

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA**

TESE DE DOUTORADO

VALÉRIA MACEDO CARDOSO

**INFLUÊNCIA DO PERÍODO DE MATURAÇÃO E DAS ESTAÇÕES DO ANO NOS
PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS DO QUEIJO MINAS
ARTESANAL DA REGIÃO DO SERRO**

BELO HORIZONTE

2011

VALÉRIA MACEDO CARDOSO

INFLUÊNCIA DO PERÍODO DE MATURAÇÃO E DAS ESTAÇÕES DO ANO NOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS DO QUEIJO MINAS ARTESANAL DA REGIÃO DO SERRO

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Microbiologia.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Augusto Rosa

Co-orientadora: Profa. Dra. Zenilda de Lourdes Cardeal

BELO HORIZONTE

2011

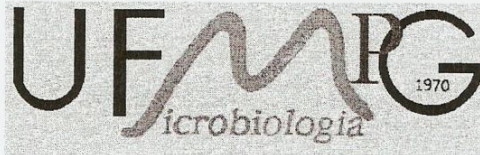
Cardoso, Valéria Macedo.

Influência do período de maturação e das estações do ano nos parâmetros físico-químicos e microbiológicos do queijo Minas artesanal da região do Serro. [manuscrito] / Valéria Macedo Cardoso. – 2011
183 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Carlos Augusto Rosa. Co-orientadora: Zenilda de Lourdes Cardeal.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas.

1. Queijo-de-minas – Microbiologia – Teses. 2. Queijo-de-minas – Análise – Teses. 3. Queijo-de-minas – Composição – Teses. 4. Queijo-de-minas – Qualidade – Teses. 5. Alimentos - Microbiologia – Teses. 6. Microbiologia - Teses. I. Rosa, Carlos Augusto. II. Cardeal, Zenilda de Lourdes. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.



**Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Microbiologia**

ALUNA: VALÉRIA MACEDO CARDOSO

Nº matrícula: 2007668704

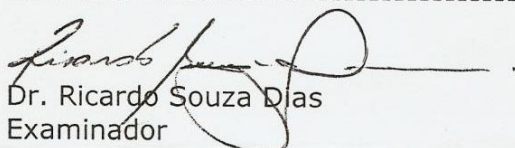
Programa de Pós-graduação em Microbiologia - NÍVEL DOUTORADO

Defesa de Tese: 27 de maio de 2011

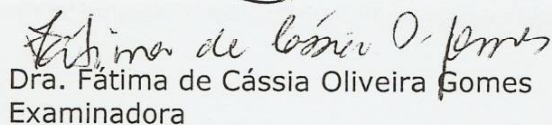
Título: "Influência do período de maturação e das estações do ano nos compostos voláteis, população de leveduras, amins bioativas, indicadores higiênico-sanitários, enteroxinas estafilocócicas e parâmetros físico-químicos do queijo Minas artesanal do Serro"

Co-orientadora: Profa. Zenilda de Lourdes Cardeal

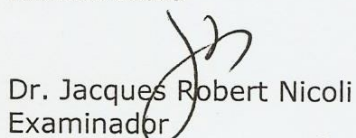
A Tese foi submetida à apreciação da Profa. Vera Lúcia dos Santos que emitiu parecer favorável.


Dr. Ricardo Souza Dias
Examinador

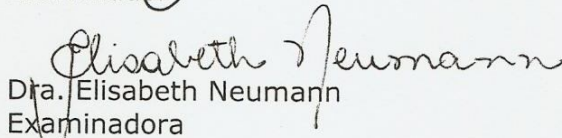
Aprovada: *sim*


Dra. Fátima de Cássia Oliveira Gomes
Examinadora

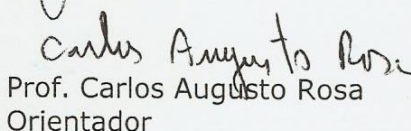
Aprovada: *sim*


Dr. Jacques Robert Nicoli
Examinador

Aprovada: *Sim*


Dra. Elisabeth Neumann
Examinadora

Aprovada: *sim*


Prof. Carlos Augusto Rosa
Orientador

Aprovada: *sim*


Prof. Cláudio Antônio Bonjardim

**Dedico este trabalho ao meu esposo Cláudio,
pelo companheirismo, paciência e carinho
durante estes quatro anos.**

**O Senhor é fiel em suas palavras e santo em tudo
o que faz. O Senhor sustém os que vacilam, e
soergue os abatidos. Todos os olhos
esperançosos se dirigem para vós, e a seu tempo
vós os alimentais.**

Salmo 144, 13-15.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida, saúde e proteção constante.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Carlos Augusto Rosa, pelos ensinamentos, objetividade e paciência.

