das propriedades. Os valores, considerados baixos, foram atribuídos a uma menor atividade enzimática dos queijos, possível influência da baixa atividade de água encontrada no trabalho, inferiores a 0,84 ao fim da maturação.

### 6.1.6 Teores de cloretos

Os teores de cloretos dos queijos pesquisados não apresentaram diferença significativa ( $P>0,05$ ) entre os dias de maturação analisados (Tabela 9).

Tabela 9. Valores médios e coeficientes de variação dos teores de cloretos em queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por afinadores da região metropolitana de Belo Horizonte

Cloretos Dias	Afinador A		Afinador B		Afinador C	
	Média (%)	CV (%)	Média (%)	CV (%)	Média (%)	CV (%)
1	1,79 <sup>A</sup>	49,1	1,51 <sup>A</sup>	31,0	2,28 <sup>A</sup>	14,2
10	1,75 <sup>A</sup>	39,7	1,52 <sup>A</sup>	20,3	2,21 <sup>A</sup>	18,9
20	1,74 <sup>A</sup>	44,1	1,62 <sup>A</sup>	15,4	2,09 <sup>A</sup>	16,3
30	1,59 <sup>A</sup>	48,9	1,74 <sup>A</sup>	25,0	2,23 <sup>A</sup>	23,4

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

A variação das respostas se deve ao fato do processamento do queijo ser artesanal, dessa forma, a quantidade de sal adicionada pode não ter sido exatamente a mesma nas quatro repetições analisadas, além do tempo de salga não ser bem definido. Geralmente, a quantidade empregada de sal é resultado da preferência e dos saberes adquiridos pelos produtores rurais. Isso pode ser constatado pelos elevados coeficientes de variação, principalmente no queijo A, que reduziu o tamanho do seu produto ao longo do experimento. Os queijos do afinador B, além da etapa padrão de salga na queijaria, passavam por lavagens em salmoura com 4-5% de sal três vezes por semana.

Ferraz *et al.* (2016), ao analisarem amostras de queijo Minas artesanal da Canastra maturados nas propriedades e no centro de qualidade de Medeiros – MG, verificaram que o teor de cloretos aumentou ( $P<0,05$ ) durante a maturação nos dois ambientes. O teor de sal das amostras do centro de qualidade variou de 1,04% no primeiro dia a 1,74% ao fim de 28 dias. A variação das amostras maturadas nas propriedades foi de 1,04% a 1,61%.

O teor de cloretos do queijo desempenha papel importante na fabricação, regulando a multiplicação dos micro-organismos e a atividade enzimática através da promoção da sinérese do soro e consequente redução de umidade e atividade de água. Além disso, contribui na formação das características sensoriais (SILVA; TUNES; CUNHA, 2012).

### 6.1.7 Cinzas

Não foi encontrada diferença estatística significativa ( $P>0,05$ ) entre os períodos de maturação para os teores de cinzas, conforme pode ser observado na tabela 10.

Tabela 10. Valores médios e coeficientes de variação (CV) dos teores de cinzas em queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por afinadores da região metropolitana de Belo Horizonte

Cinzas	Afinador A		Afinador B		Afinador C		
	Dias	Média (%)	CV (%)	Média (%)	CV (%)	Média (%)	CV (%)
1		4,97 <sup>A</sup>	12,7	3,68 <sup>A</sup>	15,6	4,48 <sup>A</sup>	14,2
10		5,11 <sup>A</sup>	19,8	3,80 <sup>A</sup>	3,6	4,42 <sup>A</sup>	5,5
20		4,94 <sup>A</sup>	15,7	4,17 <sup>A</sup>	8,8	4,17 <sup>A</sup>	12,9
30		4,91 <sup>A</sup>	19,8	4,36 <sup>A</sup>	14,1	4,38 <sup>A</sup>	11,1

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

Resultados divergentes foram encontrados por Figueiredo (2018), que relatou aumento ( $P<0,05$ ) dos valores médios de cinzas, de 3,76 a 5,59%, ao longo dos 63 dias de maturação de QMA da Serra do Salitre – MG. Em estudo na microrregião de Montes Claros – MG, o valor médio de cinzas em queijos artesanais com 8 dias de fabricação foi de 4,05% (Pinto *et al.*, 2016).

Segundo Furtado (1990), o papel das cinzas é essencial no que se refere à textura final dos queijos. As cinzas ou o resíduo mineral fixo, representam as substâncias inorgânicas presentes nos alimentos. Nos queijos, o principal constituinte mineral é o cálcio, mas também tem-se a presença do NaCl depositado sob a superfície dos queijos durante a salga, tendo origem externa ao leite. Assim sendo, a dessoragem que ocorre nos primeiros dias de maturação pode ser responsável por carrear alguns resíduos minerais, levando a uma redução acentuada do percentual de cinzas nos queijos, que provavelmente não pôde ser observada neste experimento, já que os queijos dos três afinadores eram analisados com um período superior a cinco dias, após a dessoragem ter sido finalizada.

### 6.1.8 Acidez titulável

Os valores de acidez titulável dos queijos A e C não foram influenciados pelos períodos de maturação ( $P>0,05$ ) (Tabela 11). A acidez titulável quantifica o ácido láctico produzido, principalmente, pelas BAL. Apesar das contagens de BAL dos três tipos de queijos terem permanecido constantes durante o período experimental, o queijo B apresentou diferenças ( $P<0,05$ ) na acidez entre os tempos estudados, com uma tendência de declínio.



Tabela 11. Valores médios e coeficientes de variação (CV) de acidez titulável em queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por afinadores da região metropolitana de Belo Horizonte

Acidez (% ácido láctico)	Afinador A		Afinador B		Afinador C		
	Dias	Média (%)	CV (%)	Média (%)	CV (%)	Média (%)	CV (%)
	1	0,57 <sup>A</sup>	40,7	0,32 <sup>A</sup>	10,5	0,34 <sup>A</sup>	8,9
	10	0,66 <sup>A</sup>	30,4	0,16 <sup>B</sup>	38,5	0,32 <sup>A</sup>	40,2
	20	0,93 <sup>A</sup>	78,1	0,06 <sup>AB</sup>	50,0	0,56 <sup>A</sup>	72,1
	30	0,44 <sup>A</sup>	54,4	0,05 <sup>C</sup>	28,8	0,21 <sup>A</sup>	36,7

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

Oliveira (2014) e Martins *et al.* (2015) não encontraram diferenças ( $P > 0,05$ ) nos valores de acidez titulável durante a maturação de QMA de Campo das Vertentes e do Serro nos períodos de chuva e seca. Em estudo realizado por Melo *et al.* (2013) a acidez titulável em queijos artesanais Serranos se manteve estável ( $P > 0,05$ ) durante a maturação. Resultados contrários aos encontrados nestes trabalhos e no presente experimento foram descritos por Sales (2015) e Figueiredo (2018), em estudos sobre QMA de Araxá e Serra do Salitre.

Fernandes *et al.* (2011), analisando QMA de Rio Paranaíba – MG, microrregião do Cerrado, relataram valor médio de acidez titulável de 0,21%, variando entre 0,06% a 0,42%, valores semelhantes aos obtidos nos queijos B, provenientes da mesma microrregião.

Os altos valores dos CV obtidos para este parâmetro podem ser atribuídos ao leite cru utilizado, que tem uma microbiota endógena própria e única, e à falta de padronização do uso do pingo entre os produtores dos QMA usados como matéria-prima dos afinadores, que pode conter bactérias com perfis diferentes e em diferentes concentrações.

Considerando a análise de regressão entre o tempo de maturação e os valores de acidez titulável, o coeficiente de determinação do queijo C, de 0,391 (regressão linear), foi semelhante ao apontado por Sales (2015) no período de seca. Os resultados do queijo A não se encaixaram nos modelos da análise de regressão. Em relação ao queijo B, o modelo que melhor descreveu as variações dos valores de acidez ao longo do tempo foi o de regressão com efeito quadrático (Figura 12).

