

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
COLEGIADO DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO**

**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**

LETÍCIA GOULART DE OLIVEIRA

**BELO HORIZONTE - MG
ESCOLA DE VETERINÁRIA DA UFMG
2014**

Letícia Goulart de Oliveira

**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 apresentada à Escola de Veterinária 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.

Orientador: Marcelo Resende de
Souza

BELO HORIZONTE - MG
ESCOLA DE VETERINÁRIA DA UFMG
2014

Dissertação defendida e aprovada em 17 de janeiro de 2014, pela comissão examinadora constituída por:

Prof. Marcelo Resende de Souza
Presidente

Profa. Andreia Marçal da Silva
Vice-presidente

Dra. Liliane Denize Miranda Menezes

Dr. João Carlos Vianna Carvalho Ribeiro

Profa. Cláudia Freire de Andrade Morais Penna

Agradecimentos

Aos meus pais.

À minha irmã Emília e à Luana.

Ao meu orientador, Professor Marcelo Resende de Souza, pelo exemplo, pela confiança e pelo conhecimento.

À minha coorientadora, Professora Andreia Marçal da Silva.

Aos membros da banca.

Aos produtores do queijo Minas artesanal do Campo das Vertentes.

Aos professores do DTIPOA.

Aos funcionários do DTIPOA, Maura Regina de Almeida Moura, Marco Antônio Guerra, César Victor Brandão Araújo e Milton Luiz de Jesus.

Aos meus colegas e amigos Renata Dias de Castro, Felipe Machado de Sant'Anna, Dalila Lapinha Rosa, Leonardo Borges Acurcio, Marcela Inez Teixeira Brandão e Denise Ribeiro.

Às futuras colegas Naiara Chaves Figueiredo e Annatachi Botelho.

Às amigas Juliana Batista, Daniela Rajão, Flávia Cruz, Fernanda Vigorito, Marcela Bemfeito e Thalita Mourão.

Às primas Fabíola, Rachel, Raquel, Fernanda e Daniela.

Aos pequenos Flávio, Sophia, Miguel, Ágatha, Francisco, Tomás, Aruã e miniQuel.

À EMATER-MG, na pessoa do Franklin Cordeiro.

Ao LabUFMG.

À CAPES pela concessão da bolsa.

À FAPEMIG.

À Mitilini e ao Clube Atlético Mineiro.

Se faltar a paz, Minas Gerais...
Marcelo Camelo

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

1.	INTRODUÇÃO	16
2.	REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1.	Queijos	17
2.2.	Queijos artesanais	18
2.3.	Queijos artesanais no Brasil	19
2.3.1.	Queijo Minas artesanal	20
2.3.1.1.	Histórico	20
2.3.1.2.	Situação legal	22
2.3.1.3.	Situação econômica e social	24
2.3.1.4.	Caracterização e forma de produção	25
2.3.1.5.	Identificação geográfica	27
2.3.1.6.	O Campo das Vertentes	28
2.3.1.7.	Influência da maturação e período do ano em queijos artesanais	31
2.3.1.8.	Boas práticas de ordenha e boas práticas de produção de queijo Minas artesanal	32
2.4.	Qualidade microbiológica de água	33
2.5.	Qualidade microbiológica de soro-fermento	34
2.6.	Qualidade microbiológica e físico-química de leite	35
2.7.	Qualidade microbiológica de queijo	39
2.7.1.	Coliformes totais e termotolerantes	41
2.7.2.	<i>Staphylococcus</i> spp.	42
2.7.3.	<i>Salmonella</i> spp.	43
2.7.4.	Bactérias ácido-láticas	44
2.7.5.	Bolores e leveduras	45
2.8.	Qualidade físico-química de queijo	46
2.8.1.	Extrato seco total	46
2.8.2.	Umidade	47
2.8.3.	Gordura	48
2.8.4.	Acidez titulável	49
2.8.5.	pH	49
2.8.6.	Nitrogênio total	50
3.	MATERIAL E MÉTODOS	51
3.1.	Amostragem e aquisição do queijo Minas artesanal	51
3.2.	Informações gerais dos queijeiros e das propriedades	51
3.3.	Análises laboratoriais	52
3.3.1	Avaliação de qualidade microbiológica de água	52

3.3.2.	Avaliação de qualidade microbiológica de soro-fermento	52
3.3.3.	Avaliação de qualidade microbiológica e físico-química de leite cru	52
3.3.4.	Avaliação de qualidade microbiológica de queijo Minas artesanal	53
3.4.	Metodologias utilizadas nas avaliações de parâmetros microbiológicos de qualidade	53
3.4.1.	Pesquisa de coliformes a 30°C e a 45°C	53
3.4.2.	Pesquisa de <i>Staphylococcus</i> coagulase positivo	53
3.4.3.	Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.	54
3.4.4.	Pesquisa de bactérias ácido-láticas	54
3.4.5.	Pesquisa de bolores e leveduras	54
3.4.6.	Contagem padrão em placas de micro-organismos mesófilos aeróbios	54
3.5.	Qualidade físico-química dos queijos	55
3.6.	Delineamento experimental e análise estatística	55
	4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
4.1.	Informações gerais sobre os queijeiros e as propriedades	56
4.2.	Qualidade microbiológica de água	57
4.3.	Qualidade microbiológica de soro-fermento	60
4.4.	Qualidade microbiológica e físico-química de leite cru	61
4.5.	Qualidade microbiológica de queijo	66
4.5.1.	Diferenças microbiológicas em queijo Minas artesanal entre períodos de análise (seca e chuvas)	66
4.5.2.	Diferenças microbiológicas em queijo Minas artesanal durante a maturação	69
4.5.2.1.	Coliformes a 30°C e a 45°C	69
4.5.2.2.	<i>Staphylococcus</i> coagulase positivo	71
4.5.2.3.	<i>Salmonella</i> spp.	73
4.5.2.4.	Bactérias ácido-láticas	73
4.5.2.5.	Bolores e leveduras	75
4.6.	Qualidade físico-química de queijo	76
4.6.1.	Diferenças físico-químicas em queijo Minas artesanal entre períodos de análise (seca e chuvas)	76
4.6.2.	Diferenças físico-químicas em queijo Minas artesanal durante a maturação	80
4.6.2.1.	Extrato seco total	80
4.6.2.2.	Umidade	81
4.6.2.3.	Gordura	82
4.6.2.4.	Acidez titulável	83
4.6.2.5.	pH	84
4.6.2.6.	Nitrogênio total	85

5.	CONCLUSÕES	86
6.	PERSPECTIVAS FUTURAS	87
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	87
8.	ANEXOS	102

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Regiões produtoras de QMA e principais características de produção	24
Tabela 2.	Microrregiões da mesorregião de Campo das Vertentes, seus municípios e municípios autorizados pelo Programa Queijo Minas Artesanal	29
Tabela 3 -	Parâmetros microbiológicos estabelecidos pelas Leis nº14.185 e nº 20.549 e pelo Decreto 44.864 de 2008, para inspeção de água destinada à produção de queijo Minas artesanal	34
Tabela 4 -	Parâmetros microbiológicos estabelecidos pelas Leis nº14.185 e nº 20.549 e pelo Decreto 44.864 de 2008, para inspeção de leite cru destinado à produção de queijo Minas artesanal	36
Tabela 5 -	Parâmetros físico-químicos estabelecidos pelas Leis nº14.185 e nº 20.549 e pelo Decreto 44.864 de 2008, para inspeção de leite cru destinado à produção de queijo Minas artesanal	39
Tabela 6 -	Parâmetros microbiológicos estabelecidos pelo Decreto nº44.864, para inspeção de queijo Minas artesanal, e determinados pela Portaria nº146, para queijos industrializados de média umidade (36% a 45,9%)	41
Tabela 7 -	Resultados médios (x) e coeficientes de variação (CV) de parâmetros microbiológicos de qualidade de água de queijaria de produtores cadastrados na região de Campo das Vertentes – MG	57
Tabela 8 -	Resultados médios (x) e coeficientes de variação (CV) de parâmetros microbiológicos de qualidade de soro-fermento de queijarias cadastradas pelo IMA na região de Campo das Vertentes – MG	60
Tabela 9 -	Resultados médios (x) e coeficientes de variação (CV) de contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT) de leite cru obtido em queijarias cadastradas pelo IMA na região de Campo das Vertentes – MG	62

Tabela 10 -	Resultados médios (x) e coeficientes de variação (CV) de parâmetros microbiológicos de qualidade de leite cru de queijarias cadastradas pelo IMA na região de Campo das Vertentes – MG	63
Tabela 11 -	Resultados médios (x) e coeficientes de variação (CV) de parâmetros físico-químicos de qualidade de leite cru de queijarias cadastradas pelo IMA na região de Campo das Vertentes – MG	65
Tabela 12 -	Resultados médios (x) e coeficientes de variação (CV) de parâmetros microbiológicos de queijo Minas artesanal de queijarias cadastradas pelo IMA na região de Campo das Vertentes – MG	66
Tabela 13 -	Resultados médios (x) e coeficientes de variação (CV) de parâmetros físico-químicos de queijo Minas artesanal de produtores cadastrados na região de Campo das Vertentes – MG	77
Tabela 14 -	Médias de parâmetros microbiológicos de qualidade de queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG no período de seca	108
Tabela 15 -	Médias de parâmetros microbiológicos de qualidade de queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG no período das chuvas	108
Tabela 16 -	Médias de parâmetros físico-químicos de qualidade de queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG no período de seca	109
Tabela 17 -	Médias de parâmetros físico-químicos de qualidade de queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG no período das chuvas	109

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Mapa do queijo Minas artesanal	23
Figura 2 -	Fluxograma de produção de queijo Minas artesanal	26
Figura 3 -	Mapa com mesorregiões de Minas Gerais	29
Figura 4 -	Mapa da mesorregião de Campo das Vertentes	30

Figura 5 -	Chuva acumulada mensal para o ano de 2012 da estação de Barbacena, Campo das Vertentes – MG	59
Figura 6 -	Chuva acumulada mensal para o ano de 2013 da estação de Barbacena, Campo das Vertentes – MG	59
Figura 7 -	Evolução do Número Mais Provável (NMP) de coliformes a 30°C em queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG durante a maturação	70
Figura 8 -	Evolução do Número Mais Provável (NMP) de coliformes a 45°C em queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG durante a maturação	70
Figura 9 -	Evolução da contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positivo em queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG durante a maturação	72
Figura 10 -	Evolução da contagem de bactérias ácido-láticas em queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG durante a maturação (inoculação em ágar MRS)	74
Figura 11 -	Evolução da contagem de bactérias ácido-láticas em queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG durante a maturação (inoculação em ágar M17)	74
Figura 12 -	Evolução da contagem de bolores e leveduras em queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG durante a maturação	76
Figura 13 -	Evolução do extrato seco total (%) em queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG durante a maturação	80
Figura 14 -	Evolução da umidade (%) em queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG durante a maturação	81
Figura 15 -	Evolução do teor de gordura (%) em queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG durante a maturação	82

Figura 16 -	Evolução da acidez titulável (% de ácido láctico) em queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG durante a maturação	83
Figura 17 -	Evolução do pH em queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG durante a maturação	84
Figura 18 -	Evolução do teor de nitrogênio total (%) em queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG durante a maturação	85

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1 -	Questionário para diagnóstico preliminar da produção de leite e queijo de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG	102
Anexo 2 -	Médias de parâmetros microbiológicos de qualidade de queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG nos períodos de seca e chuva	108
Anexo 3 -	Médias de parâmetros físico-químicos de qualidade de queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG nos períodos de seca e chuva	109

LISTA DE ABREVIATURAS

ABIQ	Associação Brasileira das Indústrias de Queijos
A.C.	Antes de Cristo
AOC	Apelação de Origem Controlada
APAQS	Associação dos Produtores Artesanais de Queijo do Serro
Aw	Atividade de Água
BAL	Bactérias Ácido-Láticas
BPF	Boas Práticas de Fabricação
BPLS	Ágar verde brilhante vermelho de fenol lactose sacarose
CBT	Contagem Bacteriana Total
CCS	Contagem de Células Somáticas
CV	Coefficiente de Variação
COPASA	Companhia de Saneamento de Minas Gerais
DTIPOA	Departamento de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal
EMATER	Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural
EST	Extrato Seco Total
EV	Escola de Veterinária
g	Gramma
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IMA	Instituto Mineiro de Agropecuária
INPI	Instituto Nacional de Propriedade Industrial
L	Litro
LabUFMG	Laboratório de Análise da Qualidade do Leite da UFMG
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MG	Minas Gerais
MRS	Man-Rogosa-Sharpe
NMP	Número Mais Provável
NT	Nitrogênio Total
PCA	Plate Count Agar
PCR	Polymerase Chain Reaction
ppm	Partes Por Milhão
PT	Proteína Total
RIISPOA	Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal
SISBI - POA	Sistema Brasileiro de Inspeção de Produtos de Origem Animal
SUASA	Sistema Único de Atenção à Sanidade Agropecuária
t	Tonelada
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UFC	Unidade Formadora de Colônia

RESUMO

O queijo Minas artesanal é feito por produtores familiares, em pequena escala, com a utilização de leite cru e métodos tradicionais. Fatores físico-naturais, socioculturais e animais, além de micro-organismos autógenos, contribuem para um queijo de aparência e sabores específicos. Após identificação legal de Campo das Vertentes como produtora de queijo Minas artesanal, tornou-se necessária a caracterização do produto. O objetivo deste trabalho foi caracterizar, de forma microbiológica e físico-química, o queijo Minas artesanal produzido na mesorregião do Campo das Vertentes, Minas Gerais, nas propriedades cadastradas pelo IMA, durante 60 dias de maturação e nos períodos de seca e chuva. Na comparação período seca e chuvas, não houve diferença nas contagens de bolores e leveduras e nos teores de extrato seco total, umidade, gordura, acidez titulável e nitrogênio total do queijo. As contagens de coliformes a 30°C e 45°C e *Staphylococcus* coagulase positivo foram estatisticamente superiores nas chuvas, período de maior desafio sanitário, e acima dos limites estabelecidos em legislação. Em contrapartida, contagens de bactérias ácido-láticas em ágar MRS e ágar M17 foram maiores na seca. Não houve detecção de *Salmonella* spp. em qualquer amostra analisada. Durante a maturação, houve diferença significativa apenas nas contagens de BAL no inverno, com contagens menores ao longo do período em estoque. Não houve queda dos micro-organismos indesejáveis principalmente por pós-contaminação durante a maturação. Para as análises físico-químicas, a maturação alterou de forma significativa os teores de EST, gordura, umidade e nitrogênio total, principalmente por concentração por evaporação. A maturação, portanto, é apenas um fator dentre diversos que asseguram a inocuidade do queijo Minas artesanal. Por fim, esta pesquisa permitiu maior conhecimento da situação de queijo Minas artesanal de queijarias cadastradas do Campo das Vertentes - MG. Ela pode ser interpretada como um estudo preliminar, que poderá permitir a melhora desse produto artesanal.

Palavras chave: queijo Minas artesanal, inspeção, microbiologia, físico-química, qualidade; maturação

ABSTRACT

Artisanal Minas cheese is made under small scale production, using traditional methods and raw cows' milk. Environmental, socio-economical, and livestock factors, allied with an indigenous microbiota, allow unique cheese characteristics, such as flavor and appearance. There have been few researches focusing on this specific cheese from Campo das Vertentes. Hence, the aim of this study was to specify the microbiological and physical-chemical characteristics of artisanal Minas cheese from registered cheese producers from Campo das Vertentes, during a sixty-day ripening and in two different seasons, summer and winter (rainy and dry seasons). There were not any differences on the counts of moulds and yeasts and on the percentage of total solids, water content, fat and total nitrogen when seasons were compared. However, the counts of total and thermotolerant coliforms, and *Staphylococcus* coagulase positive were higher during the summer, whilst the counts of acid lactic bacteria on MRS agar and M17 agar were higher in the dry season. *Salmonella* spp. were not detected in any sample inspected. During the sixty-day ripening, the counts of lactic acid bacteria, on both agars, became inferior only during winter. The counts of the other microorganisms were the same throughout the ripening, specially because of post-contamination as aging. The same happened with pH and with the percentage of titratable acidity. Nonetheless, the percentage of total solids, water content, fat, and total nitrogen diverged mainly because of concentration by evaporation of water. Therefore, the ripening process is one single step in the achievement of an innocuous artisanal Minas cheese. Conclusively, this study has allowed a broader knowledge of the artisanal Minas cheese from registered producers from Campo das Vertentes and can be seen as a preliminary investigation on the matter.

Keywords: artisanal Minas cheese, microbiology, physic-chemical, inspection, food quality, ripening

1. INTRODUÇÃO

O queijo artesanal, alimento do homem há milênios, tem tido a reputação questionada quanto à sua inocuidade. Considerados testemunhas da história, da cultura e do estilo de vida das comunidades que os produzem (Licitra, 2010), os queijos tradicionais se veem em um embate entre segurança alimentar e sua valorização e preservação. Dado que ambos os pontos são de extrema importância, faz-se necessário um estudo minucioso de tais produtos. No estado de Minas Gerais, aqueles denominados queijo Minas artesanal (QMA) são a principal variedade produzida e comercializada e, assim, são foco deste trabalho.

O queijo Minas artesanal, assim como outro produto artesanal, é feito por fazendeiros, em pequena escala, com a utilização de métodos tradicionais. Os fatores físico-naturais, os socioculturais, os animais e os micro-organismos autógenos, todos contribuem para um queijo de aparência e sabores específicos. Também a ausência de controle de temperatura e umidade e o uso de tecnologia pouco padronizada contribuem para um produto de características variáveis (Meneses, 2006; Torres-Llanez, Vallejo-Cordoba, Días-Cinco *et al.*, 2006).

O Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), documento soberano quanto à inspeção de produtos de origem animal, determina que o queijo feito a partir de leite cru só pode ser liberado para a venda e consumo após 60 dias de maturação (Brasil, 1952). Esse seria o tempo necessário para

tornar o produto seguro para consumo, uma vez que, com a maturação, há queda de pH e umidade e aumento da concentração de cloreto de sódio, que contribuem para a queda da população patogênica (Martins, 2006). Outro fator importante para um tempo mínimo de maturação é a atividade inibitória de cepas de bactérias ácido-láticas frente a micro-organismos indesejáveis e patogênicos (Alexandre, Silva, Souza *et al.*, 2002). Entretanto, se for obedecido o período preestabelecido pelo RIISPOA, o queijo Minas artesanal passa a não apresentar suas características de identidade, o que resulta em rejeição por parte do consumidor.

No início da década passada, o Ministério Público determinou que o queijo Minas artesanal deveria estar de acordo com as diretrizes do RIISPOA, do contrário seria extinto. A partir de então, vários setores das esferas públicas e privadas se mobilizaram para reverter a situação. O estado de Minas Gerais, ciente do valor econômico, cultural e social do produto, promulgou em 2002 a Lei 14.185, pioneira no assunto. Como consequência, a produção de queijo Minas artesanal passou a ser permitida, mas sua comercialização era restrita ao estado. Apenas com a anuência do Governo Federal, com a promulgação do Decreto 5.741 e da Instrução Normativa 30 de 2013 e com a adesão do IMA ao SISBI-POA e confirmação de sua equivalência, a venda do queijo Minas artesanal passou a ser autorizada para outras unidades federativas do país (Minas Gerais, 2002a; Gomes, 2006; Brasil, 2006a; Brasil, 2013).

A mesorregião de Campo das Vertentes, situada no centro sul de Minas Gerais, teria sido o primeiro local no país onde houve produção de queijo. A região apresenta cerca de 16 mil estabelecimentos agropecuários, que contam com 400 mil cabeças de gado e uma produção média anual de 350 mil litros de leite (Instituto Brasileiro..., 2006). Ainda que a produção corresponda a pouco mais de 5% do montante total do estado, a região pode se beneficiar com o queijo Minas artesanal, já que é importante polo turístico do país. Além disso, sua elaboração mantém viva a tradição local, diminui o êxodo rural e contribui com a remuneração do produtor, que agrega valor ao seu queijo.

Na medida em que o estado é foco de atenção de investidores externos, é vital que produtos tradicionais de Minas Gerais, como o queijo Minas artesanal, sejam bem caracterizados. Devem ser estabelecidas e mantidas suas identidades físico-químicas, microbiológicas e sensoriais para que o produto tenha aceitação e seja valorizado no mercado (Nogueira *et al.*, 2005).

O estudo da forma de produção, da importância histórica e social e da microbiota de queijos artesanais tem tido destaque nas pesquisas de derivados lácteos nas últimas décadas. A preservação do saber-fazer e de micro-organismos autóctones com objetivos tecnológicos e socioculturais tem sido, aliada à inocuidade dos produtos, uma das principais metas nas pesquisas.

Assim, após identificação legal de Campo das Vertentes como produtora de queijo Minas artesanal (Minas Gerais, 2009), tornou-se

necessária a caracterização microbiológica e físico-química do produto, tanto para a formação de conhecimento quanto para a permanência da legalização do queijo ali produzido. O estudo do queijo Minas artesanal da mesorregião se faz necessário, uma vez que, embora haja legislação que o reconheça, não há trabalhos disponíveis que o identifiquem, caracterizem e avaliem.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Queijos

O queijo pode ser determinado como um produto fresco ou maturado obtido por separação parcial do soro do leite, coagulado pela ação física do coalho, de enzimas e bactérias específicas, entre outros (Brasil, 1996a). Sua produção transforma um alimento altamente perecível, o leite, em um produto alimentar de maior duração (Zotolla e Smith, 1991).

Queijo, portanto, é o nome genérico dado a um grupo de produtos lácteos fermentados. Acredita-se que seu primeiro exemplar tenha surgido na região do Crescente Fértil há 8.000 anos, entre os rios Tigre e Eufrates, onde hoje é o Iraque. Seu aparecimento está associado à domesticação de animais, principalmente cabras e ovelhas, e ao aproveitamento de seus produtos. Os alimentos fermentados pioneiros surgiram, assim, de uma combinação ao acaso de temperatura ideal e presença de bactérias ácido-láticas no leite acondicionado em estômago de ruminantes. Havia coagulação do leite com formação de um gel que, após movimentação intencional ou não, era

quebrado em coágulo e soro (Fox *et al.*, 2004; Meneses, 2006).

Materiais depositados em uma tumba, entre 3.100 e 2.900 A.C., no Egito antigo, foram identificados como queijo por arqueologistas. Essas são, portanto, as primeiras evidências concretas da produção de queijo por povos antigos. Na Grécia antiga, a produção de queijo de ovelha foi descrita por Homero na obra *A Ilíada*, no século VII A.C. Diodorus, no século I A.C., discorre sobre a lenda de Aristeus, filho de Apolo, que aprendeu a arte da produção de queijo e repassou o conhecimento para a população grega. Estima-se que, na Europa ocidental, a produção de queijos se iniciou como decorrência do Império Romano, que trouxe a tecnologia de fabricação da Grécia. Registros sobre tais produtos, entretanto, só estão disponíveis a partir da Idade Média. A América e seus povos não utilizavam nenhum tipo de leite até serem colonizados pelas metrópoles europeias, a partir do século XVI. Países orientais, incluindo Japão, Índia e China, permaneceram sem leite e queijo até os tempos modernos quando, sob a influência da globalização, passaram a produzir e consumir derivados lácteos (Dalby, 2009; Litopoulou-Tzanetaki e Tzanetakis, 2011).

Estimou-se que a produção anual mundial de queijos, em 2011, foi em torno de 20 milhões de toneladas, distribuída por mais de mil variedades. Os maiores produtores são Estados Unidos, Alemanha e França, que respondem por 45% de todo o volume mundial (Food..., 2011). O Brasil apareceu nas estatísticas oficiais internacionais como produtor de 44 mil toneladas em 2011. As

estatísticas locais, entretanto, calculam 867 mil toneladas no mesmo ano (Associação..., 2012). A partir desses dados, conclui-se que a média de consumo anual no país, por habitante, gira em torno de 4 kg, acima da média mundial (2,9 kg), mas abaixo dos grandes consumidores (Grécia, com 25,4 kg e França, com 23,6 kg *per capita*) (Fox *et al.*, 2004).