Aos funcionários da Secretaria de Pós-graduação, principalmente Douglas e Fatinha, pela presteza e amizade.

À minha co-orientadora, Profa. Dra. Zenilda de Lourdes Cardeal, do Departamento de Química da UFMG, pela disponibilização de equipamentos, espaço físico e conhecimento para realização das análises de compostos voláteis e amizade.

Ao Prof. Dr. Marcelo Resende de Souza, aos funcionários Valéria e Marco Antônio e estagiárias Bárbara S. Costa, Juliana A. G. Cabral e Dalila Lapinha, do Laboratório de Análise Físico-química do Departamento de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal da Faculdade de Medicina Veterinária da UFMG, pela realização das análises físico-químicas.

Ao Dr. Ricardo Souza Dias e demais funcionários do Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Fundação Ezequiel Dias (FUNED), pela disponibilização de equipamentos, espaço físico e conhecimento para realização das análises de enterotoxinas estafilocócicas.

À Profa. Dra. Maria Beatriz Abreu Glória, ao funcionário Warley e estagiários Rita, Vívian e Guilherme, do Laboratório de Bioquímica de Alimentos da Faculdade de Farmácia da UFMG (especialmente ao Warley), pela disponibilização de equipamentos, espaço físico e conhecimento para realização das análises de amins bioativas.

Ao funcionário Danilo Bastos, da Faculdade de Medicina Veterinária da UFMG, pela grande contribuição nas análises estatísticas.

À Cooperativa dos Produtores Rurais do Serro (COOPSERRO), especialmente ao Sr. Carlos Drumont, diretor da COOPSERRO, por ceder as 100 amostras de queijo.

Aos produtores de queijo Sr. Agostinho Gonzaga da Silva, Sr. Gilson Roberto Lessa Nunes, Sr. Jorge Brandão Simões, Sr. José Célio Clementino e Sr. Raul Clementino Júnior, pela confiança.

Aos professores do Departamento de Farmácia da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. pela grande contribuição durante o meu afastamento.

Aos meus queridos estagiários do Laboratório de Ecologia e Biotecnologia de Leveduras, do Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, Barbara M. Soares, Letícia A. Clementino, Cristiano P. Araújo, Nayara Chaves e Carla Pataro, pela dedicação, companheirismo e amizade.

Aos colegas do Laboratório de Ecologia e Biotecnologia de Leveduras, do Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, pela disponibilidade e companheirismo. À Pollyana e Fabiana, pela grande ajuda no início deste trabalho.

À minha família e em especial à minha mãe, pela ajuda nos momentos difíceis e ao meu esposo Cláudio, pela paciência

A todos aqueles que de alguma maneira contribuíram para esta conquista, o meu agradecimento.

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	1
2- REVISÃO DA LITERATURA	5
2.1- Definição	5
2.2- Histórico	5
2.3- Queijos artesanais no Brasil	6
2.3.1- Queijos artesanais em Minas Gerais	6
2.3.1.1- Queijo Minas artesanal do Serro	7
2.4- O processo de maturação dos queijos	17
2.4.1- Lipólise	17
2.4.2- Proteólise	17
2.4.3- Enzimas responsáveis pelo processo de maturação	19
2.4.4. Fatores que envolvem o processo de maturação	19
2.4.4.1. Temperatura e umidade	20
2.4.4.2. Composição química da coalhada	20
2.4.4.3. Microbiota residual da coalhada	21
2.5- Microrganismos patogênicos em queijos	21
2.5.1. Família Enterobacteriaceae	23
2.5.1.1. Coliformes totais, coliformes termotolerantes e <i>Escherichia coli</i> ---	23
2.5.1.2. <i>Salmonella</i> spp.	24
2.5.2. <i>Staphylococcus</i> spp.	26
2.6- Leveduras em queijos	31
2.7. Determinação da cor nos queijos	34
2.8- Aminas bioativas	35
2.9- Compostos voláteis em queijos	37
3- OBJETIVOS	41
3.1- Objetivo Geral	41
3.2- Objetivos específicos	41
4- MATERIAL E MÉTODOS	43
4.1- Coleta das amostras	43
4.2- Condições de maturação	44
4.3- Visita às fazendas e identificação dos produtores	44
4.4. Análises microbiológicas e detecção de enterotoxinas	44