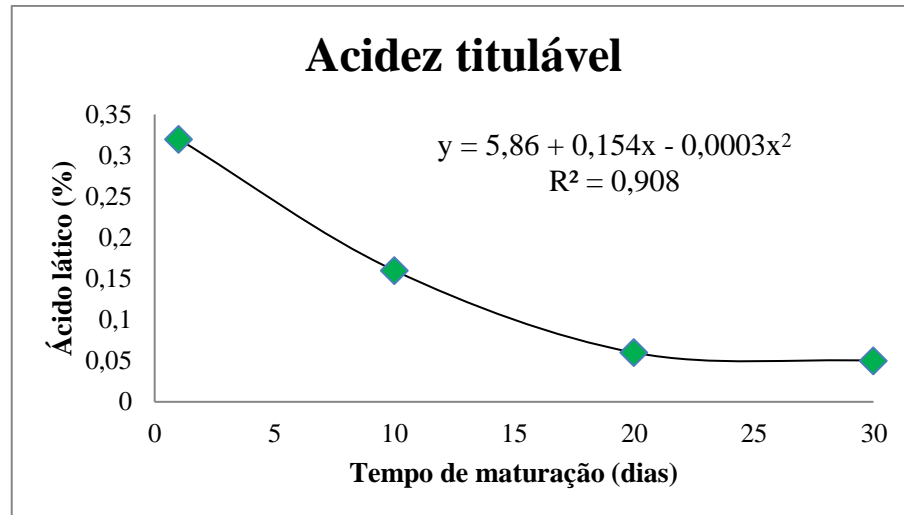


Figura 12. Evolução da acidez titulável do queijo B durante a maturação por 30 dias

### 6.1.9 pH

Os valores médios e os coeficientes de variação de pH dos queijos dos afinadores A, B e C estão apresentados na tabela 12. Para os queijos A e C não foi constatada influência dos dias de maturação ( $P > 0,05$ ), já para o queijo B houve aumento do pH ao longo dos 30 dias ( $P < 0,05$ ).

Tabela 12. Valores médios e coeficientes de variação (CV) do pH em queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por afinadores da região metropolitana de Belo Horizonte

pH	Afinador A		Afinador B		Afinador C	
	Média	CV (%)	Média	CV (%)	Média	CV (%)
Dias						
1	4,89 <sup>A</sup>	3,9	5,05 <sup>A</sup>	2,6	5,06 <sup>A</sup>	3,0
10	4,92 <sup>A</sup>	7,8	5,62 <sup>AB</sup>	6,1	5,19 <sup>A</sup>	2,4
20	4,83 <sup>A</sup>	3,8	6,04 <sup>AB</sup>	6,6	5,13 <sup>A</sup>	5,9
30	4,98 <sup>A</sup>	11,3	6,49 <sup>B</sup>	14,4	5,41 <sup>A</sup>	9,8

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

A estabilização do pH durante a maturação foi um fenômeno relatado por Oliveira (2014), que não observou diferença ( $P > 0,05$ ) nas médias dos valores no período chuvoso ao avaliar QMA da região do Campo das Vertentes durante 60 dias. Pinto *et al.* (2011) também não constataram variação dos valores de pH durante a maturação de QMA do Serro. Sabe-se que a presença de bolores e leveduras é um fator que contribui para a estabilização do pH, pois estes microorganismos utilizam o ácido láctico para ganho de energia (Pinto *et al.*, 2011).

Apesar das altas contagens de BAL, responsáveis pela acidificação inicial da matriz do queijo, verificadas no queijo B, no decorrer da maturação a degradação das proteínas pode formar

compostos alcalinos que elevam o pH do meio. Isso pode ser constatado pelos altos índices de proteólise, além disso, o queijo B era um queijo que aparentava visualmente ter intensa proteólise nos períodos finais de sua maturação (Figura 13). Verificou-se também que os valores de pH e o teor de acidez titulável do queijo B se correlacionaram de forma inversamente proporcional ( $r = -0,74$ ).



Figura 13. Queijo B após 30 dias de maturação

O comportamento do pH durante a maturação de queijos artesanais é bastante diversificado. Souza, Dalla Rosa e Ayub (2003), Sales (2015) e Figueiredo (2018) encontraram diferença estatística ( $P < 0,05$ ) e valores médios oscilantes durante todo o período de maturação de queijo artesanal Serrano, QMA da região de Araxá e da Serra do Salitre – MG. Em estudo avaliando QMA do Serro, Vale, Rodrigues e Martins (2018) relataram valores de pH que variaram entre 4,75 a 5,36 em 31 dias de maturação controlada com UR de 85% e temperatura de 20 °C. O aumento ( $P < 0,05$ ) do pH foi atribuído a atividade proteolítica, com formação de produtos alcalinos que levaram à elevação deste parâmetro.

O coeficiente de determinação encontrado para o queijo C, de 0,173, mostra que o modelo matemático não é adequado para estimar a variação do pH ao longo do tempo. Entretanto, coeficientes baixos como este também foram relatados por Oliveira (2014) e Sales (2015) no período das chuvas, com  $R^2 = 0,175$  e  $R^2 = 0,002$ , respectivamente. O queijo A não se ajustou aos modelos de regressão linear e quadrático testados, impossibilitando sua representação em gráfico.

A evolução do pH do queijo B durante a maturação pode ser vista na figura 14. O coeficiente de determinação indica que 55% dos resultados do queijo B podem ser explicados pela variação

do tempo da maturação. Apesar do valor não ser alto, condiz com o encontrado em outros trabalhos envolvendo queijos artesanais (OLIVEIRA, 2014; SALES, 2015; FIGUEIREDO, 2018).

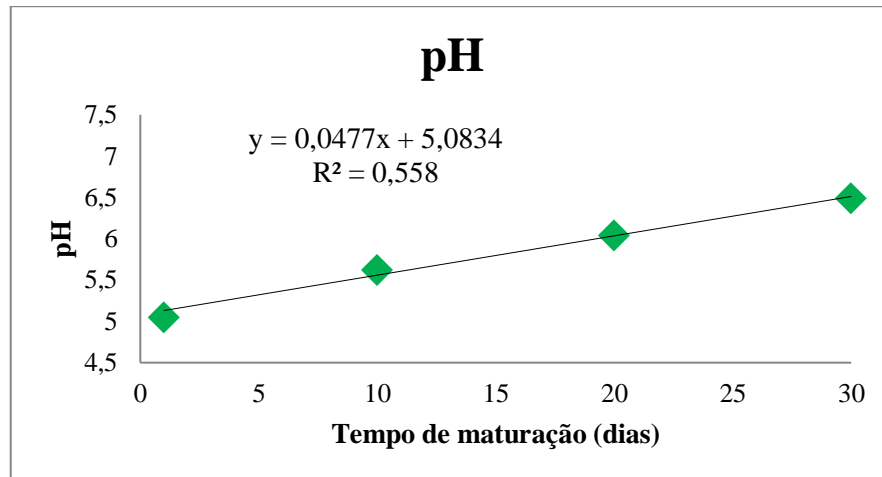


Figura 14. Evolução do pH do queijo B durante a maturação por 30 dias

## 6.2 Características microbiológicas

### 6.2.1 Bactérias ácido-láticas

As contagens de BAL em QAMG afinados fora dos locais de produção se mantiveram constantes ( $P > 0,05$ ) durante o período experimental, como observado na tabela 13. Nenhum dos modelos de regressão testados representou o fenômeno de variação das contagens de BAL no decorrer dos 30 dias de análises.