2.2. Queijos artesanais

Queijos artesanais representam uma herança cultural e são o resultado de conhecimento empírico acumulado e passado de geração a geração. Cada queijo está conectado ao seu território de origem e às suas condições pedoclimáticas (Alichanidis e Polychroniadou, 2008). Por séculos, em diferentes países, o queijo tem sido elaborado em fazendas por criadores de gado, cabras, ovelhas e outros mamíferos, usando técnicas tradicionais. Nem sempre há um procedimento padrão adotado durante a produção (Aygün, Aslantas e Oner, 2005; Majhenić *et al.*, 2007).

Tais produtos são caracterizados por sabores intensos e peculiares, com grande variabilidade entre cada tipo. Isso porque os queijos artesanais são expressão da interação entre os animais, os humanos, o ambiente rural e a natureza. O sabor e a textura únicos desses produtos lácteos refletem a fermentação e a maturação e são causados por linhagens de bactérias ácido-láticas e outros micro-organismos presentes no ambiente e no leite. Também são responsáveis pela diversidade o ambiente, micro e macroclimas, o tipo de pastagem,

alimentação do rebanho, a espécie e a raça dos animais, o uso de coagulantes e outros ingredientes. Mesmo a forma de fabrico, o uso de equipamentos e materiais históricos exercem influência sobre o resultado final do produto (Majheniç *et al.*, 2007; Licitra, 2010).

O leite a ser utilizado na fabricação do queijo artesanal é, em sua maioria, desprovido de tratamento térmico. A pasteurização é controversa. Seus opositores argumentam que o queijo perde suas características sensoriais e que, se feito a partir de leite com baixas contagens bacterianas e livre de patógenos, não oferece risco aos consumidores. De fato, o leite cru contém parte dos micro-organismos responsáveis pelo sabor final (Henri-Dubernet *et al.*, 2004). Por outro lado, a qualidade microbiológica da matéria-prima é altamente variável, o que pode causar problemas como estufamento precoce, falta de uniformidade do produto final ou até mesmo presença de patógenos (González, Mas, Tabla *et al.*, 2003; Law e Tamime, 2010; Williams e Withers, 2010).

A União Europeia, em conjunto com o *Codex Alimentarius*, tem discutido a segurança do uso de leite cru para a produção de queijo artesanal. Ainda que alguns países europeus, principalmente do norte, tenham determinado o tratamento térmico como obrigatório, existem, desde a década de 90, ações tanto para manter o uso de leite cru quanto para preservar os queijos feitos a partir dessa matéria-prima (Dixon, 2000). Nos Estados Unidos, o órgão governamental que controla os produtos de origem animal ainda determina um período mínimo de maturação

de 60 dias para queijos feitos a partir de leite não pasteurizado. Há, entretanto, uma forte pressão da opinião pública que, ávida por consumir tais produtos, tenta impedir sua proibição (Paxson, 2008).

Do ponto de vista econômico, deve-se considerar que a produção de queijo artesanal é uma alternativa viável contra a redução do número de pequenos produtores de leite. Em mercados especializados, um queijo artesanal de qualidade é altamente apreciado e pode atingir valor diferenciado (Vasek, Leblanc, Fusco *et al.*, 2008; Licitra, 2010). Em países em desenvolvimento, a produção de queijos por meio da fermentação espontânea do leite cru também representa um método de preservação barato e confiável dessa matéria-prima (Beresford, Fitzsimons, Brennan *et al.*, 2001).

2.3. Queijos artesanais no Brasil

Durante o período colonial, o queijo entrava no país como produto importado da metrópole e recebia o nome de flamengo. Registros de navios entre Portugal e o Brasil, no século XVIII, evidenciavam o comércio. Alguns desses produtos originavam-se também da Inglaterra, parceira comercial do reino português (Barbosa, 1971; Pinto, 1979).

Acredita-se que o queijo passou a ser produzido no Brasil com a vinda da família real portuguesa, em 1808. Seu formato inicial era como queijo do Reino (derivado de “queijo que veio do reino”), de massa prensada, semiduro e sabor suave. Conhecido na metrópole como Serra da Estrela, era nativo das montanhas de onde se originou o

nome. Sua coagulação se dava a partir da adição de extrato de cardo (*Cynara cardunculus*). Como adjuvantes no processo de coagulação, no Brasil, eram utilizados estômagos de animais nativos, como anta, veado e tatu canastra, uma vez que os fazendeiros se recusavam a abater bezerros para a obtenção do coalho (Pinto, 1979; Albuquerque, 1986; Tavarina *et al.*, 2003; Dias, 2006).

Atualmente, destacam-se no país os seguintes queijos artesanais, feitos a partir de leite cru:

- Serrano e Colonial: produzidos em Santa Catarina e no Rio Grande do Sul, a partir de leite de rebanhos de corte (Menezes, 2011);
- Minas artesanal, meia-cura: ambos de Minas Gerais, diferem-se pela adição de cultura láctica, tempo de maturação e temperatura de estocagem (Minas Gerais, 2012);
- Coalho e requeijão: produzidos no nordeste do país, são queijos de alta umidade e pouco maturados (Guedes Neto, 2004).

Como características comuns da produção dos queijos artesanais brasileiros, destacam-se um caráter pouco especializado, produção familiar e sazonal e de pequeno volume (Almeida, 2001). Deve-se reconhecer, entretanto, que a elaboração de queijos artesanais está intimamente conectada e adaptada à sua origem e, com isso, contribui para a permanência e manutenção do agricultor no ambiente rural (Menezes, 2011).

2.3.1. Queijo Minas artesanal

Minas Gerais é, reconhecidamente, o mais tradicional elaborador de queijos no país. O estado apresenta o segundo maior rebanho bovino e é o principal produtor de leite, com cerca de 20 milhões de cabeças e cinco bilhões de litros de leite/ano. Em relação à agricultura familiar, o estado conta com 437 mil estabelecimentos, divididos em uma área de cerca de nove milhões de hectares (Instituto..., 2006; Netto, 2012).

A região de São João del-Rei, tema deste estudo, responde por 4.750 estabelecimentos, que ocupam 109 mil hectares. O número de cabeças da região corresponde a cerca de 30 mil, com produção anual de 26 milhões de litros de leite (Instituto..., 2006).

2.3.1.1. Histórico

A alimentação dos povos se enquadra como um hábito cultural, sendo também representação da história local. No caso do queijo Minas artesanal, é inegável o valor de identificação cultural e sua simbologia em relação à identidade do mineiro (Netto, 2012; Severino, 2012).

Os primeiros exemplares de queijo em Minas Gerais surgiram durante a exploração de ouro, no século XVIII, e chegavam à capitania, exportados da metrópole e vindos da capital, em tropas carregadas de mantimentos. Nesse período, a presença de bovinos para produção de leite era restrita e servia como de subsistência na capitania. O rebanho se destinava principalmente ao corte e fornecimento de couro e, entre 1717 e 1721, foi estimado em 18 a 20 mil cabeças (Frieiro,

1966; Barbosa, 1971). Já no século XIX, diversos naturalistas, em visita ao Brasil, citaram a produção e o consumo de queijo na região de Campo das Vertentes. Durante esse período, a Corte portuguesa já havia se estabelecido no país e a produção aurífera em Minas Gerais, em decadência, dava lugar à agricultura e à pecuária (Barbosa, 1971; Latif, 1991). Na região de São João del-Rei, havia a criação de um gado grande e robusto, de cor castanha, sendo as vacas ordenhadas apenas uma vez por dia e com produção média de um litro. Era permitido aos bezerros, criados ao pé, um quarto dos tetos, enquanto os outros três eram ordenhados pelo encarregado. O leite era descrito como de qualidade similar ao europeu e parte dele era usada para a fabricação de um queijo seco. Juntamente com feijão, toucinho, farinha, galinha e arroz, o queijo era a base da alimentação de tropeiros e, principalmente, das classes superiores (Saint-Hilaire, 1975; Pohl, 1976).

John Mawe, um dos primeiros cientistas a aportar no Brasil, em 1808, criticou duramente a produção de queijos em Minas Gerais. Ao descrever uma fazenda e sua queijaria (queijeira), demonstrou horror: as instalações e os equipamentos não haviam sido limpos desde o fim da estação das chuvas, quando o queijo era feito. Com isso, o ambiente exalava um cheiro repugnante. Nesta e em outra ocasião, ele se dispôs a ensinar aos responsáveis sobre a produção de queijos na Inglaterra, seu país natal. Citou também que, em São João del-Rei, havia então uma pequena produção de queijo, que era enviada ao Rio de Janeiro, capital da

colônia, e a Vila Rica, capital da capitania (Mawe, 1978).

O estudioso russo W. G. Freireyss, em passagem por São João del-Rei em 1814, descreveu que o queijo mineiro, ainda que de produção e qualidade precárias, já era vendido para outras regiões da colônia. Citou então uma tropa, com 220 a 250 mulas, que levava ao Rio de Janeiro, além de outras mercadorias, queijo de Minas Gerais. O transporte se fazia por cestos de taquara, chamados de jacás (Freireyss, 1982). Nos anos seguintes, registros citados por Johann Pohl indicavam que queijos saídos da mesma região eram exportados para o Rio de Janeiro (Pohl, 1976).

Saint-Hilaire, biólogo francês, percorreu sobre o valor de venda do queijo, barato e de baixo retorno financeiro. Além disso, indicou que o leiteiro era dado aos animais como substituto ao sal, mercadoria cara à época. Nesse período, São João del-Rei e região já apresentavam um rebanho mais numeroso, o que permitia maior remessa do produto lácteo para as capitais do Brasil e de Minas Gerais (Saint-Hilaire, 1974; Saint-Hilaire, 1975). Debret, também francês, em 1817 citou o queijo de Minas e queijos importados da Holanda e da Inglaterra sendo servidos como sobremesa em um jantar no Rio de Janeiro (Debret, 1978).

Estima-se que a produção de queijos na capitania era feita com prensagem em sacos de algodão e formas de madeira, ainda que haja poucos registros descrevendo a técnica. Também se acredita que o queijo era vendido e consumido maturado, o que possibilitaria

sua preservação durante o transporte para outras regiões (Mawe, 1978; Meneses, 2000).

Em meados do século XIX, a manufatura de laticínios se iniciou e passou a prosperar em grande escala, por iniciativa do médico Carlos Pereira de Sá Fortes. A instalação da primeira indústria do país ocorreu na região da Mantiqueira e combinou o desenvolvimento da pecuária no estado com a tradição do queijo de Minas. O aumento da demanda por produtos lácteos determinou o aparecimento de novos laticínios na região, com importação de tecnologia de países europeus. Assim, os queijos industriais passaram a responder por parte do montante produzido no estado. No século XX, as formas de produção industrial continuaram evoluindo, com aumento em volume e variedade dos queijos produzidos no Brasil. Na década de 1910, surgiu a inspeção de produtos de origem animal, regulada pelo atual Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que se encarregava apenas da certificação dos produtos industrializados. Ainda assim, a produção do queijo artesanal não cessou e continuou ligada à manutenção do homem no campo e sua sobrevivência (Frieiro, 1966; Dias, 2006; Oliveira, 2008). Nos tempos atuais, o queijo Minas artesanal responde por 30 mil das 215 mil toneladas de queijo produzidas anualmente em Minas Gerais (Instituto Brasileiro..., 2006; Empresa..., 2013).

2.3.1.2. Situação legal

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), em seu Regulamento de Inspeção Industrial e

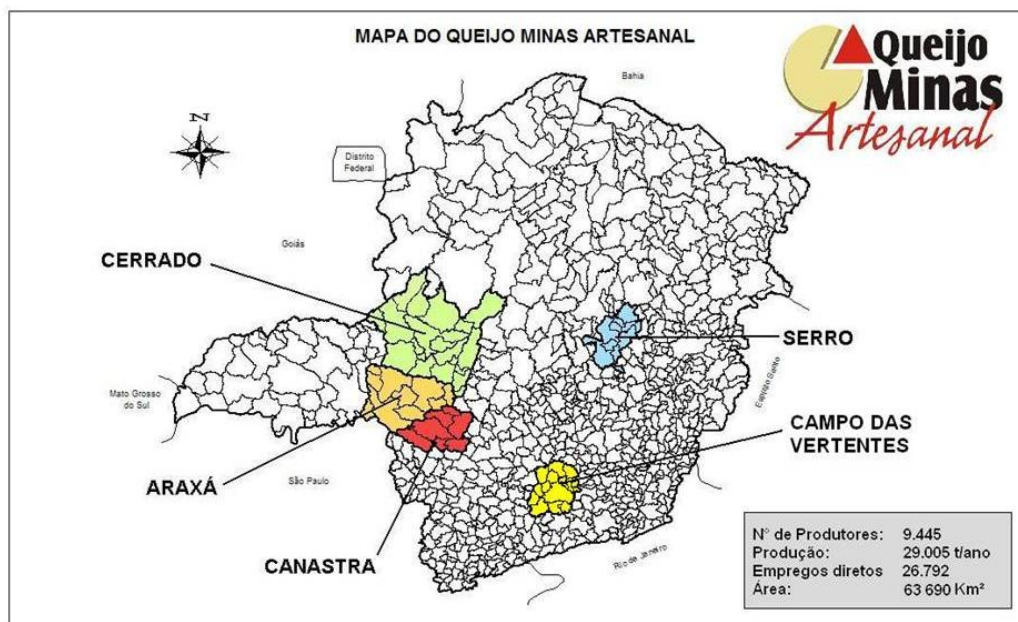
Sanitária de Produtos de Origem Animal, determina que o queijo feito a partir de leite cru só pode ser liberado para a venda e consumo após 60 dias de maturação (Brasil, 1952). Entretanto, após esse período, o queijo Minas artesanal já não apresenta suas características de identidade, o que resulta em rejeição por parte do consumidor. Há também um grande comércio do produto ainda fresco, em descumprimento a esta regulamentação (Ornelas, 2005).

Atendendo à demanda da opinião pública, o estado tem se mobilizado para atualizar a legislação. Com isso, nos últimos dois anos, entraram em vigor regulamentos que modificam a situação de queijos artesanais. Na esfera federal, a Instrução Normativa 30, de agosto de 2013, passa a permitir maturação inferior a 60 dias. Para isso, estudos científicos devem comprovar a inocuidade do produto, além de os produtores atenderem a exigências como participação em programas de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose Bovinas, Boas Práticas de Ordenha, de Fabricação e de Controle de Mastite (Brasil, 2013). Na esfera estadual, a Lei 20.549, de dezembro de 2012, dispõe sobre a produção e comercialização dos queijos artesanais de Minas Gerais. Entre os pontos abordados, destacam-se a forma de produção, a comercialização e a fiscalização do produto (Minas Gerais, 2012). Também em vigor, a Portaria 1.305, de 30 de abril de 2013, determina tempos mínimos de maturação para o queijo Minas artesanal produzido a partir de leite cru e com a utilização de pingos. Ainda trata de

outros aspectos, como sanidade do rebanho e qualidade do leite (Minas Gerais, 2013).

O Programa Queijo Minas Artesanal, instituído pelo Instituto Mineiro de

Agropecuária (IMA), promove e regulariza a situação dos queijos tradicionais no estado. Para tanto, foram reconhecidas cinco regiões historicamente envolvidas na produção (Figura 1).



Fonte: Empresa..., 2013

Figura 1. Mapa do queijo Minas artesanal

Dentre essas regiões, encontram-se produtores independentes, em fase de cadastramento e já cadastrados. Para cadastramento no órgão, o responsável deve apresentar os seguintes documentos: exame médico e teste de tuberculose dos trabalhadores, comprovante de vacinação do rebanho contra raiva, brucelose e febre aftosa, cópia do cartão de controle sanitário, atestado negativo de teste contra brucelose e tuberculose do rebanho, análise microbiológica e físico-química da água e do queijo, planta baixa da propriedade, formulário de compromisso preenchido e

modelo do rótulo do queijo (Minas Gerais, 2012).

Além da exigência documental, o produtor deve adequar as instalações da queijaria para que seu pedido seja deferido. Destacam-se exigências como construção em alvenaria, com salas de fabricação e maturação. A dependência deve ser cercada e revestida internamente com material lavável, deve contar com janelas à prova de insetos, com caixa d'água, e não pode haver conexão direta com curral/estábulo/sala de ordenha (Minas Gerais, 2002b; Minas Gerais, 2012).

A defesa sanitária também é abordada pelos regulamentos vigentes. Os animais devem ser vacinados contra febre aftosa e raiva, e as fêmeas, contra brucelose. A propriedade deve ser reconhecida como livre ou controlada para brucelose e tuberculose bovinas. Atenção também deve ser dada ao controle de mastite, com a realização de exames periódicos para detecção da doença clínica e subclínica, além de análise do leite em laboratório da Rede Brasileira de Qualidade do Leite (Minas Gerais, 2002c; Brasil, 2013).

O cadastro é importante, pois, além de legalizar o queijo, permite sua comercialização em outros estados. Isso é possível uma vez que o Sistema Brasileiro de Inspeção de Produtos de Origem Animal (SISBI-POA), participante do Sistema Único de Atenção à Sanidade Agropecuária (SUASA), equipara os serviços de inspeção locais/estaduais. Para tanto, o IMA deve ter aderido ao sistema, o que já ocorre (Brasil, 2006a).

Tabela 1. Regiões produtoras de queijo Minas artesanal e suas principais características

	Número de produtores	Produtores cadastrados IMA	Produção (t/ano)	Área (km ²)	Data de reconhecimento (Portaria IMA)
Serro	881	111	3.106	6.960	29/10/2002 (546, de 2002)
Canastra	1.526	40	5.787	7.452	17/11/2004 (674, de 2004)
Cerrado	6.112	60	17.357	29.397	01/12/2003 (619, de 2003)
Araxá	943	20	2.755	13.629	10/10/2003 (594, de 2003)
Campo das Vertentes	-	3	-	6.254	03/11/2009 (1.022, de 2009)

Fonte: Empresa..., 2012; Instituto Mineiro..., 2013

2.3.1.3. Situação econômica e social

O queijo Minas artesanal, ainda que competindo com o queijo Minas industrializado, demonstra que tem força no âmbito econômico (Meneses, 2006). Pelo estado, são cerca de nove mil produtores envolvidos no Programa Queijo Minas Artesanal, com produção superior a 29 mil toneladas por ano e geração de 26 mil empregos diretos. Dentre esse universo de produtores, 234 estão cadastrados no IMA (Empresa..., 2013; Instituto Mineiro..., 2013).

Entre as regiões reconhecidas legalmente como produtoras, há uma grande heterogeneidade da pecuária leiteira. Entretanto, é consenso que o queijo Minas artesanal é produzido em fazendas de baixa produção, com mão de obra familiar, e vendido, em sua maioria, para localidades próximas. Há, assim, giro da economia local (Lemos, Galinari, Campos *et al.*, 2003; Meneses, 2006).

A produção de queijo, ainda que em pequena escala, pode ser mais rentável que a venda do leite para um laticínio. Em estudo

considerando custos operacionais semelhantes em ambas as atividades, percebeu-se que a receita proveniente da venda de queijo era 20% maior que da venda de leite. Com isso, pode haver um incremento da renda do produtor e consequente valorização do queijo Minas artesanal (Lopes, Carmo, Lima *et al.*, 2006).

Outro fator importante a ser considerado na exploração da produção de queijo Minas artesanal é o potencial turístico da atividade. O turismo cultural, em evidência na atualidade, tanto preserva quanto gera maiores receitas para a atividade (Gimenes, 2006).

2.3.1.4. Caracterização do queijo Minas artesanal e forma de produção

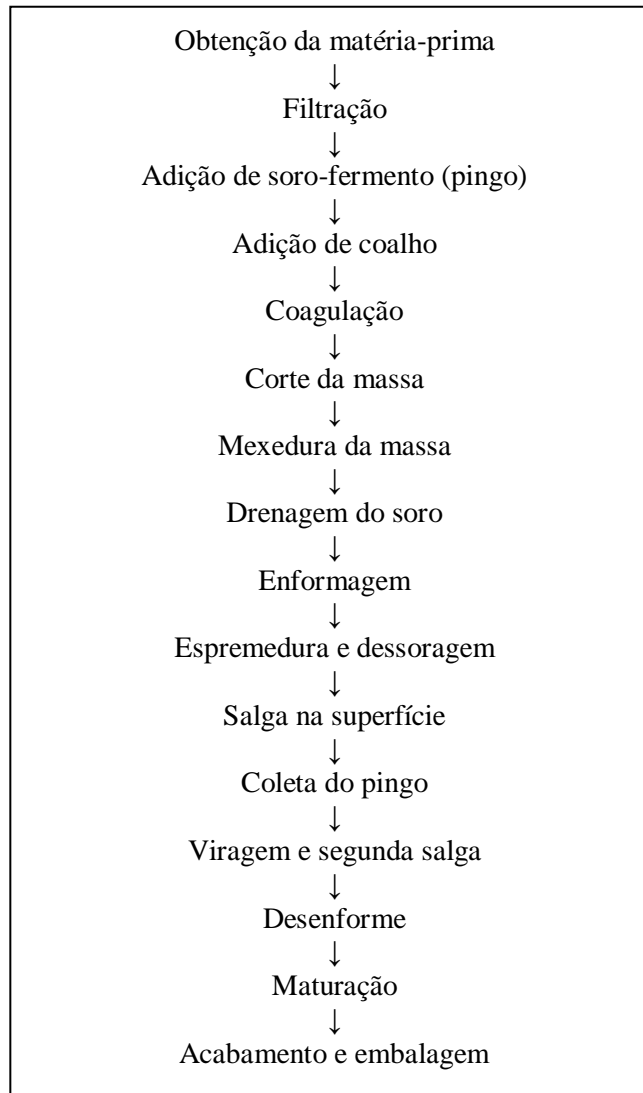
A técnica de produção do queijo Minas artesanal é derivada daquela trazida pelos colonizadores ibéricos. Há divergência, entretanto, em sua origem. Estudos indicam que a produção é baseada no típico queijo da Serra da Estrela, Portugal, enquanto outros sugerem os queijos artesanais de Açores, ilha portuguesa utilizada na rota metrópole-colônia. Sofrendo influências dos lusitanos, dos habitantes luso-brasileiros e, por fim, dos próprios mineiros, a forma de produção se estabeleceu pelo estado de maneira similar. Ainda assim, apresenta características específicas em cada região geográfica onde o queijo é produzido. Contribuem para essas diferenças fatores como o ambiente, a forma

única de produção de cada fazenda e queijeiro, as características do gado e sua alimentação e a microbiota envolvida (Meneses, 2006; Pintado, Pinho, Ferreira *et al.*, 2008; Netto, 2011).

O queijo deve ser elaborado em queijaria anexa à sala de ordenha, para que sua produção se inicie em, no máximo, 90 minutos após o início da ordenha. A queijaria deve ser mantida longe de fontes de odor, com água potável em volume condizente com a produção e, juntamente com seus equipamentos, em rigorosa limpeza (Brasil, 2000a; Minas Gerais, 2012).

O fermento endógeno, popularmente conhecido como pingão, é recolhido da batelada produzida no dia anterior a partir da expulsão do soro no queijo já enformado. A microbiota nativa presente no leite cru, no ambiente, em utensílios e, principalmente, nesse pingão, é responsável pela acidificação e formação de sabor e odor no produto final. Ela é composta principalmente de bactérias ácido-láticas e alguns bolores e leveduras (Machado, Ferreira, Fonseca *et al.*, 2004; Nóbrega, 2007).

A forma artesanal de produção consiste em, basicamente, transformação da matéria-prima, leite, em queijo, com eliminação de soro (figura 2).