4.4.1- Determinação do número mais que provável (NMP) de coliformes totais, coliformes termotolerantes e <i>Escherichia coli</i> -----	44
4.4.2. Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp. -----	45
4.4.3. Isolamento e quantificação de <i>Staphylococcus</i> spp. -----	46
4.4.4. Detecção do gene da coagulase em isolados de <i>Staphylococcus</i> spp. -----	46
4.4.5. Identificação molecular de <i>Staphylococcus aureus</i> -----	47
4.4.6. Pesquisa de enterotoxinas estafilocócicas e TSST-1 no queijo -----	48
4.4.7. Capacidade dos isolados de <i>Staphylococcus</i> spp. em produzir enterotoxinas e TSST-1 -----	48
4.5- Quantificação e isolamento de leveduras -----	48
4.5.1- Identificação de leveduras -----	49
4.5.2- Identificação molecular de leveduras -----	49
4.6- Análises físico-químicas -----	52
4.6.1- Determinação da acidez titulável, gordura, proteína e umidade -----	52
4.6.2- Determinação de gordura no extrato seco -----	52
4.6.3- Determinação da porcentagem de sólidos totais -----	52
4.6.4- pH -----	53
4.6.5- Determinação da atividade de água (A_w) -----	53
4.7- Análise da cor -----	53
4.8- Determinação de aminas bioativas -----	54
4.8.1- Extração -----	54
4.8.2- Separação e quantificação das aminas biogênicas usando Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com derivação pós-coluna e detecção por fluorescência -----	54
4.9- Padronização da metodologia de extração e detecção dos compostos voláteis -----	56
4.9.1- Determinação dos compostos voláteis -----	57
4.9.2- Extração dos voláteis -----	58
4.9.3- Separação, quantificação e identificação dos compostos voláteis usando cromatografia gasosa – espectrometria de massas -----	58
4.10- Análises estatísticas -----	59
5- RESULTADOS E DISCUSSÃO -----	60

5.1- Condições de maturação	60
5.2- Populações microbianas no queijo do Serro produzido nas estações seca e chuvosa durante 60 dias de maturação -----	60
5.2.1. Análise de Coliformes totais e Coliformes termotolerantes -----	60
5.2.1.1. Coliformes totais -----	60
5.2.1.2- Coliformes termotolerantes -----	62
5.2.2- Pesquisa de <i>Escherichia coli</i> -----	63
5.2.3- Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp. -----	65
5.2.4- Pesquisa de <i>Staphylococcus</i> spp. -----	65
5.2.5- Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva -----	66
5.2.6- Contagem de <i>Staphylococcus aureus</i> -----	69
5.3- Determinações de enterotoxinas estafilocócicas e TSST-1 nas amostras de queijo -----	71
5.4- Produção de toxinas por <i>Staphylococcus</i> spp. -----	72
5.5- Determinação de leveduras -----	73
5.5.1- Quantificação, isolamento e identificação de leveduras -----	73
5.6- Avaliação físico-química do queijo do Serro durante a maturação e estações seca e chuvosa -----	81
5.6.1- Gordura -----	81
5.6.2- Gordura no extrato seco (GES) -----	82
5.6.3- Proteína -----	83
5.6.4- Umidade -----	84
5.6.5- Acidez titulável -----	85
5.6.6- pH -----	86
5.6.7- Atividade de água (Aw) -----	87
5.7- Análise física -----	87
5.7.1- Determinação da cor -----	87
5.8- Aminas bioativas -----	89
5.9- Padronização da metodologia de extração e detecção dos compostos voláteis -----	97
5.10- Determinação dos compostos voláteis -----	99
5.10.1- Ácidos graxos livres -----	110
5.10.2- Alcoóis -----	112

5.10.3- Ésteres -----	114
5.10.4- Cetonas -----	116
5.10.5- Terpenos -----	118
5.10.6- Hidrocarbonetos -----	118
5.10.7- Compostos aromáticos -----	120
6- CONCLUSÕES -----	125
7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	127
ANEXOS -----	146