Tabela 13. Valores médios e coeficientes de variação (CV) da contagem de BAL em queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por afinadores da região metropolitana de Belo Horizonte

BAL Dias	Afinador A		Afinador B		Afinador C	
	Média (UFC/g)	CV (%)	Média (UFC/g)	CV (%)	Média (UFC/g)	CV (%)
1	$2,9 \times 10^{7A}$	97,3	$3,7 \times 10^{7A}$	152,1	$9,6 \times 10^{6A}$	76,8
10	$3,8 \times 10^{6A}$	86,4	$5,2 \times 10^{7A}$	23,4	$2,2 \times 10^{7A}$	66,1
20	$3,4 \times 10^{7A}$	147,1	$9,3 \times 10^{7A}$	81,9	$1,4 \times 10^{7A}$	71,2
30	$5,7 \times 10^{7A}$	166,9	$7,1 \times 10^{7A}$	60,8	$3,7 \times 10^{7A}$	81,2

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

As contagens de BAL em queijos artesanais ou QMA não são requeridas pela legislação, entretanto, a presença destes micro-organismos é desejável e de importância significativa no desenvolvimento das propriedades organolépticas do produto final (JAY, 2012). As BAL atuam na fermentação da lactose, na redução do pH e podem produzir bacteriocinas com atividades antagonistas contra patógenos encontrados em alimentos, tais como *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* (CAMPAGNOLLO *et al.*, 2018). Certas espécies presentes em queijos artesanais também apresentam potencial probiótico, como relatado em trabalho analisando QMA do Campo das Vertentes (SANT'ANNA *et al.*, 2017). As contagens elevadas (na ordem de  $10^7$  UFC/g) e constantes ao longo da maturação indicam que as BAL são micro-organismos predominantes na microbiota dos queijos analisados, representando um aspecto positivo para esses produtos.

Santos (2010) não encontrou diferenças ( $P > 0,05$ ) entre as médias de BAL avaliando QMA da região do Serro durante 35 dias maturados à temperatura ambiente e sob refrigeração. As contagens iniciais e finais sob refrigeração foram de  $7,9 \times 10^7$  UFC/g e  $1,1 \times 10^8$  UFC/g, respectivamente, enquanto que à temperatura ambiente  $4,8 \times 10^7$  UFC/g e  $1,5 \times 10^8$  UFC/g, valores próximos aos encontrados neste trabalho. Luiz *et al.* (2016) relataram contagens médias altas de BAL (6,4 a 9,5 log UFC/g) em QMA de Araxá nos períodos de chuva e de seca em diferentes tempos de maturação.

Em trabalho avaliando o queijo artesanal argentino de Corrientes, as BAL foram o grupo de micro-organismos mais abundante durante 30 dias, sendo que as contagens mais altas, na ordem de  $10^9$  UFC/g, foram atingidas aos sete dias de maturação sob temperatura de refrigeração (VASEK; MAZZI; GIORI, 2013).

### **6.2.2 Coliformes a 30 °C**

Os resultados das contagens de coliformes a 30 °C durante a maturação estão apresentados na tabela a seguir (Tabela 14). Não foi possível realizar o teste de comparação de médias com os dados obtidos do queijo A referentes às contagens de coliformes a 30°C e *E. coli* pois não ocorreu variação entre os valores de pelo menos dois períodos de maturação.

Tabela 14. Valores médios e coeficientes de variação (CV) da contagem de coliformes a 30 °C em queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por afinadores da região metropolitana de Belo Horizonte

C. a 30 °C	Afinador A		Afinador B		Afinador C		
	Dias	Média (UFC/g)	CV (%)	Média (UFC/g)	CV (%)	Média (UFC/g)	CV (%)
	1	1,3 x 10 <sup>3</sup>	189,6	1,6 x 10 <sup>5A</sup>	173,4	1,0 x 10 <sup>4A</sup>	154,0
	10	6,5 x 10 <sup>2</sup>	187,9	5,9 x 10 <sup>4A</sup>	177,0	1,5 x 10 <sup>3A</sup>	152,9
	20	<1,0 x 10 <sup>1</sup> est.	0	8,6 x 10 <sup>5A</sup>	182,0	1,5 x 10 <sup>3A</sup>	189,9
	30	<1,0 x 10 <sup>1</sup> est.	0	1,7 x 10 <sup>6A</sup>	189,3	9,3 x 10 <sup>2A</sup>	197,8

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

As contagens dos queijos B e C se mantiveram estáveis durante a maturação (P>0,05). Houve correlação positiva e moderada entre o teor de umidade e as contagens de coliformes a 30 °C (r = 0,53) do queijo C.

Houve diminuição das contagens do queijo A e este resultado pode estar relacionado à maturação em temperatura ambiente, que possivelmente acelerou a perda de água, e ao tempo avançado, entre 14 e 21 dias, que este queijo iniciava a maturação pelo afinador. A correlação entre umidade e coliformes a 30 °C (r = 0,66) e a 45 °C (r = 0,67) foi positiva e moderada, ou seja, à medida em que houve redução da umidade também houve das contagens destes micro-organismos.

O queijo A se enquadrou no padrão legal exigido para QMA desde o primeiro dia de análise, por outro lado, o queijo B não atingiu este padrão nem ao fim dos 30 dias, mostrando que as técnicas adotadas durante a maturação não foram eficientes para auxiliar na eliminação deste grupo de micro-organismos. Já o queijo C apresentou contagem superior no tempo um, sendo que após esse período os valores atingiram níveis aceitáveis legalmente.

A maturação sob refrigeração teve efeito sobre as contagens de coliformes a 30 °C em trabalho realizado por Martins e colaboradores (2015). As contagens destes micro-organismos em QMA do Serro foram inferiores a 1 x 10<sup>1</sup> UFC/g aos 29 dias de maturação em temperatura ambiente. Já os queijos maturados a 8 °C permaneceram com contagens altas até os 64 dias de maturação. Naquele estudo, os queijos maturados em temperatura ambiente foram classificados como de média e baixa umidade, enquanto os refrigerados permaneceram como de alta umidade durante todo o período. Situação semelhante a observada com o queijo B.

A manutenção das contagens de coliformes a 30 °C, observada no queijo B, pode estar relacionada a recontaminações que ocorreram durante as lavagens e viragens dos queijos. Estes

procedimentos eram realizados três vezes por semana e além da salmoura eventualmente era adicionado o “pingo” na mistura numa proporção de 50-50%. O pingo é o fermento lácteo natural recolhido do soro que pinga dos próprios queijos e atua na fermentação e formação de odor e sabor destes produtos. De acordo com Sant’anna *et al.* (2017), diversos microorganismos podem estar presentes no pingo, com destaque para as BAL, mas também grupos patogênicos como a *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* spp. Devido a este achado, ao fim do experimento foi realizada a análise do pingo empregado nas lavagens e as contagens de coliformes a 30 °C foram de  $5,9 \times 10^4$  UFC/g e não houve crescimento de colônias de *E. coli* ( $<1,0 \times 10^1$  est.). Esta análise confirma que o pingo estava atuando como recontaminante.

Outra fonte de contaminação ou persistência da mesma, podem ser os panos usados entre as caixas plásticas e os queijos. Estes panos permaneciam pelos 30 dias de maturação antes de serem devidamente higienizados e trocados. Além do já citado, a alta umidade, superior a 47,3% e constante durante todo o experimento, e o pH próximo à neutralidade, podem ter sido facilitadores da permanência dos coliformes no queijo B.

As recontaminações já foram relatadas por outros autores em pesquisas sobre a qualidade microbiológica do QMA. Oliveira (2014) observou que as contagens de coliformes a 30 °C se mantiveram devido a uma pós contaminação que ocorreu nos queijos de uma das propriedades pesquisadas. Os queijos frescos foram redistribuídos para as prateleiras superiores, fazendo com que o soro dos queijos frescos caísse nos mais maturados, recontaminando os demais lotes. Outro relato da autora foi a presença de moscas no interior da sala de maturação.

Como o leite utilizado na produção dos queijos artesanais não passa pela pasteurização, é necessário que haja maior empenho para que as práticas de higiene sejam devidamente seguidas. Falhas como cloração inadequada da água da queijaria e lavagem da casca do queijo com água não tratada são passíveis de resultar na recontaminação. De acordo com Ferraz (2016) a presença de coliformes a 30 °C indica má qualidade higiênica na obtenção da matéria-prima, durante a fabricação e/ou período de maturação.

Ferraz *et al.* (2016), avaliando a qualidade de QMA da Serra da Canastra, relatou que os queijos maturados nas propriedades atingiram os parâmetros da legislação mineira após 13 dias de maturação, enquanto os maturados no Centro de Qualidade após 15 dias.