Adaptado de: Machado, Ferreira, Fonseca *et al.*, 2004; Meneses, 2006
Figura 2. Fluxograma de produção de queijo Minas artesanal

O leite, oriundo do próprio estabelecimento, é obtido por ordenha mecânica ou manual. Filtrado com tecido sintético, é adicionado do soro-fermento (fermento endógeno ou pingo). Segue-se a adição de coalho, diluído em água e em concentrações indicadas pelo fabricante. Após a coagulação da massa por cerca de 40 minutos, ela é cortada com pá, régua ou lira rústica. Para facilitar o dessoramento, a mexedura é feita em intervalos regulares. Após a expulsão e descarte de grande parte do soro, a massa restante é colocada em panos sintéticos que, acomodados em formas plásticas de 15 cm, auxiliam a prensagem manual. Por fim, a pressão feita pelas mãos do queijeiro remove parte do restante de soro e dá forma ao queijo. A massa, ainda enformada, recebe a primeira salga, de sal fino ou grosso, em uma das superfícies. Após 6 a 12 horas, o queijo é virado e a outra superfície recebe uma camada de sal. O pingo é coletado nesse período. Com 24 horas, o queijo é retirado da forma, o excesso de sal é descartado, e o produto segue para as prateleiras em sala anexa, onde deve permanecer para maturação. Durante a primeira semana, pode ser lavado a seco (Ornelas, 2005; Meneses, 2006; Minas Gerais, 2012).

O sal apresenta três funções principais no queijo: age como um preservante, contribui diretamente para o sabor e é fonte de sódio para o consumidor. Como atua diretamente sobre a atividade de água (A_w), controla assim o crescimento bacteriano indesejável e colabora com a sinérese (expulsão de soro da massa). Sua adição, assim como a de coalho industrial e fermento endógeno, é autorizada.

Entretanto, para que o queijo seja considerado artesanal, leite em pó ou concentrado, proteínas lácteas, conservantes, corantes ou qualquer outro ingrediente são proibidos (Guinee, 2004; Kondyli, Katsiari e Voutsinas, 2008; Minas Gerais, 2012).

2.3.1.5. Identificação geográfica

Na Europa, Ásia, África e América, produtos tradicionais muitas vezes estão ligados exclusivamente à região onde são produzidos. Quando se tornam conhecidos em outras localidades, muitas vezes são denominados de acordo com suas origens. Seus nomes, portanto, passam a se referir a uma especificidade e qualidade intimamente ligadas ao passado histórico, cultural e geográfico desses produtos (Bertozzi e Panari, 1993).

Na Europa, tais produtos singulares, ainda que tradicionais e artesanais, devem seguir regras de elaboração e qualidade predeterminadas. Assim, se originários de uma área específica e com tecnologia aprovada, recebem o selo de reconhecimento “Apelação de Origem Controlada” (AOC). No continente, são cerca de 130 variedades de queijo reconhecidas com tal rótulo, que confere autenticidade e qualidade a cada um deles (Bertozzi e Panari, 1993; Garabal, 2007).

No Brasil, a Constituição Federal, em seu artigo 216, determina que bens de natureza material e imaterial fazem parte do patrimônio cultural brasileiro. Incluem-se nessa classificação os modos de criar, fazer e viver, que podem ser aplicados ao queijo

Minas artesanal. Este produto, além de fabricado a partir da materialidade do leite, é resultado de conhecimento, de um “saber fazer” passado de geração para geração. Logo, no registro de bens culturais imateriais, tanto os saberes quanto os lugares relacionados a esse produto devem ser incluídos (Brasil, 1988; Brasil, 2000b; Gomes, 2006).

A indicação geográfica, termo usado no país que sugere indicação de procedência ou denominação de origem, confere ao produto ou serviço identidade própria. Seu uso é restrito aos produtores e prestadores de serviço estabelecidos no local e conferem diferenciação no mercado (Brasil, 1996b; Lages, Lagares e Braga, 2005).

De acordo com a legislação vigente, considera-se indicação de procedência o nome de localidade reconhecido como origem de determinado produto e serviço. Assim, a vinculação ao espaço geográfico é suficiente, e não há necessidade de padronização de características e qualidades intrínsecas. A denominação de origem, por sua vez, utiliza o nome de localidade para designar produto ou serviço exclusivo daquela área. Com isso, o produto ou serviço apresenta características intrínsecas, exclusivas da origem (Brasil, 1996b; Lages, Lagares e Braga, 2005).

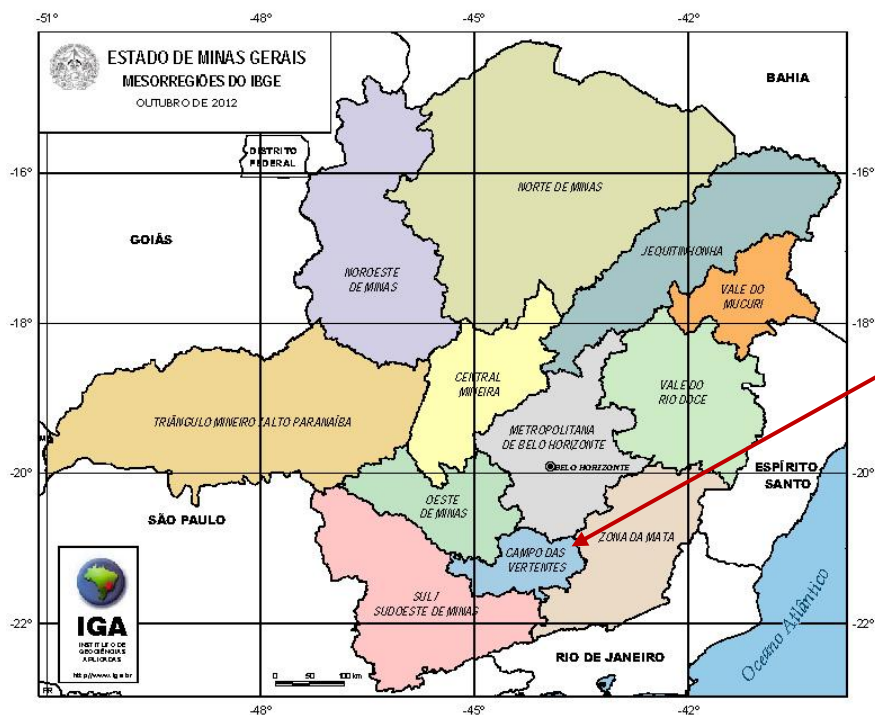
Em 2010, a Associação dos Produtores Artesanais de Queijo do Serro (APAQS)

entrou, junto ao Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI), com pedido para indicação de procedência, o qual foi deferido em 2011. No mesmo ano, o queijo Minas artesanal da Canastra também obteve o mesmo reconhecimento (*Revista da Propriedade Industrial*, 2011a e 2011b). Ainda que esse reconhecimento possa trazer maiores custos de produção, os benefícios gerados por ele, como forma de aceitação e valorização pelo mercado consumidor, se justificam (Bouamra-Mechemache e Chaaban, 2010).

2.3.1.6. O Campo das Vertentes

Minas Gerais é dividido em doze mesorregiões (figura 3), sendo consideradas as atividades econômicas, sociais e tributárias para tal separação. Com isso, torna-se mais fácil a elaboração de políticas públicas e a tomada de decisões relativas a cada região (Instituto Brasileiro..., 2010b).

Campo das Vertentes é, portanto, uma mesorregião do estado, localizada no início da Serra da Mantiqueira. É dividida em três microrregiões, comporta 35 municípios, sendo apenas 15 autorizados, por questões culturais, a participar do Programa Queijo Minas Artesanal (figura 4) (Instituto Brasileiro..., 2010b).



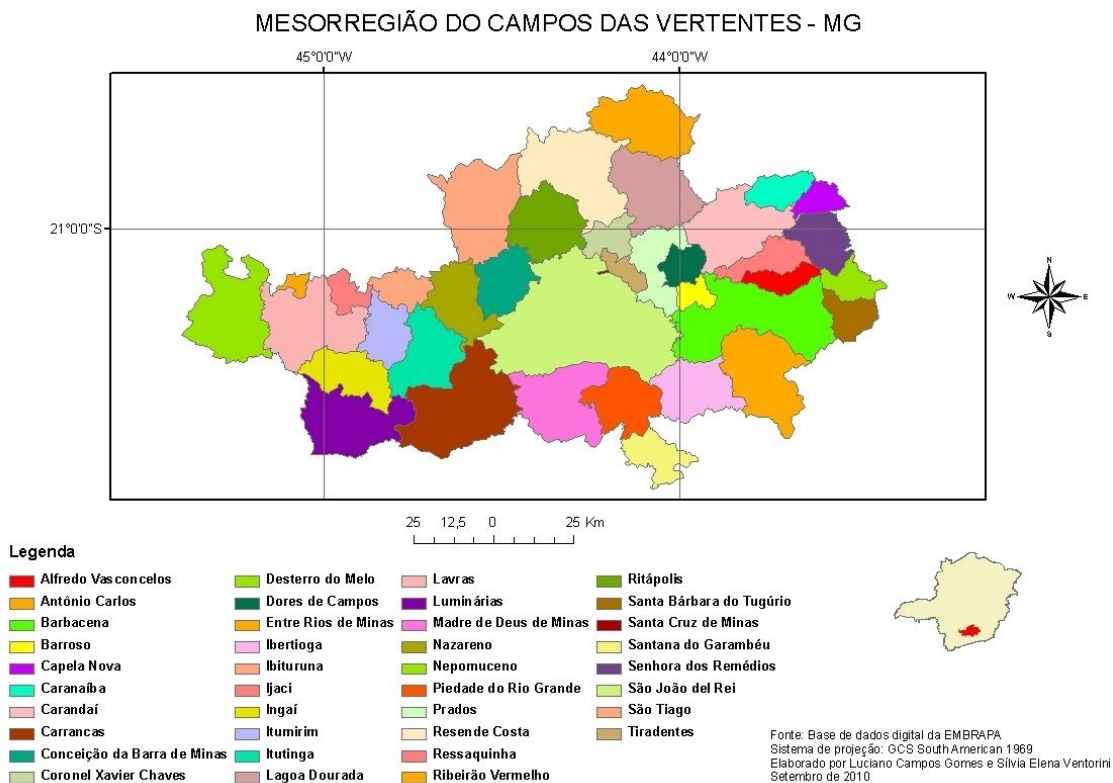
Fonte: Instituto Brasileiro..., 2010b

Figura 3. Mapa com mesorregiões de Minas Gerais

Tabela 2. Microrregiões da mesorregião de Campo das Vertentes, seus municípios e municípios autorizados pelo Programa Queijo Minas Artesanal

Microrregião	Municípios	Municípios autorizados
São João del-Rei	Conceição da Barra de Minas, Coronel Xavier Chaves, Dolores de Campos, Lagoa Dourada, Madre de Deus de Minas, Nazareno, Piedade do Rio Grande, Prados, Resende Costa, Ritópolis, Santa Cruz de Minas, Santana do Garambéu, São João del-Rei, São Tiago, Tiradentes	Conceição da Barra de Minas, Coronel Xavier Chaves, Lagoa Dourada, Madre de Deus de Minas, Nazareno, Prados, Piedade do Rio Grande, Resende Costa, Ritópolis, Santa Cruz de Minas, São João del-Rei, São Tiago, Tiradentes
Barbacena	Alfredo Vasconcelos, Antônio Carlos, Barbacena, Barroso, Capela Nova, Carandaí, Desterro do Melo, Ibertioga, Ressaquinha, Santa Bárbara do Tugúrio, Senhora dos Remédios	Barroso
Lavras	Carrancas, Ijaci, Ingai, Itumirim, Itutinga, Lavras, Luminárias, Nepomuceno, Ribeirão Vermelho	Carrancas

Fonte: Minas Gerais, 2009; Fonte: Instituto Brasileiro..., 2010b



Fonte: Gomes e Ventorini, 2010

Figura 4. Mapa da mesorregião de Campo das Vertentes

Entretanto, estão autorizados a participar do Programa Queijo Minas Artesanal apenas os produtores dos seguintes municípios: Barroso, Conceição da Barra de Minas, Coronel Xavier Chaves, Carrancas, Lagoa Dourada, Madre de Deus de Minas, Nazareno, Prados, Piedade do Rio Grande, Rezende Costa, Ritópolis, Santa Cruz de Minas, São João del-Rei, São Tiago e Tiradentes (Minas Gerais, 2009).

O início do povoamento da região está intimamente ligado à descoberta e exploração do ouro no século XVIII. Com a vinda de donos de minas, mineradores e escravos,

houve desenvolvimento de uma estrutura que mantivesse essa população, representada por alguns agricultores. Após a decadência da extração de ouro, Campo das Vertentes se tornou um dos principais centros comerciais da capitania, com aumento da variedade de produção alimentícia e itens artesanais. Aqueles que renunciaram às jazidas, já pouco exploradas, se converteram ao comércio: enquanto traziam mercadorias diversas do Rio de Janeiro, enviavam para a capital, entre outros artigos, queijo. No primeiro quarto do século XIX, quatro caravanas, com cerca de 50 animais cada, faziam, sem cessar, o transporte de produtos entre essas cidades.

Outro fator de destaque era a localização de São João del-Rei, que se encontra na antiga estrada real entre São Paulo, Rio de Janeiro e Vila Rica. A força de Campo das Vertentes, durante esse período, pode ser indicada pelo fato de que, nessas transações, a balança comercial era favorável a sua comarca (Saint-Hilaire, 1974; Bunbury, 1981; Minas Gerais, 2010).

A cidade de São João del-Rei, então considerada capital da região, figurava entre as mais limpas e alegres encontradas pelo cientista Johann Pohl no Brasil. De clima suave, apresentava uma vista risonha com suas mil casas. O estudioso estimava a população em sete mil habitantes (Pohl, 1976).

Atualmente, a população da mesorregião é calculada em 550 mil habitantes, sendo 96 mil rurais. Estes valores representam 3,36% e 2,81% da população total do estado, respectivamente (Instituto..., 2010a). O rebanho leiteiro é de 392 mil cabeças, distribuídas por onze mil estabelecimentos pecuários. A produção anual de leite é de 346 milhões de litros, e cerca de oito mil estabelecimentos lidam com esse produto. Ainda que o montante produzido pela região corresponda a apenas 5% do total produzido no estado, a tecnologia é mais intensiva quando comparada à situação geral, tanto na pecuária tradicional quanto na familiar. Assim, a relação leite por animal ordenhado por ano é o triplo da média estadual. A maior parte da produção de leite é enviada para beneficiamento em laticínios localizados na mesorregião. Estima-se que apenas 2,4% do montante total de leite produzido

permanecem na fazenda, onde são transformados em derivados lácteos (Instituto Brasileiro..., 2006; Minas Gerais, 2010).

2.3.1.7. Influência da maturação e período do ano em queijos artesanais

Enquanto alguns queijos são saboreados frescos, a maioria dos produtos consumidos nos dias atuais é composta por queijos maturados a partir de duas semanas, por um período que pode durar até dois anos. Muitas variedades podem ser consumidas em vários estágios durante esse período, dependendo das preferências do consumidor e de fatores econômicos. Durante a maturação, ocorre uma série complexa de mudanças bioquímicas, com a ajuda dos seguintes agentes: coagulante, enzimas do leite, como plasmina, bactérias *starter* e microbiota secundária (Fox *et al.*, 2004).

A maturação de queijos, portanto, é possível pela presença de um ecossistema complexo, formado por bactérias, bolores e leveduras. Estes micro-organismos sofrem interações antagonistas, mas também se cooperam enzimática e metabolicamente. Durante a maturação, são responsáveis por alterações no produto que, sozinhos, não conseguiriam alcançar (Arfi, Leclerq-Perlat, Baucher *et al.*, 2004). Além da microbiota indígena, fatores tecnológicos e ambientais também podem afetar a microbiota de queijos durante a maturação (Hoorde, Heyndrickx, Vandamme *et al.*, 2010).

A influência do período de maturação nas características físico-químicas em queijos mantidos em temperatura ambiente pode

determinar a microbiota, com reduções nas contagens de coliformes e bactérias dos gêneros *Staphylococcus*, *Salmonella* e *Listeria* (Dores, Nóbrega e Ferreira, 2013). Em pesquisa com queijo Minas artesanal da Canastra, queijos maturados em temperatura ambiente apresentaram baixas contagens de micro-organismos indesejáveis, enquanto que aqueles maturados em refrigeração permaneceram com contagens elevadas (Dores, Dias, Arcuri *et al.*, 2013).

Deve-se salientar que a maturação deve ocorrer em temperatura ambiente, e não sob refrigeração. Estudo comparando ambos os ambientes para maturação determinou que temperaturas abaixo de 8°C não são suficientes para redução das contagens de micro-organismos patogênicos, além de contribuir negativamente para a formação de compostos aromáticos no queijo (Dores, Nóbrega e Ferreira, 2013).

O período do ano influencia a produção e qualidade de queijos artesanais. Temperaturas e umidade relativa do ar, além da alimentação dos animais, podem determinar o produto final.

No período da seca, em que as temperaturas encontram-se mais baixas quando em comparação ao período das chuvas, tal fator é desfavorável ao crescimento de micro-organismos no queijo. Resultados confirmando menores contagens em maturação no período da seca foram vistos em queijo Minas artesanal do Serro (Martins, 2006). Em queijo Minas artesanal da Serra da Canastra, a alta umidade ambiente do período das chuvas, aliada ao maior desafio imposto

pelas condições sanitárias do leite e da água, determinou queijo de menor qualidade microbiológica quando comparado com aqueles produzidos durante a seca (Dores, Nóbrega e Ferreira, 2013). Resultados distintos foram vistos, entretanto, em queijo artesanal Serrano, em que as estações do ano não afetaram de maneira significativa as contagens de micro-organismos do queijo (Souza, Rosa e Ayub, 2003).

A época do ano também pode provocar diferenças no leite cru utilizado para a produção do queijo Minas artesanal, o que novamente pode influenciar o produto final. Vacas são mais susceptíveis à mastite durante o período chuvoso, o que pode acarretar a queda da concentração de lactose no leite e, claro, aumento da contaminação por micro-organismos patogênicos (Nóbrega e Langoni, 2011). A pastagem consumida por esses animais também pode alterar a concentração de gordura e proteínas do leite, que tendem a aumentar no período chuvoso, em que há melhora da forragem consumida (Larsen, Nielsen, Butler *et al.*, 2010).

2.3.1.8. Boas práticas de ordenha e boas práticas de produção de queijo Minas artesanal

A prevenção da contaminação do leite com a implantação de boas práticas agropecuárias e de ordenha é fundamental. Os pontos principais dentro desses dois programas são: teste de mastite em caneca telada, com eliminação dos primeiros jatos; realização de pré e pós-*dipping*, instalações adequadas e limpas e saúde dos animais e do ordenhador (Kousta, Mataragas, Skandamis *et al.*, 2010).

O queijo Minas artesanal feito a partir de leite cru obtido de vacas sadias e elaborado com a adoção de boas práticas de fabricação (BPF) torna-se um produto de qualidade microbiológica e apto para ser consumido. Portanto, ainda que a elaboração ocorra em pequena escala, é de extrema importância a aplicação dos conceitos de BPF na produção desses queijos. Dentre os pontos principais a serem implementados na queijaria, estão a correta disposição dos ambientes (sem contrafluxo), a manutenção e higienização das instalações e equipamentos, a saúde dos manipuladores e o controle de insetos e roedores (Brasil, 1998; Felício, Lempk, Pinto *et al.*, 2013).

2.4. Qualidade microbiológica de água

A obtenção de um produto final adequado depende de vários fatores, dentre eles, da qualidade da água utilizada na elaboração do queijo. Usada desde a obtenção do leite, para higienização dos equipamentos, até a lavagem da queijaria e de seus materiais, a água pode ser um veículo para patógenos de homens e animais (Amaral, Rossi Júnior, Nader Filho *et al.*, 2003).

A legislação estadual determina que a água utilizada na produção do queijo deve ser potável, se originar de nascente, cisterna ou poço artesiano e ser canalizada de sua fonte até a queijaria, onde deve ser estocada em caixa d'água. Para estar adequada ao uso, deve ser filtrada e clorada a uma concentração de 2 ppm a 3 ppm. Para limpeza das instalações e equipamentos, são necessários cinco litros de água para cada

litro de leite processado (Minas Gerais, 2002a).

Os parâmetros microbiológicos para avaliação da qualidade de água encontram-se na tabela 3.

Em pesquisa com água de diversas propriedades rurais de Lavras, Campo das Vertentes, 100% das amostras encontravam-se em desacordo com a legislação quanto à contagem de coliformes a 30°C e 45°C. Os valores variaram entre menor que 1,1 NMP/100 mL a maior que 23 NMP/100 mL para ambos os padrões. Já na contagem padrão em placas, foram encontrados valores de $1,7 \times 10^2$ a $1,4 \times 10^7$ UFC/mL, sendo que apenas 20% das amostras atendiam aos regulamentos (Oliveira, 2011).

Em queijarias na região da Serra da Canastra, água coletada apresentou valores acima de 16 NMP/100 mL, tanto para coliformes totais quanto para coliformes termotolerantes, em 70% das amostras (Borelli, Ferreira, Lacerda *et al.*, 2006a).

Amostras de águas de queijarias da região do Serro apresentaram valores de coliformes totais entre < 1 e 5 NMP/100mL nos períodos da seca e entre < 1 e 44 NMP/100mL nas chuvas. Para coliformes termotolerantes, os resultados ficaram entre < 1 e 3 NMP/100mL e < 10 e 14 NMP/100mL nos mesmos períodos, respectivamente (Martins, 2006).

Tabela 3. Parâmetros microbiológicos estabelecidos pelas Leis nº14.185 e nº 20.549 e pelo Decreto 44.864 de 2008, para inspeção de água destinada à produção de queijo Minas artesanal

Parâmetros microbiológicos	Critério de inspeção
Pesquisa de coliformes 30° (NMP/100mL)	Ausência
Pesquisa de coliformes 45° (NMP/100mL)	Ausência
Contagem padrão em placas (UFC/mL)	≤ 500

Fonte: Minas Gerais, 2002a; Minas Gerais, 2008

Não há determinação legal quanto à presença de bactérias do gênero *Staphylococcus* em amostras de água. Ainda assim, pode ocorrer contaminação por esse patógeno. Qualidade de água de propriedades rurais no interior de São Paulo foi avaliada em relação à contagem destas bactérias. De 30, 16,6% das propriedades estudadas apresentaram o micro-organismo, com contagens que variaram de 5×10^2 a $2,5 \times 10^4$ UFC/mL. As amostras com maior concentração deste micro-organismo eram provenientes da sala de ordenha, onde ocorria grande movimentação animal, provável fonte da contaminação (Amaral, Rossi Júnior, Nader Filho *et al.*, 2003).

Existem poucos registros quanto à presença de BAL em água e a possível influência dessa forma de contaminação em queijos artesanais. Sabe-se que BAL são encontradas em ambientes aquáticos onde há presença de peixes e outros animais (Gatesoupe, 2008; Talpur, Memon, Khan *et al.*, 2012).

2.5. Qualidade microbiológica de soro-fermento

O soro-fermento, também chamado de fermento endógeno ou pingo, é composto por diversos grupos microbianos, selecionados de maneira aleatória e não intencional. Essa mistura de bactérias ácido-láticas e bolores e

leveduras resulta em um queijo com características microbiológicas, físico-químicas e aromáticas distintas. Um dos principais objetivos do seu uso em queijos artesanais está ligado à proteção do produto final contra a presença de micro-organismos indesejáveis. Agem desta maneira através da produção de ácido ou de substâncias capazes de inibir a multiplicação de patógenos ou deteriorantes (Marino, Maifreni, Rondinini, 2003; Araújo, 2008). Não há, na legislação atual, padrões de qualidade para essa matéria-prima.

Em soro-fermento para produção de queijo Minas artesanal da Serra da Canastra, contagens de bolores e leveduras apresentaram valores mínimos e máximos de 5×10^1 e $7,9 \times 10^6$ UFC/mL (Borelli, Ferreira, Lacerda *et al.*, 2006b).