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Produção anual nos diferentes municípios, valor da produção e percentagem de mão de obra envolvida na produção artesanal do queijo do Serro -----	8
Tabela 2- Características físico-químicas do queijo artesanal do Serro ---	16
Tabela 3- Gradiente de eluição para as fases móveis acetonitrila e solução tampão acetato de sódio:octanossulfonato de sódio utilizado na determinação de amins -----	55
Tabela 4- Padronização do tempo e temperatura de equilíbrio da amostra e do tempo e temperatura de extração dos compostos voláteis do queijo -----	57
Tabela 5- Média das contagens (Log UFC/g) das espécies de leveduras isoladas durante os tempos de maturação e estações (seca e chuvosa) no queijo do Serro -----	75
Tabela 6- Atributos de cor (média \pm desvio padrão) durante os tempos de maturação e estações (seca e chuvosa) no queijo do Serro -----	88
Tabela 7- Composição (média \pm desvio padrão em mg/100 g de queijo) de amins bioativas durante o período de maturação e estações (seca e chuvosa) no queijo Minas artesanal do Serro -----	90
Tabela 8- Compostos voláteis isolados do Queijo do Serro nos cinco tempos de maturação, durante a estação chuvosa -----	103
Tabela 9- Compostos voláteis isolados do Queijo do Serro nos cinco tempos de maturação, durante a estação seca -----	108
Tabela 10- Ácidos graxos na fração volátil do Queijo do Serro em cinco tempos de maturação, nas estações seca e chuvosa -----	111
Tabela 11- Alcoóis na fração volátil do Queijo do Serro em cinco tempos de maturação, nas estações seca e chuvosa -----	113
Tabela 12- Ésteres na fração volátil do Queijo do Serro em cinco tempos de maturação, nas estações seca e chuvosa -----	115
Tabela 13- Cetonas na fração volátil do Queijo do Serro em cinco tempos de maturação, nas estações seca e chuvosa -----	117
Tabela 14- Terpenos na fração volátil do Queijo do Serro em cinco tempos de maturação, nas estações seca e chuvosa -----	119

Tabela 15 – Hidrocarbonetos na fração volátil do Queijo do Serro em cinco tempos de maturação, nas estações seca e chuvosa -----	119
Tabela 16 – Compostos aromáticos na fração volátil do Queijo do Serro em cinco tempos de maturação, nas estações seca e chuvosa -----	121

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Mapa das principais regiões produtoras do queijo Minas artesanal -----	7
Figura 2 – Mapa da região produtora do queijo Minas artesanal do Serro-	8
Figura 3 – Planta baixa de uma queijaria modelo da região Serro -----	10
Figura 4 – Fluxograma do processo de fabricação do queijo Minas artesanal da região do Serro -----	11
Figura 5 – Filtração do leite com auxílio de tecido para a fabricação do queijo Minas artesanal do Serro -----	12
Figura 6 – Mesa de ardósia usada na dessoragem do queijo Minas artesanal do Serro -----	13
Figura 7 – Queijo Minas artesanal da região do Serro após três dias de fabricação -----	13
Figura 8 – Prensagem manual dos queijos Minas artesanais da região do Serro -----	14
Figura 9 – Entrega dos queijos no entreposto da Cooperativa -----	15
Figura 10 – Tratamento dado ao queijo Minas artesanal do Serro antes da sua comercialização: A - Chegada do queijo ao entreposto. B - Limpeza. C - Pesagem. D - Numeração do lote e número do produtor na embalagem. E - Embalagem a vácuo. F – Resfriamento -----	15
Figura 11 – Representação esquemática dos conceitos de extensão e profundidade da proteólise -----	18
Figura 12 - Estrutura química de algumas aminos bioativas -----	35
Figura 13 - Média da contagem de coliformes totais (Log NMP/g) em 10 amostras de queijo Minas artesanal do Serro ao longo do tempo de maturação, fabricados nas estações seca e chuvosa -----	61
Figura 14 - Média da contagem de coliformes termotolerantes (Log NMP/g) em 10 amostras de queijo Minas artesanal do Serro ao longo do tempo de maturação, fabricados nas estações seca e chuvosa -----	63
Figura 15 - Média da contagem de <i>E. coli</i> (Log NMP/g) em 10 amostras de queijo Minas artesanal do Serro ao longo do tempo de maturação, fabricados nas estações seca e chuvosa -----	64