Soares *et al.* (2018) reportou que os padrões para coliformes totais em queijos artesanais de Uberlândia - MG foram atingidos quando a umidade dos queijos atingiu 40,4%, e para os

termotolerantes ocorreu com 31,7%. Após a implantação de boas práticas, as contagens atenderam os padrões legais a partir dos três dias de maturação.

### 6.2.3 *Escherichia coli*

Para o queijo A não houve multiplicação de colônias típicas de *E. coli* dos 20 aos 30 dias em nenhuma das repetições analisadas. As contagens se mantiveram estáveis durante a maturação do queijo B ( $P > 0,05$ ), assim como observado em relação aos coliformes a 30 °C. Houve redução significativa ( $P < 0,05$ ) das contagens do queijo C, o que pode ser devido ao fato deste queijo chegar mais fresco para as análises e por ter havido redução ( $P < 0,05$ ) do seu conteúdo de umidade, o que se confirma pela correlação positiva ( $r = 0,66$ ) entre o parâmetro umidade e as contagens deste micro-organismo. A tabela 15 indica os valores médios e os coeficientes de variação das contagens de *E. coli*.

Tabela 15. Valores médios e coeficientes de variação (CV) da contagem *E. coli* em queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por afinadores da região metropolitana de Belo Horizonte

<i>E. coli</i>	Afinador A		Afinador B		Afinador C		
	Dias	Média (UFC/g)	CV (%)	Média (UFC/g)	CV (%)	Média (UFC/g)	CV (%)
1		$7,8 \times 10^2$	182,0	$2,8 \times 10^{2A}$	58,0	$3,8 \times 10^{3A}$	194,7
10		$7,5 \times 10^2$	189,4	$5,4 \times 10^{1A}$	172,1	$2,5 \times 10^{3AB}$	196,8
20		$<1,0 \times 10^1$ est.	0	$5,5 \times 10^{1A}$	94,4	$3,2 \times 10^{1AB}$	138,4
30		$<1,0 \times 10^1$ est.	0	$3,2 \times 10^{1A}$	138,4	$1,0 \times 10^{1B}$	0

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

Os queijos A e C se enquadraram aos padrões legais para *E. coli* nos tempos de 20 e 30 dias. Apesar de não ter sido observada diferença ( $P > 0,05$ ) entre as contagens do queijo B e da alta umidade presente durante toda a maturação, vale destacar que desde o primeiro dia de análise os queijos atingiram os parâmetros exigidos pela legislação, com contagens inferiores a  $5,0 \times 10^2$  UFC/g, mesmo sendo estes os queijos com menor tempo (cinco dias) desde sua produção. Esse achado sugere que ainda são necessárias adequações na fonte de produção, apesar dos outros parâmetros estarem conformes, e que o uso do pingo e da salmoura durante a afinação não afetou esse parâmetro.

Ferraz *et al.* (2016) relataram que o grupo dos coliformes a 45 °C foi o que demandou maior período de maturação para adequação ao padrão legal, com 17 e 16 dias para os queijos maturados no centro de qualidade e nas propriedades, respectivamente. Oliveira (2014) encontrou contagens estáveis nos períodos da seca e chuva ao longo da maturação, entretanto,



esse achado foi associado a problemas de recontaminação. Sales (2015) verificou que os parâmetros legais foram alcançados logo no primeiro dia de maturação em análise de QMA de Araxá. Soares (2018), avaliando queijos artesanais mineiros produzidos em Uberlândia – MG, verificou que antes do treinamento de boas práticas pelos manipuladores, os queijos se enquadraram ao que é preconizado pela legislação após 12 dias de maturação, sendo que após o treinamento dos profissionais o número de dias caiu para 5. Isso mostra que a adoção de boas práticas agropecuárias e de produção pode contribuir positivamente para a diminuição da contagem deste micro-organismo.

A redução das contagens de *E. coli* e coliformes a 30 °C também pode ser decorrente de eventos relacionados ao avanço da maturação. A ação inibitória das BAL, diminuição da umidade e da atividade de água, assim como o aumento da concentração de cloreto de sódio são fatores que atuam trazendo um ambiente hostil a esses micro-organismos (DORES, 2007).

#### 6.2.4 *Staphylococcus* spp.

A maturação não foi eficiente para diminuir as contagens de *Staphylococcus* spp. Não houve diferença ( $P > 0,05$ ) entre as médias de contagens durante os períodos estudados em nenhum dos queijos analisados (Tabela 16). Esses achados concordam com outros estudos realizados com QMA (SALES, 2015; FIGUEIREDO, 2018).

Tabela 16. Valores médios e coeficientes de variação (CV) da contagem de *Staphylococcus* spp. em queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por afinadores da região metropolitana de Belo Horizonte

Dias	Afinador A		Afinador B		Afinador C	
	Média (UFC/g)	CV (%)	Média (UFC/g)	CV (%)	Média (UFC/g)	CV (%)
1	2,63 x 10 <sup>6A</sup>	150,9	5,8 x 10 <sup>6A</sup>	198,4	4,4 x 10 <sup>5A</sup>	132,8
10	1,0 x 10 <sup>6A</sup>	155,4	1,0 x 10 <sup>7A</sup>	61,6	4,7 x 10 <sup>6A</sup>	106,6
20	5,2 x 10 <sup>6A</sup>	189,3	6,2 x 10 <sup>6A</sup>	128,7	5,7 x 10 <sup>6A</sup>	167,7
30	5,1 x 10 <sup>6A</sup>	192,7	8,1 x 10 <sup>5A</sup>	82,2	1,2 x 10 <sup>6A</sup>	57,1

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

Dentre os micro-organismos requeridos pela legislação do QMA, os limites de contagem de *Staphylococcus* spp. não estão incluídos, somente os de *Staphylococcus* coagulase positivo. Porém optou-se por pesquisá-lo devido à sua importância microbiológica em alimentos. Estes micro-organismos estão frequentemente envolvidos em casos de intoxicações alimentares pela ingestão de leite cru, queijos artesanais, dentre outros produtos (JOHLER *et al.*, 2018).

As altas contagens verificadas neste experimento em todos os períodos analisados podem estar relacionadas ao risco de contaminação dos queijos por toxinas estafilocócicas. Sabe-se que *Staphylococcus coagulase negativo* também podem ser produtores destas toxinas (BORELLI *et al.*, 2006). A manutenção de *Staphylococcus* spp. pode indicar condições deficientes de higiene na obtenção do leite, na elaboração e afinação dos queijos. A respeito do queijo A, o local de afinação é desprovido de telas de proteção, além da porta permanecer aberta durante o dia, o que permite a entrada de insetos que podem disseminar micro-organismos entre os queijos.



Figura 15. Presença de insetos na janela da sala de maturação



Figura 16. Presença de insetos nas prateleiras utilizadas para maturação dos queijos

Sales (2015), avaliando a qualidade dos QMA da microrregião de Araxá, relatou que as contagens de *Staphylococcus* spp. durante a maturação variaram de  $1,4 \times 10^6$  a  $3,8 \times 10^7$  UFC/g. Figueiredo (2018) apontou contagens de até  $1,69 \times 10^7$  UFC/g em QMA maturados no Campo das Vertentes. Borelli *et al.* (2006) observou contagens variando entre  $10^3$  a  $10^8$  UFC/g em QMA da Serra da Canastra maturados por 45 dias.

### 6.2.5 *Staphylococcus coagulase* positivo

Não ocorreu diferença ( $P>0,05$ ) entre as médias das contagens de *Staphylococcus* coagulase positivo durante a maturação dos queijos A e C. As contagens destes queijos estiveram em desacordo com a legislação do QMA no tempo um de maturação, mas se enquadraram nos períodos seguintes. No queijo A somente uma amostra (1/16) do tempo 1 apresentou resultado positivo no teste de coagulase com plasma de coelho, representando 6,25% do total e atingindo o valor de  $1,4 \times 10^6$  UFC/g, o que elevou a média neste período. Para o queijo C, duas amostras do tempo um foram positivas (12,5%), com contagens de  $6,4 \times 10^4$  UFC/g e  $1,0 \times 10^4$  UFC/g.