Em trabalho com pingo utilizado para a fabricação de queijo Minas artesanal da Serra da Canastra, foram encontradas altas contagens de coliformes a 30°C e a 45°C e de *Staphylococcus* coagulase positivo. Os valores foram, respectivamente, 5×10^3 , 1×10^2 e 1×10^2 UFC/g no verão e 5×10^3 , $1,7 \times 10^2$ e 1×10^2 UFC/g no inverno, sendo que não houve variação significativa das contagens entre as duas estações (Paiva, 2012). Na mesma região, foram encontradas contagens médias para coliformes a 30°C e a 45°C e

para *Staphylococcus* coagulase positivo de 6×10^2 , $2,1 \times 10^1$ e $8,7 \times 10^1$ UFC/g, e $3,5 \times 10^2$, 4×10^1 e $4,8 \times 10^1$ UFC/g nas chuvas e na seca, respectivamente (Nóbrega, Ferreira, Dores *et al.*, 2008).

Em pesquisa de *Staphylococcus* spp. para produção de enterotoxinas em queijo Minas artesanal da Serra da Canastra, foram encontradas contagens no soro-fermento entre 10^1 a $1,3 \times 10^3$ UFC/g, com médias estatisticamente iguais de 5×10^1 e $8,9 \times 10^1$ UFC/g nos períodos de seca e chuvas, respectivamente (Dores, Dias, Arcuri *et al.*, 2013).

Soro-fermento destinado à produção de queijo Feta, tradicional produto grego feito com leite de ovelha, não apresentou bactérias do gênero *Salmonella*, mesmo resultado encontrado em pingo para queijo Minas artesanal do Serro (Moatsou, Moschopoulou, Georgala *et al.*, 2004; Santos, 2010).

Em pesquisa avaliando a contagem de bactérias ácido-láticas em soro-fermento de queijo Minas artesanal da Serra da Canastra, foram encontradas medianas entre $3,5 \times 10^5$ a $1,2 \times 10^7$ UFC/g nos períodos de seca e chuvas. No mesmo trabalho, contagens de bolores e leveduras variaram entre $1,4 \times 10^4$ e $1,7 \times 10^5$ UFC/g. Ambos os parâmetros estudados não apresentaram diferença significativa ($P > 0,05$) entre tais períodos de produção (Nóbrega, 2007).

2.6. Qualidade microbiológica e físico-química de leite

Micro-organismos no leite podem interferir de maneira positiva ou negativa na produção

de queijos. Fatores intrínsecos e extrínsecos do leite podem interferir na contaminação do produto, reduzindo a sobrevivência e a multiplicação de micro-organismos patogênicos. Dentre esses fatores, encontram-se as bactérias ácido-láticas, pertencentes à microbiota autóctone do leite cru (Jay, Loessner e Golden, 2005; Ortolani, 2009).

O leite utilizado na produção de queijos, além de ser veículo para bactérias ácido-láticas, pode também conter micro-organismos capazes de causar deterioração de produtos derivados ou doenças em seus consumidores. A contaminação por micro-organismos indesejáveis pode ocorrer a partir de um animal infectado, que ejeta o leite já com o patógeno, ou durante o transporte e armazenagem, tanto na fazenda quanto no local de produção do queijo. Tais contaminações envolvem os manipuladores, a presença de materiais estranhos, como fezes e pastagem, as condições de higiene dos materiais utilizados e até mesmo o ar ambiente (Zotolla e Smith, 1991; Hoorde, Heyndrickx, Vandamme *et al.*, 2010).

Dentre os problemas causados por micro-organismos deteriorantes presentes no leite, encontra-se o estufamento precoce de queijo, causado por coliformes (González, Mas, Tabla *et al.*, 2003). A contaminação do leite cru com micro-organismos indesejáveis também pode acarretar competição entre eles e as BAL, causando perda de concentração ou de espécies benéficas destinadas à produção do queijo (Wouters, Ayad, Hugenholtz *et al.*, 2002).

Os padrões para leite cru como matéria-prima de queijo Minas artesanal envolvem parâmetros microbiológicos e físico-químicos (tabelas 4 e 5). Eles são atingidos quando o

leite é obtido de um rebanho saudável e através de boas práticas de ordenha (Minas Gerais, 2002a).

Tabela 4. Parâmetros microbiológicos estabelecidos pelas Leis nº14.185 e nº 20.549 de 2002 e pelo Decreto 44.864 de 2008, para inspeção de leite cru destinado à produção de queijo Minas artesanal

Parâmetros microbiológicos	Critério de inspeção
Contagem bacteriana total (UFC/mL)	≤ 100.000
Contagem de células somáticas (UFC/mL)	≤ 400.000
Enumeração de <i>Staphylococcus coagulase positivo</i> (UFC/mL)	≤ 100
<i>Escherichia coli</i> (UFC/mL)	≤ 100
Pesquisa de <i>Salmonella spp.</i> /25mL	Ausência

Fontes: Minas Gerais, 2002a

A qualidade microbiológica do leite cru é influenciada pela saúde da vaca em lactação, pela higiene de úbere e materiais durante a ordenha, pela higienização dos equipamentos utilizados, pelo armazenamento e pelo tempo decorrido até o início da produção. Populações bacterianas no queijo artesanal refletem os números iniciais e a microbiota da leite cru utilizado como matéria-prima (Hayes e Boor, 2001). No Brasil, a qualidade microbiológica do leite cru tem refletido as condições precárias de higiene e instalação dos locais de ordenha (Ortolani, 2009).

Altas contagens de células somáticas (CCS), além de indicarem mastite no rebanho, acarretam o baixo rendimento na produção de queijo e alteração do produto durante a maturação. Isso porque estas células são produtoras de enzimas, proteases, que causam proteólise da caseína no leite e, principalmente, em queijo durante a maturação. Assim, podem causar mudança no padrão e na identidade do produto final. Entre os problemas, encontram-se baixo rendimento na produção de queijo pela

quebra da caseína e pH aumentado pela presença de compostos nitrogenados provenientes dessa lise (Jensen, Blanc e Patton, 1995; Banks, 2007).

Células somáticas compreendem células epiteliais e, principalmente, leucócitos provenientes das glândulas mamárias de vacas em lactação. Seu aumento pode impactar a qualidade do leite cru e, conseqüentemente, do queijo. Dentre os problemas causados por CCS no leite, estão o baixo rendimento na produção do queijo e defeitos sensoriais, como sabores rançosos ou amargos no produto final (Hayes e Boor, 2001).

Contagens bacterianas elevadas no leite sugerem deficiência de manejo sanitário do rebanho e na higiene dos processos de ordenha e conservação do leite. Ainda que esta contagem não seja adequada como preditora para contagens de microorganismos pesquisados em leite, ela fornece um panorama da qualidade do produto (Costa Sobrinho, Faria, Pinheiro *et al.*, 2012).

Contagem bacteriana total (CBT) de leite cru para queijo Minas artesanal da Serra da Canastra apresentou valor médio de $6,6 \times 10^5$ UFC/mL. Na mesma pesquisa, contagem de células somáticas foi de $3,6 \times 10^5$ UFC/mL (Resende, 2010). Em outro estudo de leite cru para o mesmo queijo, os valores de CBT e CCS foram, respectivamente, 1×10^4 UFC/mL e 2×10^5 UFC/mL (Ornelas, 2005).

Em pesquisa de leite cru para a elaboração de queijo artesanal Parmigiano-Reggiano, italiano, contagens médias de células somáticas apresentaram valores de 3×10^5 UFC/mL no inverno e de $3,8 \times 10^5$ UFC/mL no verão, com variação significativa das contagens nos períodos estudados (Summer, Sandri, Tosi *et al.*, 2007).

Leite cru proveniente de fazendas produtoras de queijo Saint-Nectaire na França apresentou contagens médias de células somáticas de 5×10^5 UFC/mL no verão e $5,4 \times 10^5$ UFC/mL no inverno. Não houve, entretanto, diferença ($P > 0,05$) entre os dois resultados (Leriche e Fayolle, 2012). Resultado semelhante foi visto em leite cru utilizado para a produção de queijo Minas artesanal do Serro, com contagens médias de células somáticas de $2,2 \times 10^5$ UFC/mL nas secas e $2,6 \times 10^5$ UFC/mL nas chuvas e contagem bacteriana total de $1,5 \times 10^5$ UFC/mL e $2,6 \times 10^8$ UFC/mL, respectivamente (Costa Sobrinho, Faria, Pinheiro *et al.*, 2012).

Staphylococcus spp. está ligado à contaminação do leite ainda dentro do úbere, principalmente em casos de mastite. Bactérias desse gênero, entretanto, mesmo em animais

com sinais clínicos aparentes, contaminam o leite com baixas contagens, de até 10^4 UFC/mL (Hayes e Boor, 2001).

Leite cru utilizado para a produção de queijo Minas artesanal do Serro apresentou valores de contagem de *Staphylococcus* coagulase positivo, para os períodos de chuvas e seca de, $9,5 \times 10^2$ UFC/mL e $1,3 \times 10^3$ UFC/mL, respectivamente. As estações do ano não demonstraram efeito significativo sobre o parâmetro microbiológico estudado (Costa Sobrinho, Faria, Pinheiro *et al.*, 2012). O mesmo ocorreu em leite cru para queijo francês artesanal Saint-Nectaire, que apresentou contagens médias de 1×10^3 UFC/mL no verão e também no inverno (Leriche e Fayolle, 2012).

Coliformes em leite são micro-organismos indicadores que, ainda que relacionados a doenças em humanos, apontam falhas como controle sanitário inadequado do rebanho, práticas de ordenha pouco higiênicas e equipamentos lavados e mantidos de forma incorreta. Existe uma correlação positiva entre amostras com altas contagens de coliformes e contaminação por outros micro-organismos da família Enterobacteriaceae (Leriche e Fayolle, 2012).

Em pesquisa com leite cru para a produção de queijo artesanal no sul de Minas Gerais, NMP de coliformes totais e termotolerantes ficou entre 0 e 738 NMP/g (Carvalho, Carvalho, Hofer *et al.*, 2009).

Em pesquisa com leite cru em Uganda, produzido em sistema agropastoril, foram encontrados valores de coliformes totais e

coliformes termotolerantes de 594 NMP/mL e 193 NMP/mL no período de seca e 379 NMP/mL e 50 NMP/mL nas chuvas, respectivamente. Houve diferença ($P < 0,05$) entre as estações pesquisadas. A ocorrência de bactérias do gênero *Salmonella* foi identificada em 7% das amostras analisadas (Grimaud, Sserunjogi, Wesuta *et al.*, 2009).

Leite utilizado para a produção de queijo Fresco e queijo Minas artesanal no sul de Minas, produto tipicamente mexicano, não continha bactérias do gênero *Salmonella* (Torrez-Llanez *et al.*, 2006; Carvalho, Carvalho, Hofer *et al.*, 2009).

Ainda que a microbiota de bactérias ácido-láticas provenientes de um úbere saudável possa contaminar o leite, esses micro-organismos normalmente não causam aumento na contagem bacteriana total (Hayes e Boor, 2001). A presença de bactérias ácido-láticas em leite cru é desejada, uma vez que é um dos principais fornecedores dos micro-organismos para a produção de queijo artesanal.

Em leite utilizado na fabricação de queijo Minas artesanal do Serro, contagens de BAL em ágar MRS e M17 apresentaram valores de $2,8 \times 10^6$ UFC/mL e $8,4 \times 10^6$ UFC/mL, respectivamente (Resende, 2010).

Em estudo com leite italiano utilizado para a produção de queijo Alpino artesanal, foram encontradas contagens entre $2,5 \times 10^3$ e 4×10^5 UFC/g e 1×10^4 e $1,6 \times 10^6$ UFC/g de BAL em ágar MRS no períodos de seca e chuvas. Em ágar M17, as contagens para os mesmos

períodos ficaram entre $1,6 \times 10^4$ e $1,6 \times 10^6$ UFC/g e $6,3 \times 10^4$ e $6,3 \times 10^6$ UFC/g. Não houve diferença ($P > 0,05$) entre as contagens (Franciosi, Settanni, Cavazza *et al.*, 2009).

Bolores e leveduras em leite são contaminantes em baixo número, uma vez que competem por nutrientes com outros micro-organismos (Viljoen, 2001). Contagens de 1×10^2 a 4×10^2 UFC/mL foram observadas em leite cru para a produção de queijo Minas artesanal da Serra da Canastra (Borelli, Ferreira, Lacerda *et al.*, 2006b). Já em leite cru para a elaboração de queijo Casín, produto artesanal da Espanha, nenhuma contagem para bolores e leveduras foi encontrada (Alegría, Álvarez-Martín, Sacristán *et al.*, 2009).

Quanto à qualidade físico-química do leite, sua composição aproximada é de 3,4% de proteínas, sendo 2,8% de caseína, 3,7% de gordura, 4,6% de lactose e 0,7% de cinzas (Jensen, Blanc e Patton, 1995). Diferenças na composição do leite podem ser esperadas quando comparados períodos distintos de produção, raças de animais e sistema de manejo do rebanho (Bertoni, Calamari e Maianti, 2001).

A tabela 4 indica os parâmetros físico-químicos determinados para leite cru destinado à produção de queijo Minas artesanal (Minas Gerais, 2002a).

Tabela 5. Parâmetros físico-químicos estabelecidos pelas Leis nº14.185 e nº 20.549 e pelo Decreto 44.864 de 2008, para inspeção de leite cru destinado à produção de queijo Minas artesanal

Parâmetros físico-químicos	Critério de inspeção
Teor de gordura (%)	≥ 3
Lactose (%)	≥ 4,3
Extrato seco desengordurado (ESD) (%)	≥ 8,5
Sólidos totais (%)	≥ 11,5

Fonte: Minas Gerais, 2002a

Em pesquisa de leite cru para a produção de queijo da Serra da Canastra, foram encontrados valores médios de teores de gordura, lactose, proteína e extrato seco total de 3,51%, 4,54%, 3,15% e 12,22%, respectivamente (Ornelas, 2005). Em trabalho semelhante com leite cru para o mesmo tipo de queijo, os valores para os parâmetros acima foram de 4,69%, 4,48%, 3,14% e 11,78% (Resende, 2010). Leite para a produção de queijo Casín, típico produto espanhol, médias de teores de gordura, sólidos totais e proteína foram de 4,35%, 11,28% e 3,3%, respectivamente (Alegría, Álvarez-Martín, Sacristán *et al.*, 2009).

As características de um leite são alteradas pela raça, pela idade, pelo estágio de lactação e pela alimentação do animal. A composição química do leite também pode variar de acordo com a estação em que é produzido, principalmente em caso de variação no manejo nutricional da vaca. Em estudo com animais das raças holandesa e jersey, teores de gordura, proteína e sólidos totais tiveram seus valores aumentados nas chuvas, enquanto que a produção de leite caiu para o mesmo período (Nóbrega e Longoni, 2011).

Em pesquisa realizada na Suécia, vacas ordenhadas na estação quente, com maior oferta de pastagens, produziram leite com

4,1% de gordura e 3,3% de proteína, enquanto as amostras do inverno apresentavam 4,2% e 3,3% dos mesmos componentes (Larsen, Nielsen, Butler *et al.*, 2010). Leite cru utilizado para a produção de queijo artesanal Parmigiano-Reggiano, italiano, apresentou concentrações de gordura nos valores de 3,62% e 3,46% para os períodos do inverno e verão, respectivamente (Summer, Sandri, Tosi *et al.*, 2007). Em leite utilizado para a produção de queijo Saint-Nectaire, francês, os teores médios de gordura e proteína foram 3,7% e 3,19% para o verão, e 4,37% e 3,32% para o inverno (Leriche e Fayolle, 2012). Em todos estes estudos, houve diferença estatística nas porcentagens de gordura e proteína quando comparados os períodos de produção.

2.7. Qualidade microbiológica de queijo

A presença de populações de micro-organismos em queijo pode ser dividida em duas vertentes: micro-organismos desejáveis e indesejáveis, repartidos por sua vez em deteriorantes ou patogênicos. Eles podem também ser classificados de acordo com seus reinos, sendo bactérias e bolores e leveduras os mais importantes. As características do produto e do ambiente são responsáveis pelos gêneros e espécies ali presentes, uma vez que esta microbiota apresenta requerimentos

nutricionais e ambientais diferentes para cada micro-organismo que a compõe (Jay, Loessner e Golden, 2005).

A desvantagem principal nos queijos artesanais, feitos a partir de leite cru, é a possível presença de patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Listeria* spp., *Salmonella* spp., *Brucella* spp., *Mycobacterium* spp., esporos de *Clostridium* spp. e outros. Tais micro-organismos, além de competidores com a microbiota normal, são causadores de doenças em humanos (Bertoni, Calamari e Maianti, 2001; Fernandes, 2009). Ainda assim, nesses mesmos queijos artesanais, a diversidade de bactérias ácido-láticas em gêneros, espécies e cepas depende principalmente da microbiota presente no leite cru. Cada queijo apresenta uma microbiota de bactérias ácido-láticas diferente, com proporções variadas para cada gênero e com a presença de outros micro-organismos (Jay, Loessner e Golden, 2005).

Diversos tipos de queijos já foram envolvidos em surtos alimentares, com sintomas clínicos diversos e, em alguns casos, altas taxas de mortalidade. A maioria dos relatos inclui

contaminação do produto por bactérias patogênicas provenientes do ambiente da fazenda, de equipamentos e manipuladores, como *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157:H7 e *L. monocytogenes*. Também são responsáveis por doenças em humanos micro-organismos provenientes de animais doentes, que contaminam o leite. Esses podem ser *Mycobacterium avium paratuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, bactérias do gênero *Brucella* e *Staphylococcus aureus* (Kousta, Mataragas, Skandamis *et al.*, 2010). Entretanto, dentre os surtos, não há uma prevalência maior de casos causados por queijos feitos a partir de leite cru. Acredita-se que, mesmo que o leite não seja tratado termicamente, outros fatores, chamados de "equivalência de pasteurização", protejam o queijo (Licitra, 2010).

As análises requeridas por legislação estadual vigente para micro-organismos não desejáveis são: contagem de coliformes totais e termotolerantes, *Staphylococcus* coagulase positivo, pesquisa de *Salmonella* spp. e de *Listeria* spp., que estão apresentadas na tabela 6 (Brasil, 1996; Minas Gerais, 2002a; Minas Gerais, 2008).

Tabela 6. Parâmetros microbiológicos estabelecidos pelo Decreto nº44.864, para inspeção de queijo Minas artesanal, e determinados pela Portaria nº146, para queijos industrializados de média umidade (36% a 45,9%)

Parâmetros microbiológicos*	Critério de inspeção	
	Estadual (Decreto 44.864/2008)	Federal (Portaria 146/1996)
Pesquisa de coliformes 30° (NMP/g)	n = 5; c = 2; m = 1.000; M = 5.000	
Pesquisa de coliformes 45° (NMP/g)	n = 5; c = 2; m = 100; M = 500	
Enumeração de <i>Staphylococcus</i> coagulase positivo (UFC/g)	n = 5; c = 2; m = 100; M = 1.000	
Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp./25g	n = 5; c = 0; m = 0	
Pesquisa de <i>Listeria</i> spp./25g	n = 5; c = 0; m = 0	

*Plano de amostragem (n; c; m; M) segundo Brasil, 2001. No caso de amostra indicativa, limite maior é o valor representado por M

Fontes: Brasil, 1996a; Minas Gerais, 2008

O maior interesse em estudar a microbiota dos queijos artesanais é determinar a importância de cada espécie e a interação entre os diversos micro-organismos que a compõem. Caracterizar essa população, com atenção especial às bactérias ácido-láticas, pode contribuir para o conhecimento do processo que transforma o leite em queijo e para maior entendimento das características físico-químicas e sensoriais do produto final. Esses estudos também podem indicar linhagens com propriedades práticas, como probióticos ou culturas iniciadoras (Wouters, Ayad, Hugenholtz *et al.*, 2002; Randazzo *et al.*, 2008).

2.7.1. Coliformes totais e termotolerantes

Coliformes são bactérias Gram negativo representadas por quatro gêneros principais: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia* e *Klebsiella*. Formam um dos únicos grupos de micro-organismos indicadores e patogênicos capazes de aproveitar lactose para produção de ácido lático. Podem ser divididos em coliformes a 30°C ou coliformes a 45°C,

também chamados totais e termotolerantes, respectivamente (Jay, Loessner e Golden, 2005). A alta contagem de coliformes em queijo está associada a condições inadequadas de higiene durante a ordenha de leite, o processamento e a estocagem do queijo (Felício, Lempk, Pinto *et al.*, 2013).

Queijo de coalho artesanal apresentou número mais provável para coliformes a 30°C e a 45°C em valores superiores a 1100 NMP/g (Guedes Neto, 2008). Resultados semelhantes foram vistos em queijo Minas artesanal da Serra da Canastra e queijos artesanais vendidos em feiras livres em Uberlândia, MG (Martins, 2006; Ferreira, Spini, Carrazza *et al.*, 2011). Queijos artesanais irlandeses, entretanto, não apresentaram contagens de coliformes (O'Brien, Hunt, McSweeney *et al.*, 2009).

Em pesquisa com queijo Minas artesanal do Serro, houve diferença entre os períodos de seca e águas nas contagens de coliformes a 30°C e a 45°C (Martins, 2006).

A maturação em queijos pode permitir a queda nas contagens de coliformes, uma vez que há aumento da concentração de cloreto de sódio e diminuição da atividade de água. O ambiente na massa do produto, desta forma, se torna inóspito para tais micro-organismos (Lima, Cerqueira, Ferreira *et al.*, 2008).

Queijo Minas artesanal da Serra do Salitre apresentou contagens médias iniciais de 2812 NMP/g de coliformes termotolerantes e, após 60 dias de maturação, esse valor caiu para menor que 3 NMP/g (Lima, Cerqueira, Ferreira *et al.*, 2008). Mesmos resultados foram vistos em queijo Minas artesanal do Serro durante a maturação de 60 dias (Martins, 2006). Em queijo artesanal Pecorino, da Itália, não foram encontrados coliformes durante os 60 dias de maturação do queijo (Randazzo *et al.*, 2008).

2.7.2. *Staphylococcus* spp.

O gênero *Staphylococcus* é formado por bactérias Gram positivo capazes de produzir enterotoxinas em alimentos. São adaptadas aos seus hospedeiros principais, sendo *Staphylococcus aureus* sua espécie mais comum, encontrada em humanos e mamíferos (Jay, Loessner e Golden, 2005). A intoxicação por toxina estafilocócica provoca gastroenterite aguda, com náusea, vômitos e diarreia. Existe uma subnotificação dos casos no Brasil, principalmente pelo baixo número de acometidos em cada surto e pelo quadro clínico, normalmente brando (Carmo, Cummings, Linardi *et al.*, 2004).

A presença de bactérias do gênero *Staphylococcus* em leite e produtos derivados, além de indicar condições precárias de higiene durante a produção, também sugere a existência de vacas com mastite no rebanho (Felício, Lempk, Pinto *et al.*, 2013). O cuidado durante a elaboração e manipulação do produto se deve ao fato de que humanos podem ser portadores saudáveis de *Staphylococcus* produtores de toxinas (Carmo, Dias, Linardi *et al.*, 2002).

Para a produção de toxinas, a concentração inicial do micro-organismo deve ser de 10^6 UFC/g no produto. Entretanto, relatos indicam que contagens de *Staphylococcus* spp. em torno de 2×10^3 UFC/g já foram capazes de produzir a enterotoxina. Ainda que a legislação determine apenas a pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positivo, *Staphylococcus* coagulase negativo é capaz de produzir enterotoxinas (Carmo, Dias, Linardi *et al.*, 2002).

Surtos envolvendo a presença de *Staphylococcus* spp. em queijo já foram descritos à exaustão na literatura. No estado, queijo Minas artesanal já esteve associado a um surto com 50 pessoas, todas acometidas após consumo do produto feito a partir de leite cru (Carmo, Dias, Linardi *et al.*, 2002).

Contagens de *Staphylococcus* spp. em queijo coalho artesanal chegaram a $1,1 \times 10^6$ e $2,7 \times 10^7$ UFC/g (Guedes Neto, 2008). Queijo artesanal da Serra da Canastra apresentou contagens entre $1,7 \times 10^8$ UFC/g (Resende, 2010).