Figura 16- Média da contagem de <i>Staphylococcus</i> spp. (Log UFC/g) em 10 amostras de queijo Minas artesanal do Serro ao longo do tempo de maturação, fabricados nas estações seca e chuvosa -----	66
Figura 17- Média da contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva (Log UFC/g) em 10 amostras de queijo Minas artesanal do Serro ao longo do tempo de maturação, fabricados nas estações seca e chuvosa-----	67
Figura 18- Produtos de amplificação por PCR do gene <i>coa</i> (coagulase) em linhagens de <i>Staphylococcus</i> spp. fenótipo negativo para coagulase e TNase isoladas do queijo Minas artesanal do Serro -----	67
Figura 19- Média da contagem de <i>Staphylococcus aureus</i> (Log UFC/g) em 10 amostras de queijo Minas artesanal do Serro ao longo do tempo de maturação, fabricados nas estações seca e chuvosa -----	70
Figura 20- Produtos de amplificação por PCR do gene <i>SAnuc</i> (termonuclease de <i>S. aureus</i>) em linhagens de <i>Staphylococcus</i> spp. fenótipo positivo para coagulase e TNase isoladas do queijo Minas artesanal do Serro -----	70
Figura 21- Eletroforese em gel de agarose mostrando diferentes perfis moleculares de leveduras resultantes da reação em cadeia da polimerase utilizando o iniciador (GTG) ₅ -----	74
Figura 22- Média da % de gordura em 10 amostras de queijo Minas artesanal do Serro ao longo do tempo de maturação, fabricados nas estações seca e chuvosa -----	82
Figura 23- Média da % de gordura no extrato seco (GES) em 10 amostras de queijo Minas artesanal do Serro ao longo do tempo de maturação, fabricados nas estações seca e chuvosa -----	83
Figura 24- Média da % de proteína em 10 amostras de queijo Minas artesanal do Serro ao longo do tempo de maturação, fabricados nas estações seca e chuvosa -----	84
Figura 25- Média da % de umidade em 10 amostras de queijo Minas artesanal do Serro ao longo do tempo de maturação, fabricados nas estações seca e chuvosa -----	85
Figura 26- Média do pH em 10 amostras de queijo Minas artesanal do Serro ao longo do tempo de maturação, fabricados nas estações seca e	

chuvosa -----	86
Figura 27- Composição média de aminas bioativas durante o período de maturação em 10 amostras de queijo Minas artesanal do Serro produzidos na estação seca -----	91
Figura 28- Composição média de aminas bioativas durante o período de maturação em 10 amostras de queijo Minas artesanal do Serro produzidos na estação chuvosa -----	91
Figura 29- Cromatograma mostrando os compostos voláteis da amostra equilibrada por 10 minutos a 70 °C e extração feita por 60 minutos a 70 °C. Dessorção a 220 °C por 5 minutos -----	98
Figura 30- Cromatograma mostrando os compostos voláteis da amostra equilibrada por 10 minutos a 70 °C e extração feita por 60 minutos a 70 °C. Dessorção a 220 °C por 3 minutos -----	98
Figura 31- Cromatograma dos compostos voláteis isolados do Queijo do Serro com 3 dias de maturação, produzido na estação chuvosa. Para identificação dos picos, vide Tabela 8 -----	100
Figura 32- Cromatograma dos compostos voláteis isolados do Queijo do Serro com 15 dias de maturação, produzido na estação chuvosa. Para identificação dos picos, vide Tabela 8 -----	100
Figura 33- Cromatograma dos compostos voláteis isolados do Queijo do Serro com 30 dias de maturação, produzido na estação chuvosa. Para identificação dos picos, vide Tabela 8 -----	101
Figura 34- Cromatograma dos compostos voláteis isolados do Queijo do Serro com 45 dias de maturação, produzido na estação chuvosa. Para identificação dos picos, vide Tabela 8 -----	101
Figura 35- Cromatograma dos compostos voláteis isolados do Queijo do Serro com 60 dias de maturação, produzido na estação chuvosa. Para identificação dos picos, vide Tabela 8 -----	102
Figura 36- Cromatograma dos compostos voláteis isolados do Queijo do Serro com 3 dias de maturação, produzido na estação seca. Para identificação dos picos, vide Tabela 9 -----	105
Figura 37- Cromatograma dos compostos voláteis isolados do Queijo do Serro com 15 dias de maturação, produzido na estação seca. Para	