Apesar da alta umidade presente nos queijos B, acima de 45,9% em todos os tempos estudados, nenhuma das amostras analisadas foi positiva no teste de coagulase, portanto, não foi realizado o teste de comparação de médias devido à ausência de variação (Tabela 17). A análise realizada na mistura de pingo e salmoura utilizada nas lavagens desse queijo teve resultado negativo para este micro-organismo. A ausência de *Staphylococcus* coagulase positivo neste queijo aponta para boa saúde do rebanho leiteiro que deu origem ao queijo e sugere adequação quanto às práticas de manipulação dos queijos pelo afinador. Soares (2018), em Uberlândia-MG, verificou que a implantação de boas práticas na produção do leite e fabricação dos queijos e o tempo de maturação não foram suficientes para reduzir os valores de *Staphylococcus* coagulase positivo ( $P>0,05$ ), consequência de falhas no controle da mastite e da presença desse micro-organismo na mão dos manipuladores.

Tabela 17. Valores médios e coeficientes de variação (CV) da contagem de *Staphylococcus* coagulase positivo em queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por afinadores da região metropolitana de Belo Horizonte

Dias	Afinador A		Afinador B		Afinador C	
	Média (UFC/g)	CV (%)	Média (UFC/g)	CV (%)	Média (UFC/g)	CV (%)
1	$3,5 \times 10^{5A}$	199,9	$1,0 \times 10^1$	0	$1,8 \times 10^{4A}$	165,2
10	$3,2 \times 10^{2A}$	138,4	$1,0 \times 10^1$	0	$3,2 \times 10^{2A}$	138,4
20	$3,2 \times 10^{2A}$	138,4	$1,0 \times 10^1$	0	$3,2 \times 10^{2A}$	138,4
30	$3,2 \times 10^{2A}$	138,4	$1,0 \times 10^1$	0	$3,2 \times 10^{2A}$	138,4

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

Cardoso *et al.* (2013) relatou que somente após 45 dias de maturação de QMA do Serro as contagens de *Staphylococcus* coagulase positivo estiveram abaixo do limite legal. Além disso, a enterotoxina SEC permaneceu pelos 60 dias estudados, indicando um potencial risco para os consumidores.

Em pesquisa realizada no Campo das Vertentes, Oliveira (2014) não observou redução das contagens de *Staphylococcus* coagulase positivo durante a maturação de QMA nos períodos de chuvas e seca. Os resultados variaram entre  $1,0 \times 10^4$  a  $1,1 \times 10^5$  UFC/g.

Ferraz *et al.* (2016) relataram que os queijos estudados atenderam ao padrão exigido pela legislação após 11 e 14 dias para as amostras provenientes da maturação nas propriedades e no Centro de Qualidade de Medeiros - MG.

### 6.2.6 Bolores e leveduras

Não ocorreu diferença ( $P > 0,05$ ) entre as médias das contagens de bolores e leveduras durante a maturação dos queijos B e C (Tabela 18). Diferenças ( $P < 0,05$ ) foram encontradas no queijo A ao longo da maturação. A contagem observada aos 10 dias foi inferior às demais, sendo que as médias oscilaram entre os tempos.

Tabela 18. Valores médios e coeficientes de variação (CV) da contagem de bolores e leveduras em queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por afinadores da região metropolitana de Belo Horizonte

Bol. e lev.	Afinador A		Afinador B		Afinador C		
	Dias	Média (UFC/g)	CV (%)	Média (UFC/g)	CV (%)	Média (UFC/g)	CV (%)
	1	$9,6 \times 10^{6AB}$	93,5	$3,1 \times 10^{6A}$	115,7	$1,7 \times 10^{7A}$	160,6
	10	$1,2 \times 10^{6A}$	65,1	$3,0 \times 10^{7A}$	88,2	$3,3 \times 10^{6A}$	38,5
	20	$1,3 \times 10^{7AB}$	114,1	$1,1 \times 10^{7A}$	84,8	$9,9 \times 10^{6A}$	113,8
	30	$5,5 \times 10^{6B}$	23,8	$1,7 \times 10^{6A}$	68,6	$1,6 \times 10^{6A}$	105,1

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

É esperado que ocorra crescimento de bolores e leveduras ou que suas contagens se mantenham constantes no decorrer da maturação, já que nesse processo pode haver redução de pH e redução da umidade, condições às quais estes micro-organismos são resistentes. Apesar de não ter ocorrido diminuição do pH nos queijos analisados, a redução da umidade foi significativa ( $P < 0,05$ ) nos queijos A e C, confirmando a possibilidade de melhores condições de competição desse grupo de micro-organismos.

Oliveira (2014) não constatou diferença ( $P > 0,05$ ) entre as contagens médias de bolores e leveduras durante 60 dias de maturação de QMA de Campo das Vertentes, sendo que as contagens variaram entre  $1,2 \times 10^4$  a  $2,5 \times 10^6$  UFC/g no período seco e  $1,0 \times 10^5$  a  $4,7 \times 10^6$  UFC/g no período chuvoso. Já as contagens observadas por Sales (2015) oscilaram entre os tempos, mas foram similares às encontradas por Oliveira (2014).

Vasek, Mazzi e Giori (2013), avaliando o queijo artesanal argentino de Corrientes, relatou aumento das contagens de leveduras durante os 30 dias de maturação. A presença em abundância destes micro-organismos possivelmente contribuiu para a alcalinização dos queijos, com valores observados de pH chegando a 5,5.

Recentemente vem ocorrendo grande valorização da presença superficial de fungos em queijos artesanais no Brasil, e apesar de suas propriedades benéficas, é importante que mais pesquisas sejam realizadas para verificar a inocuidade desses queijos frente à produção de micotoxinas e ocorrência de defeitos.

Não existe na legislação padrão específico para a contagem de bolores e leveduras em QMA. Apesar disso, optou-se por incluí-los nesta pesquisa por serem micro-organismos significativos no processo de maturação dos queijos artesanais. Entretanto, não foi realizada a pesquisa por gêneros ou espécies presentes.

#### **6.2.7 *Listeria* spp.**

*Listeria* spp. não foi identificada nas amostras dos queijos de nenhum dos três afinadores nos tempos de maturação propostos e repetições realizadas. Apesar de ser um micro-organismo psicrotrófico e sobreviver em queijos que são refrigerados, sua presença não foi detectada, independente da maturação ser realizada em temperatura ambiente (afinador A), sob refrigeração (afinador B) ou em condições mistas (afinador C).

Branco *et al.* (2003), avaliando a incidência de *Listeria monocytogenes* em queijos de coalho elaborados com leite pasteurizado e comercializados sob refrigeração em Fortaleza - CE, detectou o micro-organismo em 19% (16/84) das amostras. Isso mostra que a contaminação ocorreu pós processamento e perdurou durante o armazenamento em baixa temperatura dos produtos.

Soares *et al.* (2018) não observaram a presença de *L. monocytogenes* em amostras de queijos artesanais de Uberlândia – MG durante a maturação por 26 dias. O trabalho analisou queijos antes e após o treinamento de boas práticas nas propriedades.

A presença de *L. monocytogenes* em queijos tem sido associada, frequentemente, ao ambiente de processamento e ao leite utilizado na fabricação, seja cru ou com falhas na pasteurização. A capacidade de inibição de *L. monocytogenes* por BAL já foi demonstrada em diversas pesquisas

no Brasil (ALEXANDRE *et al.*, 2002; CAMPAGNOLLO *et al.*, 2018; CAVICCHIOLI *et al.*, 2017; ORTOLANI *et al.*, 2010). A ausência desse micro-organismo em queijos pode ser justificada por diversos fatores, tais como a boa qualidade da matéria-prima, condições de higiene satisfatórias e possível ação das BAL e outros micro-organismos competidores.

#### **6.2.8 *Salmonella* spp.**

Em relação à *Salmonella* spp., todas as amostras testadas apresentaram ausência do micro-organismo. A sua ausência pode ser atribuída à adoção de boas práticas de fabricação e de manipulação durante as etapas da maturação. Além disso, as contagens elevadas de BAL durante os diferentes tempos podem ter contribuído na competição e inibição deste patógeno.