Em queijo Minas artesanal do Serro, contagens de *Staphylococcus aureus*, principal micro-organismo caracterizado como *Staphylococcus* coagulase positivo, foram maiores nas chuvas do que nas secas (Martins, 2006). Resultados diferentes foram vistos em pesquisa com queijo Minas artesanal da Serra da Canastra, em que as contagens foram semelhantes ($P > 0,05$) nos dois períodos (Dores, Dias, Arcuri *et al.*, 2013).

Em queijos artesanais da Irlanda, 4% das amostras apresentavam contagens superiores a 10^5 UFC/g. Entretanto, o produto não continha a toxina estafilocócica (O'Brien, Hunt, McSweeney *et al.*, 2009). Em queijo Montasia, italiano, a contagem de *Staphylococcus* coagulase positivo permaneceu estável durante a maturação, de 60 dias, com valores entre $1,1 \times 10^1$ a $1,3 \times 10^1$ UFC/g (Marino, Maifreni e Rondinini, 2003).

Em pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positivo em queijo Ibore artesanal, da Espanha, contagens iniciais desse micro-organismo indicavam valores entre $1,9 \times 10^2$ a $1,6 \times 10^3$ UFC/g. Com a maturação, a contagem diminuiu até não ser mais possível sua identificação após o trigésimo dia (González *et al.*, 2003). Mesmo resultado foi observado em queijo Minas artesanal da Serra do Salitre e em duas pesquisas distintas com queijo Minas artesanal da Serra da Canastra (Lima, Cerqueira, Ferreira *et al.*, 2008; Borelli, Lacerda, Brandão *et al.*, 2011; Dores, Nóbrega e Ferreira, 2013).

2.7.3. *Salmonella* spp.

Salmonella é um gênero formado por bactérias Gram negativo flageladas capazes de provocar doença em humanos (Jay, Loessner e Golden, 2005).

O risco de contaminação cruzada é um dos fatores principais na presença de *Salmonella* spp. em queijos. Ele ocorre quando há promiscuidade de vacas com outros animais ou, principalmente, quando há contaminação por manipuladores durante transporte, estocagem ou elaboração do queijo artesanal. Em um surto com 82 casos clínicos no Canadá, queijo feito a partir de leite cru foi o responsável pela doença, e a presença do patógeno no produto surgiu após contaminação cruzada com carcaças de frango (Zottola e Smith, 1991; Ellis, Preston, Borczyk *et al.*, 1998).

Em pesquisa com queijo Minas artesanal, foram testados os métodos clássicos, de imunoanálise (Vidas-SLM) e de biologia molecular (PCR) para detecção de *Salmonella* spp. Os resultados entre os testes foram consistentes e indicaram ausência do patógeno no produto (Mata, 2009). Os mesmos resultados foram encontrados em pesquisas com queijo feito a partir de leite cru, no sul de Minas Gerais, queijo Minas artesanal da Serra da Canastra e queijo Tetilla (Menéndez, Godínez, Centeno *et al.*, 2001; Carvalho, Carvalho, Hofer *et al.*, 2009; Dores, Dias, Arcuri *et al.*, 2013).

Já em queijo Minas artesanal de Araxá e queijo Tulum, da Turquia, pesquisas demonstraram que 18% e 2,4% das amostras

estudadas, respectivamente, estavam contaminadas com bactérias do gênero *Salmonella*. A presença desses micro-organismos estava ligada ao processo de produção, pouco higiênico, e às más condições de estocagem (Araújo, 2004; Colak, Hampikyan, Bingol *et al.*, 2007).

2.7.4. Bactérias ácido-láticas

Bactérias ácido-láticas (BAL) são micro-organismos responsáveis pela fermentação e transformação do leite em queijo. Elas formam um grupo altamente heterogêneo, sem limites precisos, mas cujos membros são capazes de produzir ácido lático a partir de hexoses. Aquelas que produzem ácido lático como principal produto da fermentação de glicose são chamadas homofermentadoras. As outras, com produção de lactato, dióxido de carbono e etanol, são chamadas heterofermentadoras (Ross, Morgan e Hill, 2002; Jay, Loessner e Golden, 2005). A conversão de carboidratos em metabólitos, além de permitir que ajam como preservantes do alimento, também confere formação de *flavours* específicos (Hansen, 2002).

Bactérias ácido-láticas têm um histórico de uso seguro em alimentos e têm sido usadas desde a Antiguidade, inicialmente de forma não intencional, para transformar matéria-prima em alimentos. BAL de queijos artesanais foram também, ainda que aleatoriamente, selecionadas frente a um ambiente hostil. Assim, toleram baixa atividade de água, altas concentrações de sal e baixo pH. Ainda que usadas de forma intensiva na indústria láctea, alguns gêneros e espécies estão em risco de desaparecer,

principalmente pela pouca presença dos produtos artesanais que os contêm. Esses micro-organismos, entretanto, podem apresentar linhagens importantes, tanto na formação de *flavour* quanto na produção de metabólitos antagonistas (Wouters, Ayad, Hugenholtz *et al.*, 2002; Franciosi, Settanni, Cavazza *et al.*, 2009).

A ação de BAL contra micro-organismos indesejáveis se baseia na capacidade de produzirem uma vasta variedade de metabólitos primários e secundários. Também são capazes de sintetizar bacteriocinas, peptídeos com atividades antagonistas contra patógenos encontrados em alimentos, como *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* e *Clostridium botulinum* (Ross, Morgan e Hill, 2002; Perin, Moraes, Viçosa *et al.*, 2012).

A contaminação natural do leite por BAL é uma das fontes principais dos micro-organismos no queijo, em conjunto com aquelas provenientes do soro-fermento, no caso do queijo Minas artesanal. De acordo com o tempo em maturação, há diferenças entre os gêneros encontrados. Inicialmente, a microbiota é formada principalmente por bactérias acidificadoras do gênero *Lactococcus*. Com o passar do tempo, os gêneros dominantes passam a ser *Lactobacillus* e *Streptococcus*, também chamados de microbiota secundária (Wouters, Ayad, Hugenholtz *et al.*, 2002; Arcuri, Sheikha, Rychlik *et al.*, 2013). As espécies de BAL mais frequentes em pesquisas com queijo Minas artesanal são *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus* e *Streptococcus*

agalactiae, além de bactérias do gênero *Enterococcus* spp. (Araújo, 2008; Lima, Lima, Cerqueira *et al.*, 2009; Resende, Costa, Andrade *et al.*, 2011).

Contagens de BAL em queijo Minas artesanal da Serra da Canastra variaram entre $1,2 \times 10^7$ a $3,5 \times 10^8$ UFC/g (Resende, Costa, Andrade *et al.*, 2011). Queijo Tetilla da Espanha apresentou contagens de BAL em MRS e M17 de $6,6 \times 10^9$ e $2,2 \times 10^{10}$ UFC/g, respectivamente (Menéndez, Godínez, Centeno *et al.*, 2001).

Em pesquisa com queijo Fresco, mexicano, contagens de BAL em ágar MRS e M17 estavam em torno de $1,9 \times 10^8$ e $4,9 \times 10^7$ UFC/g no dia um de produção e, com o passar da maturação, continuaram com contagens elevadas, de até $2,6 \times 10^8$ e $2,6 \times 10^7$ UFC/g, respectivamente (Torrez-Llanez *et al.*, 2006). Em queijo Pecorino, italiano, os valores de BAL também permaneceram altos, com contagens iniciais de $3,3 \times 10^7$ e $1,5 \times 10^7$ UFC/g em ágar MRS e M17, respectivamente. Após 60 dias de maturação, as contagens apresentaram valores de $4,2 \times 10^9$ e $2,3 \times 10^8$ UFC/g, nos mesmos ágar (Randazzo *et al.*, 2008). Em queijo Genestoso, da Espanha, houve aumento na contagem de BAL em ágar MRS e diminuição de BAL em ágar M17 durante a maturação. Valores no dia zero partiram de 1×10^6 e $3,6 \times 10^7$ UFC/g em ágar MRS e M17 e terminaram em $4,7 \times 10^8$ e $1,5 \times 10^4$ UFC/g, respectivamente. Houve afirmação de que bactérias do gênero *Lactobacillus*, chamadas secundárias e mais resistentes ao NaCl, iniciariam seu crescimento no queijo a partir do dia 30 de maturação, que foi

acompanhado em ágar MRS, seletivo para estes micro-organismos. De forma oposta, bactérias do gênero *Lactococcus*, mais sensíveis ao sal, teriam seu pico de população no queijo no início da maturação, quando diminuiriam o pH inicial do produto e seriam com maior eficiência detectadas em ágar M17 nesse período inicial (Arenas, Gonzáles, Bernardo *et al.*, 2004).

2.7.5. Bolores e leveduras

Em contraste com a importância das BAL no início do processo de fabricação, outros micro-organismos, chamados secundários, se tornam essenciais na maturação do queijo artesanal. Bolores, leveduras e bactérias, entre elas BAL, têm um impacto na aparência, no sabor e na textura durante o desenvolvimento final dos queijos (Law e Tamime, 2010).

Espécies de bolores e leveduras variam de acordo com o tipo e local de produção. Em queijo Minas artesanal da Serra da Canastra, as espécies de maior contagem em queijo foram do gênero *Candida* e também das espécies *Debaryomyces hansenii*, *Pichia subpelliculosa*, *Torulaspota delbrueckii* e *Zygosaccharomyces rouxii* (Borelli, Ferreira, Lacerda *et al.*, 2006b).

Bolores e leveduras podem se desenvolver em paredes e prateleiras de maturação na queijaria. Ainda que não haja parâmetros legais para seus limites, é importante manter seu controle no ambiente, com limpeza de materiais e instalações. Em alguns casos, utiliza-se a escovação dos queijos para eliminar bolores e leveduras que crescem em

seu exterior. O uso de conservantes como sorbato de sódio ou sorbato de potássio, ainda que próprios para ingestão humana, é proibido pela legislação (Marino, Maifreni, Rondinini, 2003; Minas Gerais, 2012).

Em contagem de bolores e leveduras em queijo Minas artesanal da Serra da Canastra, foram encontrados valores entre $2,5 \times 10^3$ e $7,9 \times 10^7$ UFC/g (Borelli, Ferreira, Lacerda *et al.*, 2006b).

Queijo Serrano, produto artesanal dos estados do sul do Brasil, apresentou contagens de bolores e leveduras estáveis durante a produção nos meses de inverno, cujos valores variaram entre $4,6 \times 10^0$ a $3,2 \times 10^5$ UFC/g. Entretanto, no verão, as contagens apresentaram diferenças significativas ($P < 0,05$) e variaram entre $1,5 \times 10^1$ a $1,1 \times 10^6$ UFC/g (Souza, Rosa e Ayub, 2003).

Em estudo do queijo Montasio, da Itália, verificou-se baixo crescimento na matriz. Ao final de 60 dias de maturação, a contagem desses micro-organismos, em linha crescente, atingiu valores próximos a 10^3 UFC/g (Marino, Maifreni, Rondinini, 2003). Em queijo Pecorino, também italiano, contagens de bolores e leveduras permaneceram com valores entre $8,7 \times 10^2$ e 3×10^3 UFC/g, durante os 60 dias de maturação (Randazzo *et al.*, 2008). Em queijo Cotija, produto semi-duro mexicano, valor inicial de bolores e leveduras não foram detectados. Após um mês de maturação, as contagens subiram para $3,1 \times 10^1$ UFC/g, valor que permaneceu em crescimento até o dia 90 de maturação, com 2×10^2 UFC/g. Tais valores foram

significativos ($P < 0,05$) (Magallón, Hernández e Zapata, 2011).

2.8. Qualidade físico-química de queijo

O estudo da qualidade físico-química de queijo Minas artesanal garante o atendimento às legislações vigentes e, principalmente, permite confirmar que o produto apresenta sua identidade.

2.8.1. Extrato seco total

O teor de extrato seco total de queijos é reflexo do teor de gordura, proteína e lactose no produto (Costa Junior, Costa, Magalhães *et al.*, 2009). Cada tipo de queijo apresenta um teor de extrato seco total (EST) característico. Em queijo Minas artesanal, a legislação determina um valor mínimo de 54,1% (Minas Gerais, 2008).

Queijo Minas artesanal das regiões do Serro, da Canastra e do Cerrado apresentaram valores médios de 52,18%, 52,8% e 251,77%, respectivamente (Oliveira *et al.*, 2013). Em amostras de requeijão do norte, valor médio de EST foi de 58,52% (Viana, Oliveira, Carmo *et al.*, 2009). Médias para EST de queijo Tetilla, AOC espanhol, foram de 46,1%, semelhantes a valores médios de queijo Corrientes, argentino (Menéndez, Godínez, Centeno *et al.*, 2001; Vasek, Leblanc, Fusco *et al.*, 2008).

Ainda que feito a partir de leite ovino, a estação do ano não determinou diferenças no teor de extrato seco total em queijo Manchego, típico produto artesanal espanhol (Gaya, Sánchez, Nuñez *et al.*, 2005).

Em queijo Saint-Nectaire em maturação por 30 dias, não houve diferença ($P > 0,01$) no teor de EST. As medianas iniciais e finais foram de 50,17% e 54,86% (Millet, Saubusse, Didienne *et al.*, 2006). Entretanto, em queijo Urfa, feito a partir de leite cru na Turquia, a maturação de até 90 dias determinou diferença significativa no EST, sendo os valores iniciais e finais de 44,3% e 43,1% (Atasoy, Yetismeyen, Turkoglu *et al.*, 2008). O mesmo ocorreu em queijo branco turco, cuja porcentagem de sólidos totais foi de 51,42% para 41,02% em sessenta dias de maturação (Öner *et al.*, 2006).

2.8.2. Umidade

Durante a elaboração do queijo artesanal, as proteínas do leite, em destaque a caseína, se coagulam. Com isso, há expulsão do soro e concentração da massa, o que permitirá a formação do queijo. A sinérese, portanto, afeta a concentração de umidade no produto durante sua elaboração. Na maturação, a umidade de queijos diminui pela evaporação da água. Essa operação é exacerbada quando há alta temperatura ambiente e baixa umidade relativa do ar (Zottola e Smith, 1991).

A legislação quanto à umidade em queijo Minas artesanal determina máximo de 45,9% de umidade do produto. Assim, ele pode ser classificado como queijo de média umidade (Brasil, 1996; Minas Gerais, 2008). O conteúdo de água em queijo pode determinar a microbiota presente no produto e, assim, permitir a presença ou eliminação de patógenos (Zottola e Smith, 1991).

Em pesquisa análoga, com queijo Minas artesanal do Campo das Vertentes, o valor mínimo encontrado para umidade foi de 49,32% (Oliveira, 2011). Resultados semelhantes foram encontrados em estudos diferentes em queijo Minas artesanal do Serro. Assim, essas amostras encontravam-se fora do padrão estabelecido em lei (Machado, Ferreira, Fonseca *et al.*, 2004; Minas Gerais, 2008; Mata, 2009).

Queijo serrano, produto característico do sul do Brasil, apresentou média de 48,93% de umidade, com valores mínimos e máximos de 41,59% e 53,78% (Delamare, Andrade, Mandelli *et al.*, 2012). Queijo Carra, típico produto turco elaborado a partir de leite cru, apresentou 41,3% de umidade, com valores mínimo e máximo de 32,7% e 51,9%, respectivamente (Aygün, Aslantas e Oner, 2005). Queijo Peñamellera, produto semi-duro espanhol, iniciou a maturação com 55,71% e finalizou o período de 30 dias com 35,5% de umidade (Estepar, Sánchez, Alonso *et al.*, 1999).

De acordo com as estações de produção, diferença ($P < 0,05$) entre teor de umidade ocorreu em queijo Minas artesanal da Serra da Canastra (Silva, Abreu, Magalhães *et al.*, 2011). Em queijo Parmigiano-Reggiano, a estação de produção e tempo de maturação não determinaram diferença ($P > 0,05$) nos valores de umidade (Careri, Spagnoli, Panari *et al.*, 1996).

Em queijo Minas artesanal da Serra do Salitre e do Serro, as médias iniciais de umidade foram de 48,92% e 44,63%. Após 60 dias de maturação, a umidade média foi de 18,1% e

22,5%, respectivamente. Houve diferença ($P < 0,05$) entre os valores estudados (Lima, Cerqueira, Ferreira *et al.*, 2008; Pinto, Carvalho, Pires *et al.*, 2011). Em queijo Castelmagno, identificado como AOC, maturado no inverno, as amostras pré-maturação apresentavam média de 45,5% de umidade. Após 60 e 150 dias, os valores caíram para 37,7% e 33,5%, respectivamente. Também houve diferença ($P < 0,001$) entre esses valores (Bertolino, Dolci, Giordano *et al.*, 2011). Em outro estudo com queijo Minas artesanal do Serro, não houve diferença ($P > 0,05$) entre os valores antes e após o período de maturação, sendo que o produto apresentou 50% de umidade com 67 dias de maturação. Esse produto, entretanto, era maturado em ambiente refrigerado e em embalagem a vácuo (Mata, 2009).

2.8.3. Gordura

A gordura em queijo Minas artesanal depende, inicialmente, do teor deste componente no leite utilizado como matéria-prima, que não deve ser padronizado. Ela responde pela maior parte dos sólidos totais do produto. Durante a evolução da maturação, com a evaporação, há aumento de sua concentração (Costa Júnior *et al.*, 2009).

Queijo Minas artesanal da Serra da Canastra apresentou média de 26% de gordura (Costa Júnior *et al.*, 2009). Em queijo Serrano, o teor de gordura médio entre amostras inspecionadas e informais foi de 23,66%, com mínima de 18% e máxima de 31,10%. Ambos os limites eram de amostras não inspecionadas (Delamare, Andrade, Mandelli *et al.*, 2012).

Em queijo Fresco, produto do México consumido com até 15 dias de maturação, o valor médio apresentado em amostras de zero a 15 dias foi de 15,14% (Torrez-Llanez *et al.*, 2006). Queijo Tetilla apresentou média de gordura de 48,2%, em concordância com a legislação local (Menéndez, Godínez, Centeno *et al.*, 2001). Queijo Caciocavallo Pugliese, italiano AOC, apresentou médias de 24% de gordura (Gobbetti, Morea, Baruzzi *et al.*, 2002). Teores de gordura em queijo Minas artesanal da Serra da Canastra sofreram alterações por conta do período do ano de produção (Silva, Abreu, Magalhães *et al.*, 2011). Resultado distinto foi visto em queijo Parmigiano-Reggiano, em que os valores de verão e inverno foram de 29,88% e 28,34%, respectivamente e não variaram ($P > 0,05$) (Careri, Spagnoli, Panari *et al.*, 1996).

Durante a evolução da maturação, queijo Minas artesanal do Serro apresentou valores iniciais e finais de 24,17% e 37,67%, respectivamente. Tais diferenças foram significativas ($P < 0,05$) (Pinto, Carvalho, Pires *et al.*, 2011). Também foram estatisticamente diferentes ($P < 0,05$) os valores de gordura em queijo italiano Castelmagno, de 25,8%, 29,9% e 31,9% para os dias zero, 60 e 150 de maturação, respectivamente, e queijo Peñamellera, com valores iniciais e finais de gordura de 19,4% e 29% após 30 dias de maturação (Estepar, Sánchez, Alonso *et al.*, 1999; Bertolino, Dolci, Giordano *et al.*, 2011).

Queijo espanhol Quesucos de Liébana, reconhecido como AOC, apresentou altos teores de gordura antes e após a maturação: 57,65% e 54,99%, respectivamente. Tais

valores não foram diferentes ($P > 0,05$) (Prieto, Urdiales, Franco *et al.*, 2000).

2.8.4. Acidez titulável

A acidez titulável em queijos mede o teor de ácido láctico (%) presente na massa do produto. Não há padrão determinado para essa característica em queijo Minas artesanal.

Queijos Minas artesanal do Serro, Sepet, Serrano e requeijão do norte apresentaram médias de 1% a 1,69% de ácido láctico (Souza, Rosa e Ayub, 2003; Martins, 2006; Viana, Oliveira, Carmo *et al.*, 2009; Ercan, Korel, Yuceer *et al.*, 2011). Em outra pesquisa, queijo Minas artesanal do Serro, para o mesmo parâmetro, apresentou média de 0,28% (Machado, Ferreira, Fonseca *et al.*, 2004).

Em comparação de acidez titulável em dois períodos distintos de produção, queijo Minas artesanal do Serro apresentou médias de 0,9% a 1,04% de acidez no inverno e verão, respectivamente, e tais valores foram iguais ($P > 0,05$) (Martins, 2006).

Queijo Galotyri apresentou, com dois dias de maturação, acidez titulável de 0,73% (Kondyli, Katsiari e Voutsinas, 2008). Com o mesmo período de estoque, queijo Corrientes apresentou valor médio de 1,23% (Vasek, Leblanc, Fusco *et al.*, 2008).

Queijo Serrano apresentou valor médio de acidez titulável no inverno de 0,83% e no verão, de 1%. Durante a maturação, estes valores não permaneceram estáveis e foram aumentando de acordo com o período em estoque (Souza, Rosa e Ayub, 2003). A

maturação, de 180 dias, também afetou a acidez titulável de queijo Sepet, produto artesanal turco. Valores iniciais e finais, de 0,42% e 0,98%, respectivamente, foram significativos ($P < 0,05$) (Ercan, Korel, Yuceer *et al.*, 2011).

Durante a maturação de queijo Minas artesanal do Serro, não houve diferença ($P > 0,05$) entre os valores iniciais e finais de acidez titulável. Padrão semelhante foi visto em pesquisa com queijo branco da Turquia, que apresentou valores iniciais e finais de 2,4% e 1,33% em 60 dias de maturação (Öner *et al.*, 2006; Mata, 2009).

2.8.5. pH

O pH dos queijos varia em função de vários parâmetros. Dentre eles, encontram-se o tipo de bactérias ácido-láticas e bolores e leveduras presentes, a qualidade do leite utilizado e o tempo e a temperatura de maturação (Martins, 2006).

As bactérias ácido-láticas são responsáveis pela conversão de lactose em ácido láctico para ganho de energia. Assim, há queda de pH, que ocorre tanto no início da produção do queijo, com a coagulação e formação da massa, até durante todo o processo de maturação. A produção de ácido láctico e a consequente queda de pH variam de acordo com as espécies e cepas de BAL presentes tanto no leite quanto no soro-fermento. Bolores e leveduras, ao contrário, podem elevar o pH do produto final, uma vez que consomem ácido láctico, causam proteólise e sintetizam vitaminas, ambos alcalinos (Law e Tamime, 2010).

Em diferentes estágios de maturação, a média do pH de queijo Minas artesanal do Campo das Vertentes apresentou valor médio de 6,04 e do Serro, 4,98 (Machado, Ferreira, Fonseca *et al.*, 2004; Oliveira, 2011). Em queijo Carra, a média foi de 5,2 (Aygün, Aslantas e Oner, 2005). Queijo Fresco, mexicano, consumido após maturação curta em cadeia de frio, apresentou pH médio de 5,9, condizente com sua identidade (Torrez-Llanez *et al.*, 2006).

O pH de queijo Minas artesanal do Serro, em maturação de 60 dias, apresentou valores entre 4,85 e 5,28. Não houve diferença ($P > 0,05$) durante o período estudado (Pinto, Carvalho, Pires *et al.*, 2011). Já em pesquisa com queijo Minas artesanal da Serra da Canastra, os valores de pH ficaram entre 4,9 e 5,1 e variaram ($P < 0,05$) durante a maturação no período de chuva (Dores, Dias, Arcuri *et al.*, 2013). Em queijo Serrano, o valor médio de pH no verão foi de 5,73, e a maturação trouxe diferenças ($P < 0,05$) durante a evolução (Souza, Rosa e Ayub, 2003). O mesmo ocorreu em queijo Ahumado de Ávila, produto artesanal espanhol. A maturação determinou valores iniciais e finais de pH de 5,07 e 4,69, que foram diferentes ($P < 0,05$) (Franco, Prieto, Urdiales *et al.*, 2001). Por fim, em queijo Quesucos de Liébana, a maturação permitiu aumento do valor de pH, que se iniciou em 5,21, após 60 dias de maturação, e se alterou para 5,45 ($P < 0,05$) (Prieto, Urdiales, Franco *et al.*, 2000).