identificação dos picos, vide Tabela 9 -----	105
Figura 38- Cromatograma dos compostos voláteis isolados do Queijo do Serro com 30 dias de maturação, produzido na estação seca. Para identificação dos picos, vide Tabela 9 -----	106
Figura 39- Cromatograma dos compostos voláteis isolados do Queijo do Serro com 45 dias de maturação, produzido na estação seca. Para identificação dos picos, vide Tabela 9 -----	106
Figura 40- Cromatograma dos compostos voláteis isolados do Queijo do Serro com 60 dias de maturação, produzido na estação seca. Para identificação dos picos, vide Tabela 9 -----	107

RESUMO

O queijo Minas artesanal do Serro é um produto bastante consumido e apreciado pela população brasileira. O objetivo deste trabalho foi verificar a influência do processo de maturação durante as estações seca e chuvosa sobre os indicadores das condições higiênico-sanitárias, microrganismos patogênicos, enterotoxinas estafilocócicas e composição físico-química do queijo no intuito de se verificar a qualidade microbiológica e físico-química do produto. Além disto, as populações de leveduras, os compostos voláteis, e os teores de aminas bioativas foram identificados para uma melhor caracterização deste queijo artesanal. O estudo foi realizado com queijos produzidos por cinco produtores que se encontravam em fase final de implantação das boas práticas de fabricação e possuíam certificação do Instituto Mineiro de Agropecuária. Cinquenta amostras produzidas na estação seca e 50 produzidas na estação chuvosa foram coletadas. De cada propriedade rural foram coletados 10 queijos com dois dias de fabricação que foram armazenados, sem embalagem, em câmara fria até completar o período de maturação desejado. As análises foram feitas em dois queijos de cada produtor com 3, 15, 30, 45 e 60 dias de maturação. Altas contagens de coliformes totais e termotolerantes e *E. coli* foram encontradas no início do período de maturação diminuindo no queijo com 60 dias de maturação. Houve uma redução na contaminação por *Staphylococcus* coagulase positiva no final do período de maturação, sendo que somente após 45 dias de maturação o queijo produzido nas estações seca e chuvosa apresentaram contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva abaixo do limite recomendado pela legislação brasileira (1000 UFC/g). *Salmonella* spp. não foi detectada. SEC e TSST-1 foram detectadas em três e cinco amostras de queijo, respectivamente, produzido na estação seca. SEB, SEC and TSST-1 foram detectadas simultaneamente em uma amostra e TSST-1 foi detectada em 16 amostras de queijos produzidos na estação seca. Os isolados de *Staphylococcus* spp. não produziram as enterotoxinas estafilocócicas A, B, C e D. Três dos nove *pools* dos isolados de *Staphylococcus* spp. testados produziram TSST-1. Uma grande variação nas porcentagens de umidade, gordura no extrato seco e proteína foram observadas durante todo o período de maturação, indicando falta de padronização no processo de fabricação do queijo Minas artesanal do Serro.

Dezessete espécies de leveduras foram identificadas durante a maturação do queijo, sendo *Debaryomyces hansenii*, *Kodamaea ohmeri* e *Kluyveromyces marxianus*, as espécies de maior prevalência. Um aumento nas populações de leveduras foi observado durante a maturação do queijo. Algumas espécies foram detectadas somente no queijo produzido na estação seca e outras somente no queijo produzido na estação chuvosa. As aminas bioativas putrescina, cadaverina, espermidina, feniletilamina, espermina e triptamina, apresentaram aumento em seus teores durante a maturação no queijo produzido na estação seca; a histamina, no queijo produzido em ambas as estações; e a agmatina, no queijo produzido na estação chuvosa. A triptamina e a histamina apresentaram as maiores concentrações no queijo produzido nas estações seca e chuvosa, respectivamente. Individualmente, as aminas pesquisadas não atingiram concentrações capazes de causar efeitos adversos a saúde. Um total de 53 compostos voláteis foram detectados durante a maturação do queijo produzido na estação seca e 50 foram identificados no queijo produzido na estação chuvosa, sendo detectados compostos aromáticos, ácidos, hidrocarbonetos, alcoóis, ésteres, cetonas e terpenos. Alguns compostos voláteis desapareceram durante a maturação e outros foram formados. Outros ainda foram detectados no queijo em todos os tempos de maturação estudados. As altas contagens de patógenos e coliformes no início do período de maturação, para os queijos produzidos nas estações seca e chuvosa indicam a necessidade de melhoria nas condições higiênico-sanitárias do leite. A grande variação nos parâmetros físico-químicos indica falta de padronização no processo de produção do queijo. A determinação de leveduras, aminas bioativas e compostos voláteis contribuíram para a caracterização do queijo Minas artesanal do Serro.