Em estudo realizado em propriedades cadastradas do Campo das Vertentes e da Serra do Salitre o micro-organismo não foi detectado nas amostras analisadas durante o período seco e chuvoso (OLIVEIRA, 2014; FIGUEIREDO, 2018). Sua presença também não foi identificada em QMA do Serro de dois diferentes trabalhos (CARDOSO *et al.*, 2013; ANDRETTA *et al.*, 2019). Brooks *et al.* (2012), avaliando diferentes tipos de queijos elaborados com leite cru nos Estados Unidos, não detectou a presença de *Salmonella* spp. nas amostras analisadas. Entretanto, há trabalhos na literatura em que este micro-organismo foi identificado em queijos artesanais, conforme citações de Feitosa *et al.* (2003) e Sales (2015).

## **7. CONCLUSÕES**

Os queijos se distinguiram entre si em relação aos parâmetros físico-químicos e microbiológicos. Este comportamento já era esperado pela singularidade de cada um deles, por serem provenientes de regiões diferentes de Minas Gerais, pelo tempo em que chegavam ao início das análises, pelo ambiente de maturação em que cada um deles foi afinado e pelas diferentes técnicas empregadas na afinação dos mesmos.

De acordo com a Portaria 146/1996 o queijo A seria classificado como de baixa umidade, gordo até os dez dias de maturação e extra gordo nos tempos seguintes; o queijo B como de alta umidade, gordo até os dez dias e extra gordo dos 20 aos 30; o queijo C como de alta umidade até os dez dias de maturação e de média umidade após esse período e extra gordo em todos os tempos analisados.

Os teores de umidade do queijo A se encontraram dentro do limite máximo exigido pela legislação do QMA (45,9%) desde o primeiro dia, ao contrário do queijo B, em que os teores se mantiveram acima em todos os tempos analisados. Já o queijo C se enquadrou após 20 dias.

De modo geral, a maturação não influenciou significativamente as mudanças microbiológicas, poucos foram os parâmetros que sofreram redução ou aumento ( $P < 0,05$ ) das contagens dos micro-organismos ao longo do tempo. As contagens de BAL, coliformes a 30 °C, *Staphylococcus* spp. e *Staphylococcus* coagulase positivo dos queijos dos três afinadores se mantiveram estáveis ( $P > 0,05$ ) durante todo o período de maturação/afinação.

Não foram detectadas *Salmonella* spp. e *Listeria* spp. em nenhuma das amostras analisadas. Com 20 dias todas as amostras dos queijos A e C se enquadraram nos limites físico-químicos e microbiológicos estabelecidos pela Portaria 146 de 1996 do MAPA e pelo Decreto Estadual 44.864 de 2008, sugerindo-se o período mínimo de 20 dias de maturação desses queijos por ambos os afinadores. Por sua vez, o queijo B não se enquadrou em nenhum dos tempos propostos em relação às contagens de coliformes a 30 °C, mostrando que os 30 dias de maturação não foram eficientes em assegurar a inocuidade do produto.

Este trabalho serve como indicativo de que a maturação não deve ser usada com o intuito principal de promover a redução de micro-organismos patogênicos e indesejáveis em queijos artesanais. É fundamental que programas como o de Boas Práticas de Fabricação e Boas Práticas Agropecuárias sejam implantados, inclusive pelos afinadores, a fim de se obter produtos seguros para o consumo.

## **8. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Os queijos Artesanais de Minas Gerais maturados por afinadores possuem características singulares e variadas e representam um nicho promissor para o mercado. Diante do crescimento desta atividade, do maior interesse por parte dos consumidores e da variedade de queijos e técnicas de afinação sendo utilizadas, é imprescindível a realização de mais trabalhos científicos no país envolvendo a qualidade microbiológica e físico-química destes produtos. Seria interessante que os trabalhos futuros realizassem a pesquisa por toxinas estafilocócicas, além da pesquisa dos gêneros e espécies presentes de BAL e bolores e leveduras nos queijos. Recomenda-se que os trabalhos sejam realizados com  $n$  amostral superior ao deste experimento.

Os resultados deste estudo poderão servir como incentivo para a elaboração de legislações mais específicas que envolvam a regularização dos afinadores e a fiscalização dos queijos por eles produzidos.

## 9. REFERÊNCIAS

ALEXANDRE, D. P. *et al.* Antimicrobial activity of lactic acid bacteria from artisanal Minas cheese against indicator microorganisms. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 54, p. 424-428, 2002.

ALMEIDA, A. de C. *et al.* Caracterização da produção de queijo artesanal na região de Montes Claros, norte de Minas Gerais. *Acta Veterinaria Brasilica*, v. 6, p. 312-320, 2012.

ANDRETTA, M. *et al.* Microbial safety status of Serro artisanal cheese produced in Brazil. *Journal of Dairy Science*, v. 102, n. 12, p. 10790-10798, 2019.

AOAC International. Association of Official Analytical Chemists. *Official methods of analysis of AOAC International*, ed. 16, Washington, 1995.

AOAC International. *E. coli* count in foods - dry rehydratable film, method 991.14. In: Horwitz: *Official Methods of Analysis of AOAC International*, ed. 17. Gaithersburg, MD: AOAC International, 2005.

ARAÚJO, R. A. B. M. Diagnóstico socioeconômico, cultural e avaliação dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos do Queijo Minas Artesanal da região de Araxá. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Viçosa, 2004.

BALDINI, V. L. S. Proteólise em queijo tipo Prato durante a maturação. Dissertação (Doutorado em Ciência de Alimentos), Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

BERESFORD, T.; WILLIAMS, A. The Microbiology of Cheese Ripening. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, v. 1, p. 287-317, 2004.

BORELLI, B. M. *et al.* Enterotoxigenic *Staphylococcus* spp. and other microbial contaminants during production of Canastra cheese, Brazil, MG. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 37, p. 545-550, 2006.

BRANCO, M. A. de A. C. *et al.* Incidência de *Listeria monocytogenes* em queijo de coalho refrigerado produzido industrialmente. *Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, v. 21, n. 2, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 146, de 07 de março de 1996. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. Diário Oficial da União Federativa do Brasil, Brasília, 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa no 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, Brasília, 18 set. 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 68, 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, Brasília, 14 dez. 2006, seção 1, p.8-30, 2006a.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT): Manual técnico. Brasília, p. 184, 2006b.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 30 de 07 de agosto de 2013. Dispõe sobre a comercialização de queijos artesanais elaborados com leite cru. Diário Oficial da União, Brasília, 8 ago. 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei Nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. Diário Oficial União, Brasília, 30 mar. 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Lei nº 13.680. Altera a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, para dispor sobre o processo de fiscalização de produtos alimentícios de origem animal produzidos de forma artesanal. Diário Oficial da União, Brasília, 15 jun. 2018a.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 30, de 26 de junho de 2018. Diário Oficial da União Federativa do Brasil, Brasília, 13 jul. 2018b.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 73, de 23 de dezembro de 2019. Diário Oficial da União Federativa do Brasil, Brasília, 30 dez. 2019.

BROOKS, J. C. *et al.* Survey of raw milk cheeses for microbiological quality and prevalence of foodborne pathogens. *Food Microbiology*, v. 31, n. 5, p. 154-158, 2012.

CALVINO, I. *Palomar*. Milano: Mondadori, 1994. Tradução de Ivo Barroso. São Paulo: Companhia das Letras, 1994.

CAMPAGNOLLO, F. B. *et al.* Selection of indigenous lactic acid bacteria presenting anti-listerial activity, and their role in reducing the maturation period and assuring the safety of traditional Brazilian cheeses. *Food Microbiology*, v. 73, p. 288-297, 2018.

CARDOSO, V. M. *et al.* The influence of ripening period length and season on the microbiological parameters of a traditional Brazilian cheese. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 44, n. 3, p. 743-749, 2013.

CARMO, L. S. *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.