2.8.6. Nitrogênio total

A proteína presente em um queijo pode ser medida de acordo com a quantidade de

nitrogênio total (NT) em sua massa (Wrolstad *et al.*, 2005). A presença de nitrogênio total em queijos, principalmente maturados, pode se apresentar sob diversas formas. Como exemplo, a presença de fungos pode estimular a formação de compostos solúveis nitrogenados (Law e Tamime, 2010).

Queijo Minas artesanal do Serro apresentou média de 2,94% de nitrogênio total (Machado, Ferreira, Fonseca *et al.*, 2004).

O período de produção de queijo Parmigiano-Reggiano não alterou estatisticamente o teor de nitrogênio total, com valores de 3,5% e 3,3% no inverno e verão, respectivamente (Careri, Spagnoli, Panari *et al.*, 1996).

A maturação de 90 dias em queijo Urfa determinou diferenças ($P < 0,05$) entre os valores iniciais (2,67%) e finais (2,47%) de nitrogênio total, com queda na concentração com o passar dos dias (Atasoy, Yetismeyen, Turkoglu *et al.*, 2008). O oposto ocorreu em queijo Quesucos de Liébana, que apresentou NT inicial de 2,91%, e um período de 60 dias de maturação determinou contagens de NT finais de 3,74%, sendo que houve diferença ($P < 0,05$) entre estes dois valores (Prieto, Urdiales, Franco *et al.*, 2000). Por fim, em queijo Prato artesanal, a maturação não determinou diferenças ($P > 0,05$) nos teores iniciais e finais de NT, que foram de 3,51% e 4,62%, respectivamente (Gorostiza, Cichoscki, Valduga *et al.*, 2004).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Amostragem e aquisição do queijo Minas artesanal

Foram relacionados os únicos três produtores cadastrados no IMA na mesorregião de Campo das Vertentes. As propriedades rurais estavam distribuídas entres os municípios de Coronel Xavier Chaves e Lagoa Dourada, dentro da microrregião de São João del-Rei. Após visita inicial para apresentação do projeto aos proprietários, foram determinadas as épocas de coleta, chuvas e secas, e os tempos de coletas para acompanhamento da maturação: um, sete, 14, 21, 28, 45 e 60 dias, contados a partir da data de produção. Na primeira coleta, julho de 2012, foram recolhidos: queijo fresco, com um dia de produção, leite utilizado para a produção do queijo, soro-fermento originado do queijo coletado e água da torneira da queijaria utilizada para produção dos queijos. As coletas seguintes foram apenas de queijo, sendo estes do mesmo lote de produção da primeira coleta e armazenados na sala de maturação do estabelecimento. O mesmo procedimento foi repetido no período das chuvas, em janeiro de 2013, com apenas dois produtores. O terceiro encerrou a produção de queijos e passou a vender seu leite para um laticínio da região. Dessa forma, o n amostral de queijos foi de 21 unidades no período da seca e 14 nas chuvas.

A coleta dos materiais foi feita em recipiente estéril: papel alumínio para os queijos, que eram retirados diretamente das prateleiras da queijaria, e frascos de vidro para leite cru, soro-fermento e água, retirada diretamente da

torneira da queijaria. Dois frascos plásticos, também estéreis, acondicionaram leite cru. Continham, o primeiro, conservante azidiol, para contagem bacteriana, e o segundo, conservante bronopol, para contagem de células somáticas e composição.

As amostras de água da queijaria, leite cru, soro-fermento e queijo foram, após coleta, acondicionadas em caixas isotérmicas com gelo reciclável, sendo encaminhadas em até 24 horas para os laboratórios do Departamento de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (DTIPOA/EV/UFGM) para as pesquisas microbiológicas e físico-químicas. As amostras de queijo dos períodos de maturação de sete a 60 dias foram coletadas pelos produtores, instruídos quanto à assepsia da operação; foram então entregues a um transportador particular, que conduzia os queijos sob as mesmas condições acima descritas.

3.2. Informações gerais dos queijeiros e das propriedades

Entre as coletas da seca e das chuvas, retornou-se às propriedades escolhidas para elaboração de relatório técnico de visita à propriedade. Foi aplicado questionário (anexo 1) para conhecimento dos dados principais da propriedade rural, do sistema de produção e de elaboração do queijo Minas artesanal.

Também durante a visita, foram exibidos os resultados preliminares das análises do período de seca e fornecidas orientações quanto à aplicação de boas práticas

agropecuárias, de ordenha e produção. Houve retorno às propriedades estudadas também ao fim do experimento, com os dados finais já computados.

3.3. Análises laboratoriais

Os materiais recolhidos foram submetidos às análises descritas nos próximos itens, que ocorreram no Laboratório de Microbiologia de Alimentos do DTIPOA/EV/UFMG. Para a diluição inicial, correspondente a 10^{-1} , alíquotas de 1mL de água, leite e soro-fermento foram adicionadas em 9mL de salina peptonada 0,1%. Quanto às amostras de queijo, 25g eram pesados, triturados e adicionados em 225mL do mesmo diluente. Após homogeneização, seguiram-se diluições posteriores, também em salina peptonada 0,1%, até atingirem a concentração desejada para análises microbiológicas. Tais diluições foram utilizadas em todas as pesquisas, exceto para *Salmonella* spp.

3.3.1. Avaliação de qualidade microbiológica de água

Foram pesquisados em água os parâmetros microbiológicos: NMP de coliformes a 30°C e 45°C, contagem de *Staphylococcus coagulase* positivo, BAL e mesófilos aeróbios. As coletas foram realizadas no tempo 0, uma única vez em cada período.

3.3.2. Avaliação de qualidade microbiológica de soro-fermento

Os parâmetros microbiológicos de qualidade de soro-fermento foram NMP de coliformes a 30°C e 45°C, contagem de *Staphylococcus*

coagulase positivo, BAL e bolores e leveduras e presença de *Salmonella* spp.

3.3.3. Avaliação de qualidade microbiológica e físico-química de leite cru

Foram avaliados, em leite cru para produção de queijo Minas artesanal, os parâmetros de qualidade microbiológica: NMP de coliformes a 30°C e 45°C, contagem de *Staphylococcus coagulase* positivo, BAL e bolores e leveduras e presença de *Salmonella* spp.

As avaliações de contagem bacteriana, contagem de células somáticas e composição do leite cru foram realizadas no LabUFMG, onde eram protocoladas assim que davam entrada no laboratório. Para composição de leite, foram avaliados os teores percentuais de gordura, proteína, lactose, sólidos totais e extrato seco desengordurado.

As amostras de leite em conservante azidiol foram avaliadas quanto à contagem bacteriana total pela metodologia de citometria de fluxo (Suhren e Walte, 2000) em equipamento eletrônico IBC BactoCount IBC (*Bentley Instruments Incorporated*®, Chaska, Minnesota, Estados Unidos) (Bentley..., 2002).

As amostras de leite em conservante bronopol (2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol e natamicina) foram usadas para contagem de células somáticas em equipamento eletrônico Bentley CombiSystem 2300® (*Bentley Instruments Incorporated*®, Chaska, Minnesota, Estados Unidos) (Bentley..., 1997), pelo método de citometria de fluxo (International..., 1995). A composição do

leite, também obtida pelo equipamento Bentley CombiSystem 2300®, foi feita pelo método de absorção de comprimento de onda na região infravermelha (International..., 2000).

3.3.4. Avaliação de qualidade microbiológica de queijo Minas artesanal

Os parâmetros microbiológicos de qualidade de queijo Minas artesanal do Campo das Vertentes foram NMP de coliformes a 30°C e 45°C, contagem de *Staphylococcus coagulase* positivo, BAL e bolores e leveduras e presença de *Salmonella* spp

3.4. Metodologias utilizadas nas avaliações de parâmetros microbiológicos de qualidade

3.4.1. Pesquisa de coliformes a 30°C e a 45°C

Foram pesquisados coliformes totais (a 30°C) e coliformes termotolerantes (a 45°C) pela técnica do Número Mais Provável (NMP) (Brasil, 2003).

Para o teste presuntivo, 1mL das amostras de leite e soro-fermento, em diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} , foi inoculado, em triplicata, em tubos contendo 9mL de caldo lauril sulfato de sódio simples (*Himedia*, Mumbai, Índia) e tubos de Durham invertidos. Para o mesmo teste, 10 mL das amostras de água e queijo foram inoculados em 10 mL de caldo lauril sulfato de sódio duplo (*Himedia*), nas diluições 10^0 e 10^{-1} , respectivamente, e 1mL em caldo lauril sulfato de sódio simples, nas diluições seguintes (*Himedia*). Esses tubos também continham tubos de Durham invertidos.

Todos foram incubados em estufa a 36°C por 48 horas.

Presença de gás nos tubos de Durham invertidos indicou crescimento de bactérias Gram negativo e produção de gás a partir da lactose. Portanto, em tubos positivos (com presença de gás), foram feitas as provas confirmatórias. Para confirmação de coliformes totais, cada tubo positivo foi repicado em tubo com caldo verde brilhante bile lactose 2% (*BD*, Flanklin Lanes, Estados Unidos) e tubo de Durham invertidos, e incubado em estufa a 36°C por 48 horas. Para confirmação de coliformes termotolerantes, os mesmos tubos positivos no teste presuntivo foram repicados em tubos com caldo EC (*Himedia*) e tubos de Durham, e incubados em banho-maria a 45°C por 48 horas. Foram considerados positivos, nas provas confirmatórias, os tubos que apresentaram efervescência e formação de gás no interior dos tubos de Durham. Esses resultados foram comparados na tabela de Mac Crady para cálculo final do NMP.

3.4.2 Pesquisa de *Staphylococcus coagulase* positivo

Alíquotas de 0,1mL das diluições 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} das amostras de leite, soro-fermento e água foram inoculadas com a ajuda de alça de Drigalski em ágar Baird-Parker (*BD*) enriquecido com emulsão de gema de ovo e telurito de potássio (*Himedia*). As placas foram encubadas a 37°C por 48 horas. Após crescimento, as colônias foram contadas e classificadas em típicas ou atípicas. Em placas apenas com colônias de um só tipo, foram selecionadas cinco e inoculadas, cada

uma, em tubos contendo caldo Brain Heart Infusion (BHI) (*BD*). Naquelas placas em que os dois tipos de colônias apareciam, três de cada eram selecionadas e inoculadas também em caldo BHI (*BD*). Após 24 horas a 37°C, 500µL da suspensão eram adicionados lentamente, em tubo estéril, à mesma quantidade de plasma de coelho reconstituído (*Laborclin*, Vargem Grande dos Pinhais, Brasil). Por fim, após incubação idêntica à da etapa anterior, era conferido se o conteúdo de cada tubo havia coagulado (Brasil, 2003).

3.4.3. Pesquisa de *Salmonella* spp.

A pesquisa de *Salmonella* spp. foi feita em leite, soro-fermento e queijo. Para as amostras líquidas, 25mL, e para as amostras sólidas, 25g foram inoculados em frascos contendo 225mL de salina peptonada tamponada 1% e homogeneizados. Após permanecerem em temperatura ambiente por uma hora, foram incubados em estufa a 37°C por 24 horas para pré-enriquecimento. Em seguida, para enriquecimento seletivo, foram transferidos 1mL e 0,1mL das amostras para caldo Selenito Cistina (*Himedia*) e Rappaport Vassiliadis (*Acumedia*, Baltimore, Estados Unidos), respectivamente. Os tubos foram então incubados em banho-maria a 41°C por 24 horas. Após esse período, para isolamento em meios sólidos seletivos, as amostras foram estriadas em ágar verde brilhante vermelho de fenol lactose sacarose (BPLS) (*Acumedia*), ágar *Salmonella-Shigella* (SS) (*Acumedia*) e ágar Hektoen entérico (*Himedia*) e incubadas a 37°C por 24 horas. De cada placa, oito colônias consideradas típicas foram inoculadas em meio ágar Rugai modificado (Pessoa e Silva, 1972) para

realização dos testes bioquímicos. Aqueles tubos com leitura suspeita tiveram suas colônias selecionadas e incubadas em ágar nutriente (*Acumedia*) por 24 horas a 37°C. Por fim, após o lavado das colônias com salina peptonada 0,85%, essas foram submetidas ao teste de confirmação sorológica por meio do soro anti-*Salmonella* polivalente (*Probac*, São Paulo, Brasil) (Brasil, 2003).

3.4.4. Pesquisa de bactérias ácido-láticas

Alíquotas de 0,1mL das diluições 10^{-3} , 10^{-5} e 10^{-7} das amostras de água, leite, soro-fermento e queijo foram inoculadas com a ajuda de alça de Drigalski em ágar Man – Rogosa – Sharpe (MRS) (*BD*) e M17 (*BD*) e incubadas em aerobiose em estufa a 37°C por 48 horas. Também foram testadas quanto ao Gram e catalase (International..., 1988; Hoorde, Heyndrickx, Vandamme *et al.*, 2010; Resende, 2010).

3.4.5. Pesquisa de bolores e leveduras

Alíquotas de 0,1mL das diluições 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} das amostras de leite, soro-fermento e queijo foram inoculadas em ágar batata dextrose 2% (*Acumedia*), com a ajuda de alça de Drigalski. O ágar batata dextrose havia sido adicionado, previamente, de ácido tartárico 10% estéril. As placas foram incubadas por sete dias a 25°C, não invertidas (Brasil, 2003).

3.4.6. Contagem padrão em placas de micro-organismos mesófilos aeróbios

Alíquotas de 0,1mL das diluições 10^0 , 10^{-1} e 10^{-2} de água foram inoculadas em ágar PCA

com a ajuda de alça de Drigalski e incubadas a 37°C por 48 horas (Brasil, 2003).

3.5. Qualidade físico-química dos queijos

As análises físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Análises Físico-Químicas I do DTIPOA/EV/UFG. As amostras de queijo foram submetidas às seguintes análises físico-químicas: extrato seco total e umidade pelo método gravimétrico, gordura pelo método de Gerber, acidez titulável, pH e compostos nitrogenados pelo método de Kjeldahl. Todas foram feitas de acordo com Brasil (2006b). Todas as análises físico-químicas de queijo Minas artesanal foram feitas em duplicata.

Por perda das amostras do período seco, o valor do pH do queijo Minas artesanal no período da seca não foi medido.

3.6. Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado e em esquema fatorial 2x7, sendo dois os períodos de coleta (chuvas ou seca) e sete, os tempos de maturação (um, sete, 14, 21, 28, 45 e 60 dias).

Baseando-se na distribuição de dados, houve transformação logarítmica na base 10 para os resultados das contagens bacterianas encontradas nas amostras de água, leite, soro-fermento e queijo. Nas análises físico-químicas de leite e queijo, os resultados em porcentagem sofreram transformação angular. Assim, os dados passaram a atender à exigência de distribuição normal para aplicação dos testes estatísticos adequados.

Para comparar os parâmetros microbiológicos e físico-químicos entre os períodos de seca e chuvas, foi feita análise de variância. O estudo estatístico foi então seguido por comparação de médias utilizando o teste F com 5% de significância, em razão dos elevados coeficientes de variação encontrados (Sampaio, 2010).

Foi utilizada a análise de regressão para comparar os parâmetros microbiológicos e físico-químicos entre as semanas de maturação dos queijos durante os dois períodos. Os coeficientes encontrados foram testados pelo teste *t* com 5% de significância.

Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa Microsoft Office Excel 2007.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Identificada como pioneira na produção do queijo Minas artesanal no estado no século XIX, a mesorregião de Campo das Vertentes perdeu seu posto nos dois séculos seguintes. Com a queda da produção e mobilização do contingente de produtores de queijo para outras atividades, a região perdeu também o conhecimento adquirido e a forma de produção utilizada inicialmente. Em conversas informais com os produtores da região, percebeu-se que a maioria vende os queijos ainda frescos e que não utiliza o pingo durante o processamento.

A identificação da mesorregião, portanto, como produtora de queijo Minas artesanal, não só remete aos primórdios da colonização e desenvolvimento do local como também impulsiona a produção de forma correta, tanto histórica como legalmente.

4.1. Informações gerais sobre os queijeiros e das propriedades

As características das propriedades pesquisadas foram obtidas através da aplicação de um questionário (anexo 1).

As propriedades, à época das coletas, foram classificadas como sistemas pouco intensivos, em áreas de 15 a 30 hectares, com sete a 20 animais em lactação e produção média de dez litros de leite por animal por dia. A produção de queijos não era negócio exclusivo dos proprietários; além da renda com o produto, havia receita com a venda de leite para laticínios da região, produção de frutas e doces caseiros e exploração de atividades turísticas na propriedade e em seu entorno.

O manejo dos animais era a pasto e havia suplementação com concentrado, dado durante a ordenha. Durante a seca, o pasto era irrigado e, quando necessário, era ofertada silagem de milho.

Os rebanhos eram fechados e com composição genética de animais da raça jersey ou mestiças de jersey e holandês. A forma de reprodução era através de inseminação artificial ou monta natural com machos do próprio rebanho. O controle zootécnico variava entre os rebanhos, sendo que um produtor apresentou planilhas individuais por animal, enquanto outro não realizava qualquer anotação.

A forma de ordenha era mecânica, sendo que em uma propriedade havia latão ao pé, enquanto em outra a tubulação conduzia o leite até o interior da queijaria. A quantidade de ordenhas ao dia variava entre uma e duas,

que duravam entre 20 e 40 minutos. A higienização do equipamento era feita baseada nas recomendações do fabricante, mas com adaptações, como falta de enxágue ou não recirculação após aplicação do detergente alcalino clorado.

Quanto à sanidade animal, a assistência ficava a cargo de um médico veterinário providenciado pela Emater ou pelo sindicato do município. Não foram relatados casos de mastite durante o experimento. As vacinações realizadas eram contra aftosa, brucelose e raiva. Durante a certificação para o Programa Queijo Minas Artesanal, foram feitos os testes de tuberculose e brucelose contidos no manual do Programa Nacional de Erradicação de Brucelose e Tuberculose. Para controle de ectoparasitas, eram usados produtos alternativos, como folha de mamona ou extrato de nim, derivado das sementes da árvore *Azadirachta indica* (Micheletti, Dias, Valente *et al.*, 2010). Quando não solucionavam o problema, um dos produtores utilizava produto comercial em forma *pour on*.

A motivação principal quanto à produção do queijo Minas artesanal foi a recuperação da tradição local, com o intuito de preservar e, ao mesmo tempo, inovar. A produção variava entre diária ou segundo disponibilidade de tempo e leite. Não eram feitos cálculos dos custos de produção do leite e do queijo. O valor de venda das peças variava em torno de 15 a 20 reais, dependendo do produtor e da maturação e seguiam com ou sem rótulo, o que variava de acordo com o comprador.

4.2. Qualidade microbiológica de água

Na comparação entre as médias de número mais provável de coliformes a 30°C e 45°C e contagens de *Staphylococcus* coagulase positivo, bactérias ácido-láticas e padrão em placas para água nos períodos de seca e chuvas, não houve diferença significativa (P

> 0,05) entre os resultados encontrados (tabela 7).

Observou-se adequação das formas de captação de água nas propriedades analisadas, sendo que todas protegiam as fontes iniciais e havia canalização da fonte até à queijaria, onde a água era clorada.

Tabela 7. Resultados médios (x) e coeficientes de variação (CV) de parâmetros microbiológicos de qualidade de água de queijarias de produtores cadastrados na região de Campo das Vertentes – MG

Período de análise	Seca		Chuvas	
	x	CV (%)	x	CV (%)
Coliformes a 30°C (NMP/g)	3,6	11	3,6	13
Coliformes a 45°C (NMP/g)	< 3	0	< 3	0
<i>Staphylococcus</i> coagulase positivo (UFC/g)	< 1	0	< 1	0
BAL MRS (UFC/g)	< 1	0	5,5x10 ⁰	116
BAL M17 (UFC/g)	4x10 ⁰	130	< 10	0
Contagem padrão em placas (UFC/mL)	< 1	0	2,7x10 ³	141

As médias de coliformes a 30°C apresentaram valores acima daqueles estabelecidos na legislação estadual. Ainda que baixas, elas indicam falha na captação e na cloração da água. O número mais provável de coliformes a 45°C, entretanto, foi adequado em relação à mesma legislação (Minas Gerais, 2002a). A técnica utilizada, preconizada em manual federal, não foi capaz de detectar a contaminação por esses micro-organismos.

Altas contagens de coliformes a 30°C em água podem favorecer a ocorrência de defeitos no queijo. Utilizada para a limpeza das mãos do queijeiro e dos materiais utilizados para a produção, a água poderia contaminá-los, o que acarretaria a contaminação do leite, soro-fermento e, por consequência, do queijo. Assim, a presença desses micro-organismos poderia causar

defeitos como estufamento precoce, em que bactérias da família Enterobacteriaceae, ao fermentarem a lactose, produzem CO₂ e H₂, com formação de pequenas bolhas e consequente abaulamento do produto. Tal fermentação pode também causar sabores não característicos no queijo (Alichanidis, 2007).

Em pesquisa em queijarias em Lavras, Campo das Vertentes, e nas regiões do Serro e da Serra da Canastra, os resultados para coliformes foram semelhantes quanto à inadequação das amostras à legislação, mas discrepantes quanto aos números mais prováveis apresentados neste trabalho (Borelli, Ferreira, Lacerda *et al.*, 2006a; Martins, 2006; Oliveira, 2011).

Ainda que não determinada em legislação específica, a contagem de *Staphylococcus* coagulase positivo foi feita. Os resultados não indicaram contaminação por esse micro-

organismo. Resultado contrastante foi encontrado em pesquisa de água de estabelecimentos leiteiros no estado de São Paulo (Amaral, Rossi Júnior, Nader Filho *et al.*, 2003).

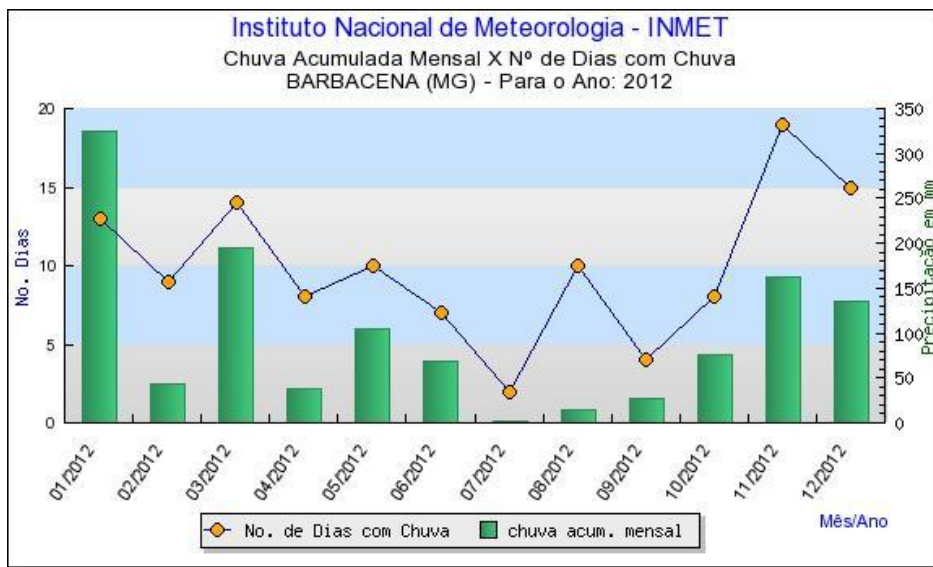
A presença de bactérias ácido-láticas em água confirma que o ambiente da queijaria é importante fonte desses micro-organismos. Embora a ocorrência natural e a sobrevivência de bactérias ácido-láticas já tenham sido relatadas em água não tratada (Gatesoupe, 2008; Talpur, Memon, Khan *et al.*, 2012), ainda não foram descritas tais bactérias como na situação vista nesse trabalho.