Palavras-chave: Queijo Minas artesanal do Serro, Maturação, Condições higiênico-sanitárias, Enterotoxinas estafilocócicas, Leveduras, Aminas bioativas, Compostos voláteis.

ABSTRACT

Minas traditional Serro cheese is a product that has a high consumption and appreciation in Brazil. The main objective of this work was to verify the ripening and dry and rainy seasons influence on hygienical-sanitary indicators, pathogenic microorganisms, Staphylococcal enterotoxins and physicochemical characteristics of this cheese to find out the microbiological and physicochemical quality of this product. In addition, yeast populations, volatile compound composition and amine biogenic contents were also determined. This study was made with cheeses produced by five farmers that were in the last part of good manufacturing practices implement and have certification by the Instituto Mineiro de Agropecuária. Fifty samples produced in dry season and 50 produced in the rainy season were collected. Ten cheeses with two days of ripening were collected from each farm that was stored in a cold room, without package, until complete the desired ripening period. Analyses were made with two cheeses from each farmer with 3, 15, 30, 45 and 60 days of ripening. High levels of total and fecal coliforms and *E. coli* were found in the beginning of ripening period decreasing with 60 days. The contamination by coagulase-positive *Staphylococci* was reduced at the end of the ripening period. After 45 days of ripening the cheeses made in dry and in the rainy seasons presented coagulase-positive *Staphylococci* counts under the limit recommended by the Brazilian legislation (1000 cfu/g). *Salmonella* spp. was not detected. SEC and TSST-1 were detected in three and five samples, respectively from cheeses manufactured on dry season. From the cheeses of the rainy season analyzed, one presented simultaneously SEB, SEC and TSST-1 and 16 samples presented TSST-1. None of the 9 pools from isolates of *Staphylococcus* spp. analyzed produced the enterotoxins A, B, C and D, although three pools produced TSST-1. The great variation on percentages of moisture, fat content in the dry matter and protein indicate the lack of standardization of the cheesemaking process of the traditional Serro Minas cheese. Seventeen yeast species were identified during the ripening, being *Debaryomyces hansenii*, *Kodamaea ohmeri* and *Kluyveromyces marxianus* the most prevalent species. An increase in the yeast counts was found during cheese ripening. Some species were detected only in the cheese manufactured in the dry season and others were detected only in the cheese manufactured in the rainy season.

Biogenic amines such as putrescine, cadaverine, spermidine, 2-phenylethylamine, spermine and tryptamine had high contents during ripening, in the cheese manufactured in the dry season; histamine, in the cheese manufactured in both seasons and agmatine, in the cheese manufactured in the rainy season. Tryptamine and histamine showed higher contents in the cheese manufactured in the dry and rainy seasons, respectively. Individually, biogenic amines searched not reached contents that could cause adverse effects to human health. A total of 53 volatile compounds were detected during the cheese and 50 were identified in the cheese manufactured in the rainy season, being detected aromatic compounds, fatty acids, hydrocarbons, alcohols, esters, ketones and terpenes. Some volatile compounds disappeared during ripening and others come out. Other compounds were detected in the cheese in all ripening period. The high pathogen and coliform levels in the beginning of ripening for the cheese produced in both seasons indicates the need for an improvement of the hygienic sanitary conditions of the milk used in the production of this cheese. The great variation on physicochemical parameters indicates the lack of standardization of the cheesemaking process of the cheese. The yeast, biogenic amines and volatile compounds determination contributed to characterize the traditional Serro cheese.

Keywords: Serro Minas cheese, Ripening, Hygienical-sanitary conditions, Staphylococcal enterotoxins, Yeasts, Biogenic amines, Volatile compounds.