- CARVALHO, I. L. S. Qualidade microbiológicas de Queijo Minas Artesanal realizados pelo IMA em propriedades cadastradas no município de Medeiros – MG no ano de 2016. Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Medicina Veterinária, UNIFOR, Formiga, 2016.
- CAVICCHIOLI, V. Q. *et al.* Novel bacteriocinogenic *Enterococcus hirae* and *Pediococcus pentosaceus* strains with antilisterial activity isolated from Brazilian artisanal cheese. *Journal of Dairy Science*, v. 100, p. 2526-2535, 2017.
- CEZAR, R. D. S. *et al.* Detection of *Mycobacterium bovis* in artisanal cheese in the state of Pernambuco, Brazil. *International Journal of Mycobacteriology*, v. 5, n. 3, p. 269-272, 2016.
- CLARCK, S. *et al.* *The sensory evaluation of dairy products*. Springer, ed. 2, 2009.
- COLLINS, Y. F.; MCSWEENEY, P. L. H.; WILKINSON, M. G. Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: A review of current knowledge. *International Dairy Journal*, v. 13, p. 841-866, 2003.
- DORES, M. T. Queijo Minas artesanal da Canastra maturado à temperatura ambiente e sob refrigeração. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.
- 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*, v. 33, n. 1, p. 180-185, 2013.
- EMATER, EMPRESA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL DE MINAS GERAIS. Queijo Minas Artesanal – Mapa do Queijo 2013. Disponível em: <[http://www.emater.mg.gov.br/portal.cgi?flageb=site\\_pgn\\_downloads\\_vert&grupo=135&menu=59](http://www.emater.mg.gov.br/portal.cgi?flageb=site_pgn_downloads_vert&grupo=135&menu=59)>. Acesso em: 01 set. 2019.
- FAVA, L. W. *et al.* Características de queijos artesanais tipo colonial comercializados em uma feira agropecuária. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 40, n. 4, p. 01-06, 2012.
- FEITOSA, T. *et al.* Pesquisa de *Salmonella* sp., *Listeria* sp. e microrganismos indicadores higiênicos-sanitários em queijos produzidos no estado do Rio Grande do Norte. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, p. 162-165, 2003.
- FERNANDES, R. V. B. *et al.* Avaliação físico-química, microbiológica e microscópica do queijo artesanal comercializado em Rio Paranaíba – MG. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, v. 66, n. 382, p. 21-26, 2011.
- FERRAZ, W. M. Queijo Minas Artesanal da Serra da Canastra: Influência do ambiente sobre a maturação. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais, Rio Pomba, 2016.
- FERRAZ, W. M. *et al.* Queijo Minas Artesanal da Serra da Canastra: Influência do ambiente na maturação. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Gramado, 2016.
- FERREIRA, M. A. *et al.* Virulence profile and genetic variability of *Staphylococcus aureus* isolated from artisanal cheese. *Journal of Dairy Science*, v. 99, n. 11, p. 8589-8597, 2016.

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. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2018.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). Code of Federal Regulations. Disponível em: <<https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRsearch.cfm?CFRPart=133>>. Acesso em: 17 jan. 2020.

FOX, P. F. *et al. Dairy chemistry and biochemistry*. Springer, ed. 2, 2015.

FURTADO, M. M. Isolamento de bactérias lácticas de leite cru e soro de queijo de leite cru da região do Serro, Minas Gerais. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1990.

IBGE, INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICAS. Informativo: produção da pecuária municipal de 2017. Disponível em: <[https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm\\_2017\\_v45\\_br\\_informativo.pdf](https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2017_v45_br_informativo.pdf)>. Acesso em: 12 ago. 2019.

IMA, INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Produtor do Alto Paranaíba destaca vantagens no Programa Queijo Minas Artesanal, 2012. Disponível em: <<http://www.ima.mg.gov.br/acontece-no-ima/1346-produtor-do-alto-paranaiba-destaca-vantagens-do-programa-queijo-minas-artesanal>>. Acesso em: 12 set. 2019.

IMA, INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Lista de produtores cadastrados no programa do Queijo Minas Artesanal - atualizada em 29/08/2019. Disponível em: <[http://www.ima.mg.gov.br/material-curso-cfo-cfoc/doc\\_details/680-produtores-queijo-minas-artesanal](http://www.ima.mg.gov.br/material-curso-cfo-cfoc/doc_details/680-produtores-queijo-minas-artesanal)>. Acesso em: 16 jul. 2019.

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>>. Acesso em: 29 ago. 2019.

ISO, International Organization for Standardization. Cheese – determination of fat content – Van Gulik method. ISO 3433-IDF 222. Geneva, 2008.

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

JOAQUIM, S. F. *et al.* Identificação de *Staphylococcus* spp. Isolados de ordenhadores de propriedades leiteiras do estado de São Paulo, Brasil: dados preliminares. *Revista MV&Z*, v. 14, n. 3, 2016.

JOHLER, S. Short communication: Characterization of *Staphylococcus aureus* isolated along the raw milk cheese production process in artisan dairies in Italy. *Journal of Dairy Science*, v. 101, n. 4, p. 2915-2920, 2018.

JUNIOR, L. C. G. C. *et al.* Avaliação da proteólise de queijo artesanal de uma unidade produtora da Serra da Canastra nas quatro estações do ano. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, v. 64, n. 371, 2009.

- KHATTAB, A. R. *et al.* Cheese ripening: A review on modern technologies towards flavor enhancement, process acceleration and improved quality assessment. *Trends in Food Science & Technology*, v. 88, p. 343–360, 2019.
- LANDGRAF, M. *Microorganismos indicadores*. In: *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo: Atheneu, cap. 3, 2008.
- LIMA, C. D. *et al.* Microbiological, physical–chemical and sensory evaluation of a traditional Brazilian cheese during the ripening process. *World J Microbiology Biotechnology*, v. 24, p. 2389-2395, 2008.
- LOURENÇO NETO, J. P. M. *Queijos – Aspectos Tecnológicos*. 1ª Edição. Master Graf. 2013.
- LUIZ, L. M. P. *et al.* Isolation and identification of lactic acid bacteria from Brazilian Minas artisanal cheese. *Cyta – Journal of Food*, v. 15, n. 1, p. 125-128, 2016.
- MARTINS, J. M. Características físico-químicas e microbiológicas durante a maturação do queijo Minas artesanal da região do Serro. p. 158, 2006. Dissertação (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.
- 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.
- MCSWEENEY, P. L. H. Biochemistry of cheese ripening. *International Journal of Dairy Technology*, v. 57, n. 3, p. 127-144, 2004.
- MCSWEENEY, P. L. H.; OTTOGALLI, G.; FOX, P. F. *Diversity of cheese varieties: An overview*. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, v. 2 p. 1-23, 2004.
- MELO, F. D. *et al.* Avaliação da inocuidade e qualidade microbiológica do queijo artesanal serrano e sua relação com as variáveis físico químicas e o período de maturação. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 41, n. 1, p. 01-07, 2013.
- MERGAREJO NETTO, M. A geografia do queijo minas artesanal. Dissertação (Doutorado em Geografia), Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2011.
- MILO, I, da S. *et al.* Detecção de *Mycobacterium bovis* em queijos artesanais pelo método PCR. In: V Jornada de Iniciação Científica da UENP. Universidade Estadual do Paraná, 2015.
- 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, Belo Horizonte, 6 jun. 2002.
- MINAS GERAIS. Assembléia Legislativa do Estado de Minas Gerais. Decreto nº 44.864, de 1 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 de Queijo Minas Artesanal. Diário do Executivo, Belo Horizonte, 2 ago. 2002.

MINAS GERAIS. Assembléia Legislativa do Estado de Minas Gerais. Lei nº 19.492, de 13 de janeiro de 2011. Altera dispositivos da Lei nº 14.185, de 31 de janeiro de 2002 que dispõe sobre o processo de produção do Queijo Minas Artesanal e dá outras providências. Diário do Executivo, Belo Horizonte, 14 jan. 2011.