A contagem padrão em placas apresentou resultado adequado na seca, mas elevado nas chuvas. Ainda que não significativa na estatística, o valor apresentado no período de chuvas está acima daquele preconizado na legislação. A propriedade que apresentou tal problema, e que elevou a média geral, possui uma captação da Copasa dentro de seus limites. A água é transferida até a caixa d'água da queijaria, onde permanece até ser usada. A cloração, portanto, é feita na captação, ainda sob os cuidados da empresa de saneamento, o que pode resultar em pós-

contaminação na canalização até a queijaria ou durante seu estoque.

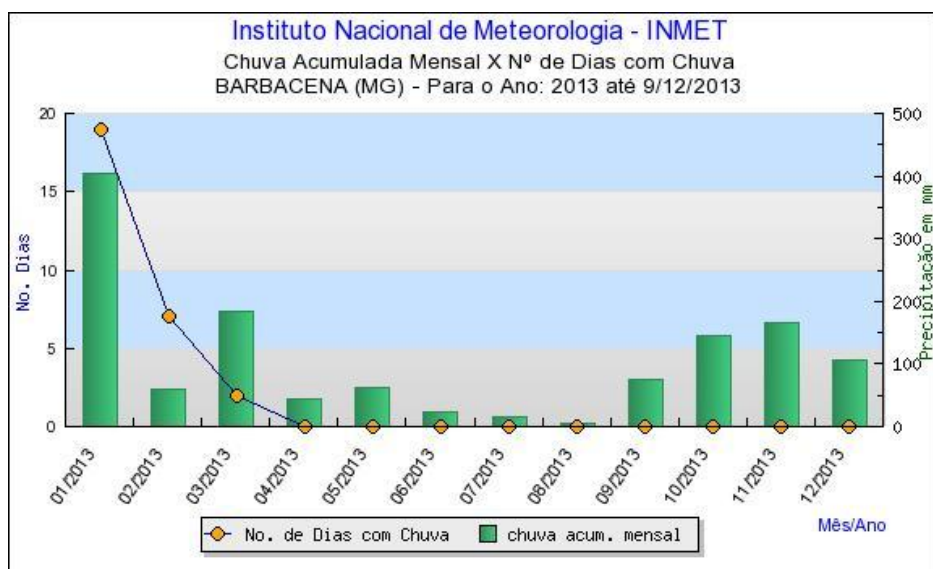
Resultados semelhantes, com altas contagens em placas de micro-organismos mesófilos aeróbios, também foram encontrados em água de queijaria em Lavras (Oliveira, 2011).

A principal explicação para a falta de variação significativa entre as contagens de micro-organismos nos períodos de seca e chuvas se deve à baixa variabilidade dessas duas estações nos anos da pesquisa, 2012 e 2013. Em maio e junho de 2012, meses anteriores ao início das coletas da seca, o acumulado de chuvas foi semelhante ao dos meses de novembro de 2012 e fevereiro de 2013, típicos de chuva (figuras 5 e 6). É sabido que, em períodos de chuvas, há maior contaminação pelo maior aporte de matéria orgânica do solo até os cursos de água, e temperaturas e umidade altas são fatores agravantes desse quadro. Sendo assim, nas comparações dos períodos de seca e chuvas, tanto nas análises microbiológicas de água, quanto nas de leite e soro-fermento, as médias foram iguais ($P > 0,05$).



Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia

Figura 5. Chuva acumulada mensal para o ano de 2012 da estação de Barbacena, Campo das Vertentes - MG



Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia

Figura 6. Chuva acumulada mensal para o ano de 2013 da estação de Barbacena, Campo das Vertentes - MG

Os coeficientes de variação encontrados para as análises microbiológicas de água indicam

estabilidade dos valores tanto para as chuvas quanto para a seca. As contagens de BAL em

ágar M17 na seca e BAL em ágar MRS e padrão em placas nas chuvas apresentaram, em contraste, variações acima de 100%. Tais valores indicam contaminações pontuais nas amostras analisadas das queijarias estudadas.

4.3. Qualidade microbiológica de soro-fermento

Não foram encontradas diferenças significativas ($P > 0,05$) nas contagens dos micro-organismos pesquisados em soro-fermento quando comparados os períodos de análise (tabela 8). Todas as contagens, entretanto, mostraram-se elevadas, ainda que não haja parâmetro legal para essas análises em pingos.

Tabela 8. Resultados médios (x) e coeficientes de variação (CV) de parâmetros microbiológicos de qualidade de soro-fermento de queijarias cadastradas pelo IMA na região de Campo das Vertentes – MG

Período de análise	Seca		Chuvas	
	x	CV (%)	x	CV (%)
Coliformes a 30°C (NMP/g)	886	42	245	124
Coliformes a 45°C (NMP/g)	368	172	231	140
<i>Staphylococcus coagulase positivo</i> (UFC/g)	$7,3 \times 10^4$	150	$< 1 \times 10^4$	0
BAL MRS (UFC/g)	$2,3 \times 10^5$	173	$1,8 \times 10^7$	103
BAL M17 (UFC/g)	$2,1 \times 10^7$	89	$5,5 \times 10^7$	64
Bolores e leveduras (UFC/g)	$4,6 \times 10^5$	85	$1,1 \times 10^6$	129

As contagens elevadas dos micro-organismos indesejáveis determinam que o soro-fermento, além de fonte de bactérias ácido-láticas, também está sendo responsável pela contaminação da massa do queijo, o que resulta em um produto final de menor qualidade microbiológica. Assim, forma-se um ciclo de contaminação, uma vez que o soro proveniente do queijo contaminado se transforma no pingo do dia seguinte.

Como resultado da constante recontaminação, os queijos feitos a partir de um pingo de má qualidade podem apresentar problemas de sabor e aparência e também ser carreadores de patógenos. Dentre os micro-organismos deteriorantes, encontram-se os coliformes totais, presentes em contagens elevadas no

soro-fermento pesquisado. Eles são capazes de produzir gases e ácidos durante a fermentação, que descaracterizam a apresentação e o sabor do queijo Minas artesanal. Os coliformes termotolerantes, também encontrados no pingo pesquisado, podem causar doenças em humanos. Linhagens distintas de *Escherichia coli*, pertencente a esse grupo, são responsáveis por infecções e toxinfecções em humanos (Jay, Loessner e Golden, 2005). O mesmo problema pode ser causado por *Staphylococcus coagulase positivo*, capaz de produzir toxinas que causam gastroenterite no consumidor do queijo (Carmo, Dias, Linardi *et al.*, 2002). A presença de BAL, entretanto, pode diminuir as contagens desses micro-organismos indesejáveis, uma vez que são

produtores de ácido e bacteriocinas, que atuam contra eles (Perin, Moraes, Viçosa *et al.*, 2012).

Resultado com menores valores de *Staphylococcus* coagulase positivo, mas também sem diferença entre as estações, foi encontrado em pesquisa de pingo para produção de queijo Minas artesanal da Serra da Canastra (Paiva, 2012). Em outros trabalhos com soro-fermento da mesma região, os resultados quanto à comparação chuvas e seca foram semelhantes ao deste trabalho, ainda que também com contagens inferiores (Nóbrega, Ferreira, Dores *et al.*, 2008; Dores, Dias, Arcuri *et al.*, 2013).

Foi verificada ausência de *Salmonella* spp. em todas as amostras analisadas. Análise de pingo de queijo Minas artesanal do Serro e cultura *starter* de queijo Feta artesanal apresentaram resultados semelhantes (Moatsou, Moschopoulou, Georgala *et al.*, 2004; Santos, 2010). A não presença desse micro-organismo pode ser atribuída às altas contagens de bactérias ácido-láticas presentes no soro-fermento, o que acarreta queda de pH e competição por nutrientes.

Resultado semelhante para contagem de bactérias ácido-láticas e bolores e leveduras

foi encontrado em pesquisas de pingo em queijo Minas artesanal da Serra da Canastra. Com altas contagens, como também observado na tabela 7, um dos autores igualmente não encontrou diferenças significativas entre os períodos de seca e chuva estudados (Borelli, Ferreira, Lacerda *et al.*, 2006b; Nóbrega, 2007).

A composição do soro-fermento é influenciada por fatores externos e vai além do recolhimento do soro do lote anterior. A contaminação por novas bactérias ácido-láticas, a competição por micro-organismos estranhos à microbiota, como a presença de *Staphylococcus* spp. ou coliformes, a quantidade de sal utilizado durante a salga, a temperatura e umidade da queijaria, todos esses elementos afetam de forma positiva ou negativa a qualidade do pingo. Assim, há grande variabilidade dos resultados, como visto nos coeficientes de variação encontrados.

4.4. Qualidade microbiológica e físico-química de leite cru

Não houve diferença ($P > 0,05$) entre as médias das contagens de células somáticas e bacteriana total nos leites coletados nos períodos de seca e chuvas (tabela 9).

Tabela 9. Resultados médios (x) e coeficientes de variação (CV) de contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT) de leite cru obtido em queijarias cadastradas pelo IMA na região de Campo das Vertentes – MG

Período de análise	Seca		Chuvas	
	x	CV (%)	x	CV (%)
CCS (UFC/g)	$3,9 \times 10^5$	135	$8,9 \times 10^5$	128
CBT (UFC/g)	$7,7 \times 10^5$	82	$4,3 \times 10^5$	99

Os valores de contagem de células somáticas e contagem bacteriana total estão acima daqueles permitidos pela legislação (Minas Gerais, 2002a). Mesmo utilizando ordenhadeira mecânica, as propriedades analisadas neste estudo não apresentavam rotina básica de ordenha adequada, como teste da caneca telada em todos os animais, realização de pré e pós-*dipping* com produtos adequados e limpeza apropriada do equipamento. Assim, os valores vistos na tabela 8 estão de acordo com a realidade vivenciada nas fazendas estudadas.

Ainda que os produtores não tenham relatado problemas com mastite nos rebanhos, os altos valores de células somáticas sugerem um quadro mais grave do que inicialmente aventado. A contagem semelhante entre os períodos de seca e chuvas e a falta de observância do quadro clínico pelos produtores demonstram que a mastite das vacas é possivelmente subclínica, o que pode acarretar menor produção leiteira, menor qualidade do leite e pior rendimento do queijo. Isso ocorre pela desnaturação de proteínas, causada por enzimas associadas a altas contagens de células somáticas, e pela queda no volume de leite produzido pelos animais (Banks, 2007).

Altas contagens bacterianas totais, como vistas na tabela 8, indicam graves

deficiências na higiene da produção. Contagens semelhantes para CBT e CCS foram vistas em pesquisa com leite cru para produção de queijo Minas artesanal do Serro. Nesta mesma pesquisa, as estações do ano não acarretaram mudanças para esses parâmetros, assim como visto no presente trabalho (Costa Sobrinho, Faria, Pinheiro *et al.*, 2012).

Amostras de leite utilizadas para produção de queijos artesanais Parmigiano-Reggiano, italiano, e queijo Saint-Nectaire, francês, apresentaram CCS semelhante às encontradas neste trabalho. No leite francês, assim como no leite do Campo das Vertentes, as estações não determinaram diferenças ($P > 0,05$) entre as contagens. Em leite italiano, entretanto, houve variação em CCS nos períodos do verão e do inverno (Summer, Sandri, Tosi *et al.*, 2007; Leriche e Fayolle, 2012).

Os resultados microbiológicos de leite cru encontram-se na tabela 9. Nos parâmetros avaliados, número mais provável de coliformes a 30°C e a 45°C e contagens de *Staphylococcus* coagulase positivo, bolores e leveduras e bactérias ácido-láticas em leite cru, não houve diferença ($P > 0,05$) de médias na comparação entre os períodos de seca e chuvas. As contagens bacterianas totais (tabela 8) vão ao encontro dos resultados da

tabela 10, em que há número mais provável alto de coliformes, assim como a presença de

bactérias ácido-láticas.

Tabela 10. Resultados médios (\bar{x}) e coeficientes de variação (CV) de parâmetros microbiológicos de qualidade de leite cru de queijarias cadastradas pelo IMA na região de Campo das Vertentes – MG

Período de análise	Seca		Chuvas	
	\bar{x}	CV (%)	\bar{x}	CV (%)
Coliformes a 30°C (NMP/g)	764	76	1100	0
Coliformes a 45°C (NMP/g)	29	78	<3	0
<i>Staphylococcus coagulase positivo</i> (UFC/g)	$<1 \times 10^4$	0	$<1 \times 10^4$	0
BAL MRS (UFC/g)	$1,7 \times 10^5$	148	5×10^4	141
BAL M17 (UFC/g)	$2,4 \times 10^6$	170	$3,5 \times 10^6$	125
Bolores e leveduras (UFC/g)	$<1 \times 10^4$	0	$<1 \times 10^4$	0

A não interferência do período de análise nas contagens microbianas pode ser explicada pela similaridade dos períodos de coleta, principalmente quanto à presença de chuvas nas duas estações (item 4.1). Outro fator que pode ter colaborado com a semelhança entre os parâmetros foi a orientação dada aos produtores entre os períodos de seca e chuvas, com indicações principalmente quanto à higiene de ordenha. Ainda que o período das chuvas apresente maiores desafios ambientais, os produtores já haviam colocado em prática processos como pré e pós-*dipping* e higienização correta do equipamento de ordenha. Assim, a contagem de micro-organismos indesejáveis, ainda que não tenha melhorado, ao menos permaneceu estável.

As altas contagens de coliformes a 30°C e a 45°C indicam higiene de ordenha deficiente e possível contaminação por matéria fecal. Durante o transporte para a queijaria, deve haver cuidado para que o leite não sofra contaminação após sua ordenha. Mãos de ordenhador, exposição do produto,

instalações e equipamentos mal higienizados podem ser fontes de micro-organismos, o que poderá acarretar perda de qualidade do produto final.

Em leite de Uganda, os valores de coliformes totais e termotolerantes foram menores que aqueles encontrados neste estudo. As estações, entretanto, foram causa de variação entre esses resultados. As contagens maiores na estação seca foram devido à grande presença de partículas de poeira no ar que, aliadas às condições precárias de higiene, agravaram a situação do produto (Grimaud, Sserunjogi, Wesuta *et al.*, 2009).

Contagens semelhantes de *Staphylococcus coagulase positivo* nos períodos de seca e chuvas também foram encontradas em pesquisa de leite cru para produção de queijo Minas artesanal do Serro e queijo Saint-Nectaire, francês. Para ambos os trabalhos, o período de produção não determinou diferença ($P > 0,05$) entre as contagens desse micro-organismo (Costa Sobrinho, Faria, Pinheiro *et al.*, 2012; Leriche e Fayolle, 2012).

A técnica utilizada para detecção e contagem de *Staphylococcus* coagulase positivo no presente trabalho não identificou o micro-organismo nos leites crus analisados. Ainda assim, o valor não é conclusivo quanto à adequação das amostras sobre os valores legais. As médias encontradas neste trabalho indicam baixa contaminação por esse micro-organismo, mas não o descartam como causa da possível mastite. Sabe-se que úberes contaminados por bactérias do gênero *Staphylococcus* podem ejetar baixas contagens destes (Hayes e Boor, 2001).

Das amostras de leite analisadas, todas foram negativas para *Salmonella* spp. Análise de leite cru destinado à produção de queijo Minas frescal, queijo caseiro e queijo Fresco mexicano também apresentou resultados semelhantes (Torrez-Llanez *et al.*, 2006; Carvalho, Carvalho, Hofer *et al.*, 2009; Ortolani, 2009). Pode-se explicar a ausência desse micro-organismo patogênico pela não ocorrência de contaminação cruzada, e também pela ação das bactérias ácido-láticas ali presentes. Resultado discrepante para *Salmonella* spp., entretanto, foi visto em leite cru de Uganda (Grimaud, Sserunjogi, Wesuta *et al.*, 2009).

A contagem de bactérias ácido-láticas encontra-se em valor elevado, o que é interessante para a produção de queijo Minas artesanal do Campo das Vertentes, uma vez que elas são responsáveis por grande parte da identidade desse produto. Preocupa, entretanto, o número mais provável de coliformes a 30°C e 45°C, capazes de inibir as BAL (Wouters, Ayad, Hugenholtz *et al.*, 2002).

Valores semelhantes de BAL foram encontrados em pesquisas com leite cru para queijo Alpino e também não houve variação de acordo com o período estudado (Franciosi, Settanni, Cavazza *et al.*, 2009).

A presença de bolores e leveduras em leite é restrita e, quando presente, está em baixas contagens. Ausência de contagem de bolores e leveduras, como no presente trabalho, foi identificada em leite para queijo Casin (Alegría, Álvarez-Martín, Sacristán *et al.*, 2009). Leite cru para queijo Minas artesanal da Serra da Canastra, entretanto, apresentou contagem de bolores e leveduras (Borelli, Ferreira, Lacerda *et al.*, 2006b).

Os altos coeficientes de variação encontrados para CBT, CCS e nas contagens microbiológicas indicam que as propriedades avaliadas apresentaram índices microbiológicos inconstantes quando comparadas, o que sugere diferenças nos manejos e práticas. Esse dado pode ser confirmado nas visitas ocorridas para coleta das amostras. Ainda que todas apresentassem deficiência de manejo e higienização na ordenha, algumas etapas estavam sendo cumpridas por alguns produtores. Resultado semelhante, com alta instabilidade de coeficientes de variação, foi encontrado em análises microbiológicas de leite cru para queijo Minas artesanal da Serra da Canastra e queijo artesanal Saint-Nectaire, francês (Resende, 2010; Leriche e Fayolle, 2012).

A composição centesimal do leite cru encontra-se na tabela 11. Não foram encontradas diferenças significativas

($P > 0,05$) em todos os componentes estudados durante os períodos de seca e chuvas.

Tabela 11. Resultados médios (\bar{x}) e coeficientes de variação (CV) de parâmetros físico-químicos de qualidade de leite cru de queijarias cadastradas pelo IMA na região de Campo das Vertentes – MG

Período de análise	Seca		Chuvas	
	\bar{x}	CV (%)	\bar{x}	CV (%)
Gordura (%)	4,31	12	4,66	13
Proteína (%)	3,38	9	3,46	6
Lactose (%)	4,34	2	4,39	1
ESD (%)	8,79	4	8,85	3
Sólidos totais (%)	13,10	2	13,51	7

Além de os períodos de chuva e seca terem sido relativamente semelhantes, como explicado no item 4.2, outro fator que pode ter contribuído para a não variação de resultados foi a baixa variabilidade do manejo dos rebanhos, fechados, durante esses períodos. Com características pouco intensivas, número baixo de cabeças e alimentação do gado semelhante durante as estações do ano, não ocorreram grandes modificações para que adviesse qualquer variação na matéria-prima do queijo. Os coeficientes de variação corroboram essa justificativa, uma vez que se encontram baixos para todos os parâmetros pesquisados.

A alta concentração de gordura, maior que aquelas encontradas em rebanhos brasileiros, pode ser explicada pela presença de animais da raça Jersey, predominante nos rebanhos estudados (Ornelas, 2005). Resultados similares para gordura e proteína foram encontrados em leite cru para produção de queijo Casín e queijo Minas artesanal da Serra da Canastra (Alegría, Álvarez-Martín, Sacristán *et al.*, 2009; Resende, 2010). Entretanto, valores contrastantes com os

vistos neste trabalho foram encontrados para sólidos totais em leite para queijo Casín, o que pode ser explicado pela dieta e pela raça de gado utilizada para a produção de leite (Alegría, Álvarez-Martín, Sacristán *et al.*, 2009).

Leite cru de São Paulo e leite cru para queijo artesanal, na França, diferentemente do exposto na tabela 10, apresentaram concentrações diferentes de proteína e gorduras quando comparados com a estação de produção (Nóbrega e Langoni, 2011; Leriche e Fayolle, 2012). Mesmo resultado foi encontrado em pesquisa com leite cru na Suécia e na Itália, em que foi observado aumento da concentração de gordura nos meses mais frios do ano. No estudo sueco, entretanto, a porcentagem de proteína permaneceu constante, assim como observado na tabela 10 (Summer, Sandri, Tosi *et al.*, 2007; Larsen, Nielsen, Butler *et al.*, 2010).

4.5. Qualidade microbiológica de queijo Minas artesanal do Campo das Vertentes

Foram comparadas, para avaliação da qualidade do queijo Minas artesanal do Campo das Vertentes, as médias dos períodos de produção (seca e chuvas) e, de forma isolada, a influência da maturação sobre os queijos, nos mesmos períodos. Os resultados encontram-se nos itens abaixo.

4.5.1. Diferenças microbiológicas em queijo Minas artesanal entre períodos de análise (seca e chuvas)

Na comparação entre as médias de número mais provável de coliformes a 30°C e 45°C e as contagens médias de *Staphylococcus*

coagulase positivo e bactérias ácido-láticas no queijo Minas artesanal variaram estatisticamente ($P < 0,05$) de acordo com o período em que esses foram produzidos (tabela 11). Apenas nas contagens de bolores e leveduras não houve diferença significativa ($P > 0,05$) (tabela 12).

Foi observado crescimento de coliformes a 30°C e a 45°C em meios específicos. Das amostras analisadas, aquelas coletadas no período da seca estavam dentro do limite estabelecido em legislação estadual. Entretanto, número mais provável de coliformes a 30°C e a 45°C do período das chuvas encontrava-se acima dos padrões vigentes (Minas Gerais, 2002a).

Tabela 12. Resultados médios (x) e coeficientes de variação (CV) de parâmetros microbiológicos de queijo Minas artesanal de queijarias cadastradas pelo IMA na região de Campo das Vertentes – MG

Período de análise	Seca		Chuvas	
	x	CV (%)	x	CV (%)
Coliformes a 30°C (NMP/g)	889 ^b	32	6407 ^a	32
Coliformes a 45°C (NMP/g)	513 ^b	70	5545 ^a	1
<i>Staphylococcus</i> coagulase positivo (UFC/g)	2,6x10 ^{4b}	97	1,1x10 ^{5a}	27
BAL MRS (UFC/g)	8,3x10 ^{9a}	194	1,6x10 ^{8b}	135
BAL M17 (UFC/g)	9,5x10 ^{8a}	98	1,7x10 ^{8b}	145
Bolores e leveduras (UFC/g)	1x10 ⁶	81	2,2x10 ⁶	84

Médias seguidas por letras distintas em linha diferem pelo teste F ($P < 0,05$)

As médias das contagens de coliformes totais e coliformes termotolerantes foram diferentes ($P < 0,05$) nos períodos de seca e chuvas. Resultados semelhantes foram vistos em queijo Minas artesanal do Serro (Martins, 2006).

Além de indicar falhas de higiene de processamento, a presença de coliformes a 30°C em um produto alimentar pode causar sua deterioração, uma vez que ocorre

formação de hidrogênio e gás carbônico no queijo, em um processo chamado estufamento precoce (Sheehan, 2007). Foram observados formação de gás e estufamento característico em queijos com poucos dias de maturação, elaborados por um dos produtores no período das chuvas. Esses produtos contaminados, provenientes de uma mesma queijaria, foram responsáveis pelo aumento da média geral, que se mantinha baixa devido

aos bons resultados apresentados pelos queijos do segundo produtor.

A contaminação por coliformes a 45°C indica possível presença de material fecal, já que *Escherichia coli*, principal componente desse grupo, é habitante do trato gastrointestinal de animais de sangue quente (Jay, Loessner e Golden, 2005). Queijo Minas artesanal da Serra da Canastra, queijo de coalho artesanal e queijos artesanais em Minas Gerais também apresentaram resultados semelhantes quanto às altas contagens de coliformes (Martins, 2006; Guedes Neto, 2008; Ferreira, Spini, Carrazza *et al.*, 2011). Resultado discrepante foi visto em queijos artesanais da Irlanda e queijo Pecorino, em que não houve presença desses micro-organismos indicadores nas amostras analisadas (Randazzo *et al.*, 2008; O'Brien, Hunt, McSweeney *et al.*, 2009).