MINAS GERAIS. Assembléia Legislativa do Estado de Minas Gerais. Lei nº 20.549, de 18 de dezembro de 2012. Dispõe sobre a produção e comercialização dos queijos artesanais de Minas Gerais. Diário do Executivo, Belo Horizonte, 19 dez. 2012.

MINAS GERAIS. Portaria nº 1.305, de 30 de abril de 2013. Trata de diretrizes para produção de queijo minas artesanal exclusivamente a partir de leite cru de vaca, de produção própria, com utilização de soro fermento (pingo), em regiões específicas do estado de Minas Gerais. Belo Horizonte, 30 abr. 2013.

MINAS GERAIS. Instituto Mineiro de Agropecuária. Portaria nº 1427, de 29 de agosto de 2014. Identifica A Região Do Vale Do Suaçuí Como Produtora De Parmesão No Modo Artesanal. Palácio da Liberdade, Belo Horizonte, 29 de agosto de 2014a.

MINAS GERAIS. Instituto Mineiro de Agropecuária. Portaria nº 1453, de 01 de dezembro de 2014. Identifica A Região De Alagoa Como Produtora De Queijo Tipo Parmesão No Modo Artesanal. Palácio da Liberdade, Belo Horizonte, 01 de dezembro de 2014b.

MINAS GERAIS. Lei nº 23.157, de 18 de dezembro de 2018. Dispõe sobre a produção e a comercialização dos queijos artesanais de Minas Gerais. Diário do Executivo, Belo Horizonte, 19 dez. 2018.

NIRO, S. *et al.* Evolution of free amino acids during ripening of Caciocavallo cheeses made with different milks. *Journal of Dairy Science*, v. 100, p. 1-11, 2017.

OCAK, E.; JAVIDIPOUR, I.; TUNCTURK, Y. Volatile compounds of Van Herby cheeses produced with raw and pasteurized milks from different species. *Journal of Food Science and Technology*, v. 52, p. 4315-4323, 2015.

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. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

OLIVEIRA, A. L. *et al.* Caracterização do queijo Minas artesanal do Cerrado mineiro da região do Alto Paranaíba. *The Journal of Engineering and Exact Sciences*, v. 3, n. 6, p. 824-828, 2017.

OLIVEIRA, S. P. P. *et al.* Características físico-químicas de queijo Minas Artesanal do Serro fabricados com pingo e com rala. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, v. 73, n. 4, p. 235-244, 2018.

ÖNER, Z.; KARAHAN, A. G.; ALOGLU, H. Changes in the microbiological and chemical characteristics of an artisanal Turkish white cheese during ripening. *Food Science and Technology*, v. 39, p. 449-454, 2006.

ORTOLANI, M. B. T. *et al.* Molecular identification of naturally occurring bacteriocinogenic and bacteriocinogenic-like lactic acid bacteria in raw milk and soft cheese. *Journal of Dairy Science*, v. 93, p. 2880-2886, 2010.

- PAGTHINATHAN, M.; M. S. M. NAFEES. Biochemistry of cheese ripening. *AGRIEAST: Journal of Agricultural Sciences*, v. 10, p. 16-26, 2015.
- PEREIRA, D. B. C.; SILVA, H. F.; OLIVEIRA, L. L.; COSTA-JUNIOR, L. C. G. *Físico-química de leite e derivados: métodos analíticos*. Juiz de fora: EPAMIG; Templo Gráfica e editora Ltda. 2001.
- PEREIRA, E. B. *et al.* Microbiota autóctone lática, mesófila lipolítica e proteolítica em queijo colonial maturado produzido em diferentes épocas do ano. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v.18, n.4, p.549-559, 2017.
- PERIN, L. M. *et al.* Identification of bacteriocinogenic *Lactococcus* isolates from raw milk and cheese capable of producing nisin A and nisin Z. *International Dairy Journal*, v. 25, n. 1, p. 46-51, 2012.
- PERRY, K. S. P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. *Química Nova*, v. 27, n. 2, p. 293-300, 2004.
- PESSOA, G. V. A.; SILVA, E. A. M. Meios Rugai e Lisina-motilidade combinados em um só tubo para a identificação presuntiva de enterobactérias. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, v. 32, p. 97-100, 1972.
- PINHO, O. *et al.* Chemical, Physical, and Sensorial Characteristics of “Terrincho” Ewe Cheese: Changes During Ripening and Intravarietal Comparison. *Journal of Dairy Science*, v.87, n.2, p. 249-257, 2004.
- PINTO, M. S. Diagnóstico socioeconômico, cultural e avaliação dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos do queijo Minas artesanal do Serro. Dissertação (Doutorado), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.
- PINTO, M. S. *et al.* Survival of *Listeria innocua* in Minas Traditional Serro Cheese during ripening. *Food Control*, v. 20, n. 12, p. 1167-1170, 2009.
- PINTO, M. S. *et al.* The effects of nisin on *Staphylococcus aureus* count and the physicochemical properties of traditional Minas Serro cheese. *International Dairy Journal*, v. 21, n. 2, p. 90-96, 2011.
- PINTO, M. S. *et al.* Características físico-químicas e microbiológicas do queijo artesanal produzido na microrregião de Montes Claros – MG. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, v. 71, n. 1, p. 43-52, 2016.
- R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2019.
- RESENDE, M. F. S. *et al.* Queijo Minas artesanal da Serra da Canastra: influência da altitude das queijarias nas populações de bactérias acidoláticas. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 63, n. 6, p.1567-1573, 2011.
- SALES, G. 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.

SANT'ANNA, F. M. *et al.* 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*, v. 70, 2017.

SANTOS, A. S. Queijo Minas Artesanal da microrregião do Serro – MG: Efeito da sazonalidade sobre a microbiota do leite cru e comportamento microbiológico durante a maturação. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2010.

SANTOS, C. G. *et al.* Condições higiênico-sanitárias na produção de queijo artesanal produzido em Uberaba – MG. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, v. 72, n. 2, p. 96-107, 2017.

SILVA, J. G. *et al.* Características físico-químicas do Queijo Minas Artesanal da Canastra. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, v. 66, n. 380, p. 16-2, 2011.

SILVA, N. C.; TUNES, R. M. M.; CUNHA, M. F. Avaliação química de queijos Minas artesanais frescos e curados em Uberaba, MG. *PUBVET*, v. 6, n. 16, 2012.

SILVA, R. M. *et al.* Risk factors for human *Mycobacterium bovis* infections in an urban area of Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 113, n. 8, 2018.

SOARES, D. B. *et al.* Análise sanitária e físico-química e adequação bacteriológica do queijo Minas Artesanal produzido em duas propriedades. *Ciência Animal Brasileira*, v. 19, p. 1-13, 2018.

SOUSA, M. J.; ARDO, Y.; MCSWEENEY, P. L. H. Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. *International Dairy Journal*, v. 11, p. 327-345, 2001.

SOUZA, C. F. V.; DALLA ROSA, T.; AYUB, M. A. Z. Changes in the microbiological and physicochemical characteristics of Serrano cheese during manufacture and ripening. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.34, p. 260-266, 2003.

UPADHYAY, V. K. *et al.* Proteolysis in cheese during ripening cheese: General aspects. *Chemistry, Physics and Microbiology*, v. 1, 2004.

VALE, R. C.; RODRIGUES, M. P. J.; MARTINS, J. M. Influência do tipo de fermento nas características físico-químicas de Queijo Minas Artesanal do Serro – Minas Gerais, maturado em condições controladas. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, v. 73, n. 2, p. 82-90, 2018.

VASEK, O. M.; MAZZA, S. V.; GIORI, G. S. Physicochemical and microbiological evaluation of corrientes artisanal cheese during ripening. *Food Science and Technology*, v. 33, n. 1, p. 151-160, 2013.

WALSTRA, P.; WOUTERS, J. T. M.; GEURTS, T. J. *Dairy Science Technology*. Taylor & Francis Group, ed. 2, 2006.

WOLFSHOON-POMBO, A. F. Índice de proteólise em alguns queijos brasileiros. *Boletim do Leite*, v. 51, n. 661, p. 1-8, 1983.

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