Como foram encontradas contagens menores de coliformes totais e termotolerantes em água, pingo e leite em comparação àquelas nos queijos, principalmente no período das chuvas, pode-se sugerir que o problema está na contaminação durante a elaboração e, principalmente, no pós-processamento/maturação. Se a contagem desses micro-organismos fosse semelhante nas amostras de água, leite e pingo e nas de queijo, a fonte de contaminação poderia estar relacionada a essas matérias-primas.

A presença de bactérias do gênero *Staphylococcus* no queijo produzido na seca pode ser explicada inicialmente pela contaminação do soro-fermento, cujas contagens ultrapassaram valores de $7,3 \times 10^4$

UFC/mL. Assim, a alta carga bacteriana do pingo foi transferida para o produto final.

A grande contaminação no período de verão não veio do soro-fermento, da água e do leite, que mantiveram contagens baixas no período das chuvas. Assim, é provável que a principal causa de *Staphylococcus* coagulase positivo na massa e no queijo desse período seja a manipulação durante sua elaboração e maturação. Em pesquisa desses micro-organismos em mãos, narina e garganta de manipuladores dos queijos (dados não publicados), os resultados sugeriram alta contagem dessa bactéria em manipuladores de uma das propriedades estudadas. Essa queijaria foi responsável pela alta da média de *Staphylococcus* coagulase positivo no período das águas. Portanto, a variação entre os resultados nos períodos de seca e chuvas ($P < 0,05$) pode ser explicada por maior população desses micro-organismos durante a maturação do queijo no verão.

Queijos com altas contagens de *Staphylococcus*, como presentes na tabela 11 foram vistos em pesquisa com queijo coalho artesanal, queijos artesanais irlandeses e queijo Minas artesanal da Serra da Canastra (Guedes Neto, 2008; O'Brien, Hunt, McSweeney *et al.*, 2009; Resende, 2010).

Resultado semelhante quando em comparação dos períodos de produção foi visto em pesquisa com queijo Minas artesanal do Serro, em que a alta temperatura ambiente na época das chuvas foi determinada como a causa do aumento na contagem de *Staphylococcus* coagulase positivo (Martins, 2006). Queijo Minas artesanal da Serra da

Canastra, entretanto, apresentou resultados distintos, em que as contagens foram semelhantes em ambos os períodos estudados. Nesse trabalho, as diferenças ambientais nos dois períodos não foram apontadas como determinantes para a diferenciação na contagem (Dores, Dias, Arcuri *et al.*, 2013).

A alta contagem de *Staphylococcus coagulase* positivo é de grande preocupação, uma vez que não foi pesquisada a presença de enterotoxinas, responsáveis pelos quadros clínicos, nos queijos analisados. Para garantir a segurança de queijo Minas artesanal, portanto, faz-se necessária em pesquisas futuras a detecção dessas enterotoxinas.

Foi verificada ausência de *Salmonella* spp. em todas as amostras analisadas. Trabalhos com queijo Minas caseiro, queijo Minas artesanal da Serra da Canastra e queijo Tetilla (Menéndez, Godínez, Centeno *et al.*, 2001; Carvalho, Carvalho, Hofer *et al.*, 2009; Resende, 2010; Dores, Dias, Arcuri *et al.*, 2013) também apresentaram ausência desse micro-organismo em suas amostras. Resultados similares também foram encontrados em pesquisa com queijo Minas artesanal do Serro, com uso de metodologias diversas para detecção desse patógeno (Mata, 2009).

A presença de *Salmonella*, entretanto, já foi reportada em queijos feitos a partir de leite cru. Pesquisas com queijo Minas artesanal de Araxá e queijo Tulum, turco, relataram a presença do patógeno na matriz do produto (Araújo, 2004; Colak, Hampikyan, Bingol *et al.*, 2007).

A ausência de bactérias *Salmonella* nos queijos analisados vai ao encontro dos resultados microbiológicos de leite cru e de soro-fermento, em que também não houve detecção desses micro-organismos. A atividade antagonista de BAL contra *Salmonella* pode explicar sua ausência nessas amostras, assim como cuidados com a contaminação cruzada durante todo o processamento (Ellis, Preston, Borczyk *et al.*, 1998). Altas contagens de BAL, como vistas na tabela 11, são capazes de produzir ácido láctico e outros compostos, como bacteriocinas, eficazes na eliminação de *Salmonella* e outros patógenos em queijos (Perin, Moraes, Viçosa *et al.*, 2012).

As bactérias ácido-láticas foram os micro-organismos predominantes no queijo Minas artesanal do Campo das Vertentes e suas contagens, tanto em ágar MRS quanto em ágar M17, foram superiores ($P < 0,05$) no período da seca quando em comparação com o período das chuvas. Portanto, as chuvas que ocorreram no período da seca (figuras 5 e 6) não foram determinantes para igualar as médias nas contagens de bactérias ácido-láticas nas duas estações. Possivelmente não houve influência das matérias-primas leite e soro-fermento no aumento da contagem de BAL em queijo no inverno, uma vez que ambas apresentaram contagens semelhantes nos dois períodos estudados. Também não houve diferença na elaboração do produto, como diminuição da quantidade de pingo ou menor tempo entre a ordenha e a elaboração do queijo.

A diminuição da contagem de BAL nas chuvas poderia ser explicada, portanto, pelo

alto número mais provável de coliformes a 30°C e a 45°C, micro-organismos também capazes de utilizar lactose para fermentação. Assim, houve competição por nutrientes na matriz do queijo, resultando na queda das médias de BAL no verão. Essas bactérias, entretanto, continuaram dominando a microbiota do produto.

Médias semelhantes de contagens de bactérias ácido-láticas em queijos feitos a partir de leite cru foram encontradas em queijo Tetilla e queijo Minas artesanal da Serra da Canastra (Menéndez, Godínez, Centeno *et al.*, 2001; Resende, Costa, Andrade *et al.*, 2011).

A presença de bolores e leveduras no queijo artesanal do Campo das Vertentes é esperada, uma vez que produtos maturados em ambientes não controlados podem sofrer esse tipo de contaminação. Os próprios queijos, quando analisados a olho nu, apresentavam fungos em crescimento em suas cascas. Não há padrão para esses micro-organismos na legislação. Contagens semelhantes de bolores e leveduras foram encontradas em queijo Minas artesanal da Serra da Canastra (Borelli, Ferreira, Lacerda *et al.*, 2006b).

Resultado contrastante foi visto em queijo Serrano maturado no verão, mas semelhante quanto à média no inverno (Souza, Rosa e Ayub, 2003).

Os altos valores de coeficientes de variação nas contagens de micro-organismos em queijo Minas artesanal podem ser explicados pela diversidade de produção dos queijos, mesmo dentro de um grupo pequeno, como

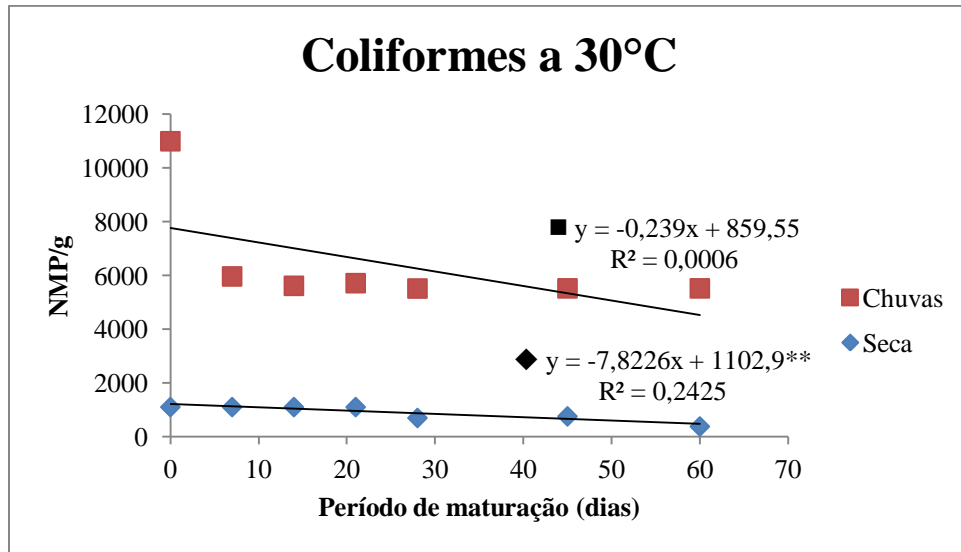
no presente estudo. Ainda que se trate de um mesmo produto, a microbiota do leite e soro-fermento, a pressão exercida durante a espremedura, o volume de soro expulso e a concentração de coalho e sal adicionados podem diferir entre cada produtor, resultando em queijo Minas artesanal com características microbiológicas próprias.

4.5.2. Diferenças microbiológicas em queijo Minas artesanal durante a maturação

O desenvolvimento dos grupos de micro-organismos foi monitorado durante a maturação e nas épocas de seca e chuvas. Os resultados obtidos a partir dessas contagens encontram-se nos itens a seguir. As médias desses parâmetros microbiológicos de qualidade nos períodos de seca e chuva encontram-se no anexo 2.

4.5.2.1. Coliformes a 30°C e 45°C

Para coliformes a 30°C nos queijos pesquisados, o número mais provável se manteve estável durante as chuvas, mas reduziu ($P < 0,05$) no período de seca, durante a maturação. Número mais provável de coliformes a 45°C manteve-se estável ($P > 0,05$) durante a maturação em ambos os períodos pesquisados (figuras 7 e 8).



** Significativo pelo teste F ($P < 0,05$)

Figura 7. Evolução do Número Mais Provável (NMP) de coliformes a 30°C em queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG durante a maturação

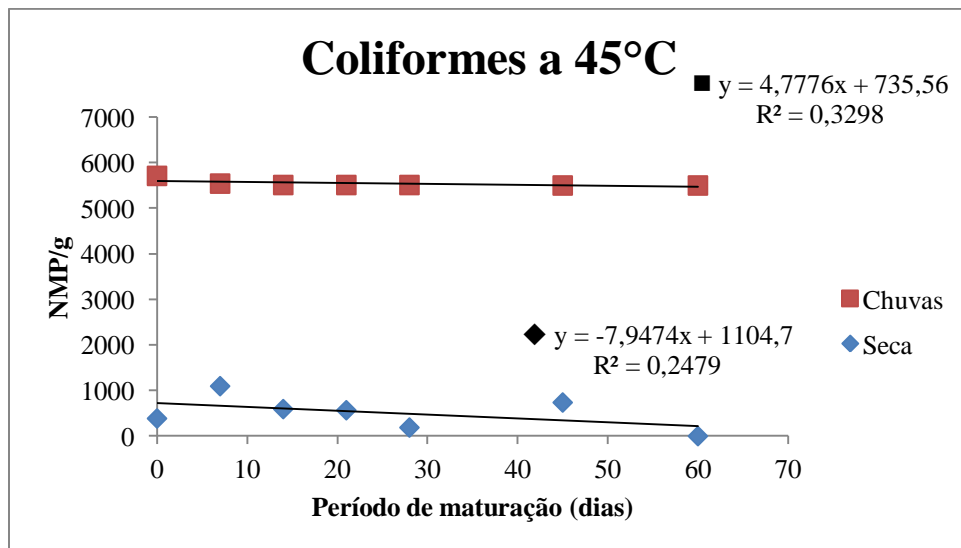


Figura 8. Evolução do Número Mais Provável (NMP) de coliformes a 45°C em queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG durante a maturação

A queda de coliformes a 30°C durante a maturação no período da seca indicou ausência de recontaminação no queijo após processamento, além da provável ação das bactérias ácido-láticas e dos compostos químicos presentes nos queijos. Entretanto, a mesma evolução negativa não foi acompanhada para NMP de coliformes a 45°C do mesmo período. A fonte da contaminação dos coliformes termotolerantes, por sua vez, continuou atuando sobre os queijos em maturação. Outro fator a ser considerado é que tais coliformes possivelmente foram mais resistentes quanto à presença de BAL e outros fatores, como acidez, e, assim, permaneceram na matriz do produto.

Ainda que a presença de bactérias ácido-láticas e as modificações nos parâmetros físico-químicos possam influenciar negativamente a contagem de micro-organismos indesejáveis, principalmente em contagens não elevadas, existem outros fatores que também regulam a presença de coliformes em queijo Minas artesanal (Souza, Rosa e Ayub, 2003).

Um dos fatores determinantes para a manutenção dessas contagens foi a pós-contaminação sofrida por queijos em maturação em uma das propriedades estudadas, o que elevou a média geral de NMP de coliformes a 30°C e a 45°C. No período da seca, houve redistribuição dos queijos nas prateleiras da sala de maturação,

com a colocação dos queijos frescos em níveis superiores àqueles mais maturados. Dessa forma, houve dessoramento do produto mais recente sobre os mais antigos, recontaminando o lote anterior. Na época das chuvas, uma das telas de proteção das janelas da queijaria foi danificada. Houve então entrada de moscas no recinto e deposição de ovos nos produtos, o que resultou em larvas nos queijos em maturação. Pesquisa com queijo Minas frescal artesanal já determinou que *Musca domestica* pode ser um vetor de micro-organismos patogênicos como coliformes e *Salmonella* spp., e que esses patógenos podem sobreviver no produto final (Cardozo, Barbieri, Moreno *et al.*, 2009).

Resultados discrepantes foram encontrados em queijos Minas artesanal do Serro e da Serra do Salitre com a evolução da maturação. A melhor qualidade microbiológica desses produtos pode estar relacionada à aplicação de boas práticas de produção durante toda a maturação (Martins, 2006; Lima, Cerqueira, Ferreira *et al.*, 2008).

4.5.2.2. *Staphylococcus* coagulase positivo

Não ocorreu diferença ($P > 0,05$) entre as médias das contagens de *Staphylococcus* coagulase positivo durante a maturação dos queijos, nos dois períodos estudados (figura 9). Os valores se mantiveram estáveis e variaram entre menor que 1×10^4 a $1,1 \times 10^5$ UFC/g. Tais valores estão acima daqueles determinados pela legislação estadual (Minas Gerais, 2002a).

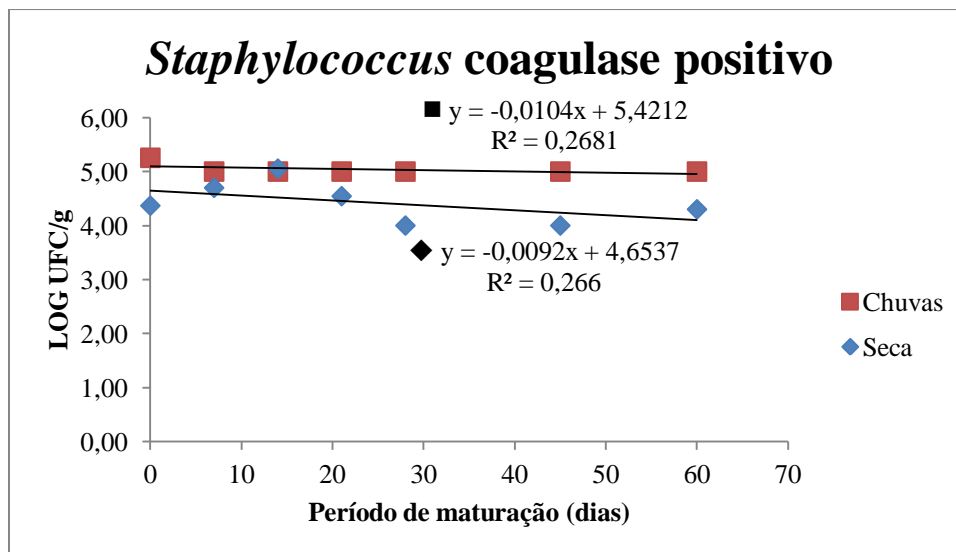


Figura 9. Evolução da contagem de *Staphylococcus* coagulase positivo em queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG durante a maturação

A contaminação inicial por bactérias do gênero *Staphylococcus* pode ocorrer por ejeção do leite já com o micro-organismo, problema comum em casos de animais com mastite. O excesso de manipulação durante a elaboração e a maturação do queijo também podem ser responsáveis pelas altas contagens em queijo (Viana, Oliveira, Carmo *et al.*, 2009).

Na produção do queijo Minas artesanal do presente trabalho, os produtores cadastrados relataram poucos casos de mastite no rebanho. Entretanto, quadros subclínicos dessa doença, evidenciados pelas altas CCS e associados com a manipulação frequente pós-elaboração, contribuíram para a contaminação e para a permanência desse micro-organismo no produto, durante a maturação.

Em queijo Montasio, da Itália, foram encontrados resultados semelhantes, mas com

contagens abaixo de 10^4 UFC/g e sem a diminuição significativa da contagem de *Staphylococcus* coagulase positivo durante a maturação (Marino, Maifreni, Rondinini, 2003).

Resultados similares, com contagens abaixo de 10^4 UFC/g, foram encontrados com pesquisa em queijo Minas artesanal do Salitre, queijo Minas artesanal da Serra da Canastra e queijo Ibore. Entretanto, a maturação alterou ($P < 0,05$) a contagem desses micro-organismos até o dia 30, quando deixaram de ser identificados no produto (González, Mas, Tabla *et al.*, 2003; Lima, Cerqueira, Ferreira *et al.*, 2008; Borelli, Lacerda, Brandão *et al.*, 2011; Dores, Nóbrega e Ferreira, 2013).

É importante salientar que a queda nas contagens de *Staphylococcus* coagulase positivo dos trabalhos pesquisados não verificada no experimento com queijo Minas

artesanal do Campo das Vertentes também poderia ser explicada pela pós-contaminação sofrida por queijos de um produtor da região durante a maturação. No período da seca, por um problema de espaço físico para acomodação dos queijos, e no período das chuvas, quando a tela da janela furou e permitiu a entrada de moscas, os produtos se recontaminaram e apresentaram contagens semelhantes àsquelas dos dias iniciais de maturação. Embora a contaminação de queijos por *Staphylococcus* coagulase positivo carregado por insetos não tenha sido descrita, moscas já foram reportadas como sendo responsáveis pela contaminação de leite cru pelos mesmos micro-organismos (Almeida, 2013). Ainda que os queijos dos outros produtores tenham apresentado contagens menores ao longo do período de maturação, as falhas desse produtor elevaram a média geral.

Outra característica importante, que merece atenção na pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positivo, é a capacidade de o micro-organismo coagulase negativo também produzir enterotoxinas. Os queijos analisados neste trabalho apresentam contagens inadequadas de *Staphylococcus* coagulase positivo, com valores que ultrapassam as legislações vigentes. Entretanto, esta informação não é suficiente para confirmar se o produto é ou não inócua para consumo. Faz-se necessária em estudos futuros, portanto, pesquisa de enterotoxina estafilocócica nesses produtos, em detrimento da contagem de células viáveis, para confirmar sua inocuidade.

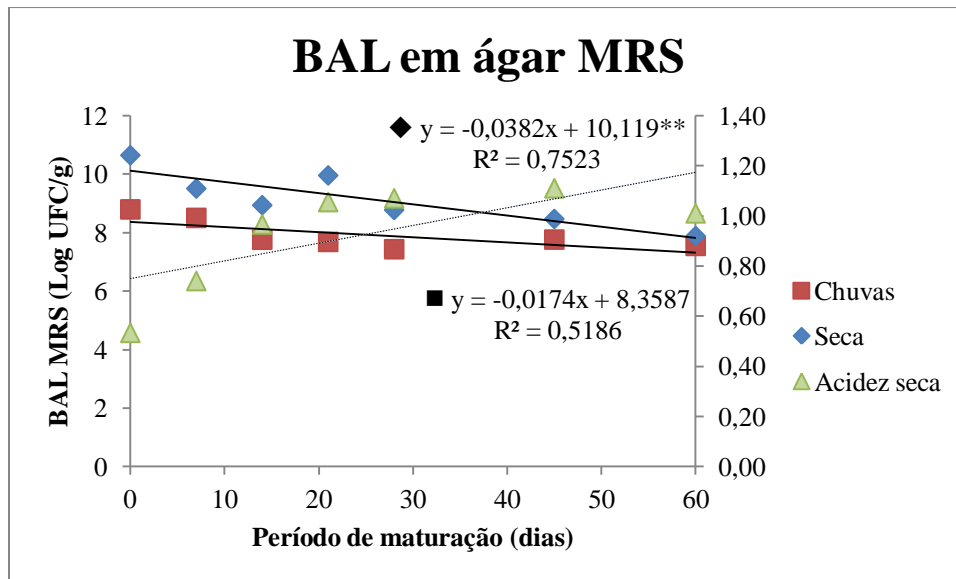
4.5.2.3. *Salmonella* spp.

A presença de *Salmonella* spp. não foi identificada nas amostras estudadas por todo o período de maturação. A ausência desses patógenos pode ser atribuída à adoção de boas práticas de fabricação, que minimizaram a contaminação cruzada. Outro fator que pode colaborar com a não presença de *Salmonella* spp. é a alta contagem de bactérias ácido-láticas presentes no queijo, que competem e inibem o patógeno.

4.5.2.4. Bactérias ácido-láticas

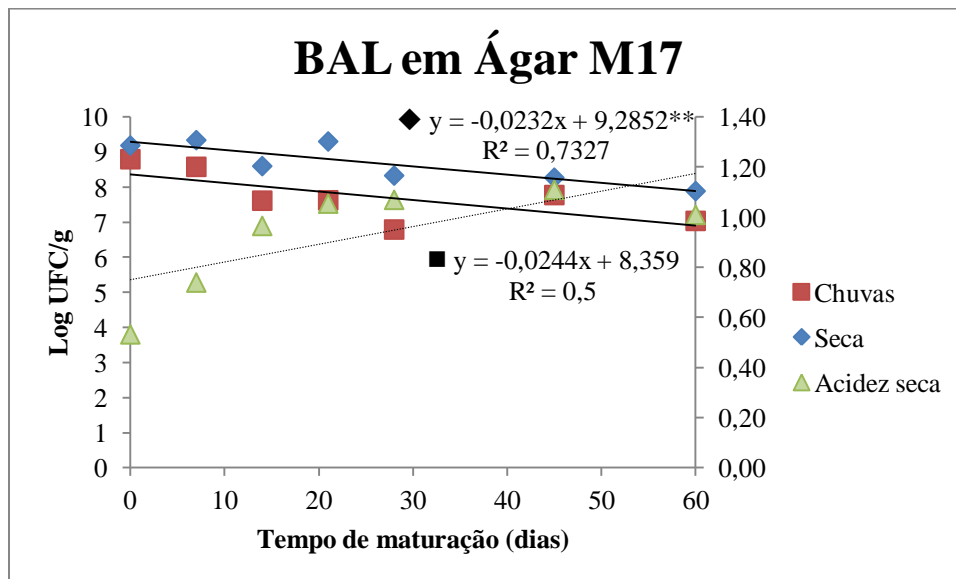
A evolução da contagem de bactérias ácido-láticas nos queijos, durante a maturação, pode ser observada nas figuras 10 e 11. Não houve diferença ($P > 0,05$) nas contagens de BAL durante a maturação na época de chuvas. Entretanto, no período seco, a contagem de BAL reduziu ao longo da maturação ($P < 0,05$). Os resultados foram similares para os dois meios estudados, ágar M17 e ágar MRS.

A queda ($P > 0,05$) da contagem de BAL durante a maturação no período da seca pode ser explicada pelo aumento da acidez titulável do queijo nos mesmos períodos. BAL, ainda que produtoras de ácido, podem, entretanto, sofrer com a alta da acidez do produto em que se encontram (Ouweland e Vesterlund, 2004). Além disso, sendo micro-organismos mesofílicos, o crescimento de BAL em temperaturas inferiores àsquelas ótimas, como no inverno, pode ser prejudicado. Assim, pode haver contagens menores durante a evolução da maturação.



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

Figura 10. Evolução da contagem de bactérias ácido-láticas em queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG durante a maturação (inoculação em ágar MRS)



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

Figura 11. Evolução da contagem de bactérias ácido-láticas em queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG durante a maturação (inoculação em ágar M17)

Em queijo Genestoso, espanhol, foi observado o mesmo comportamento de BAL em ágar M17 no período das chuvas. Entretanto, os resultados em ágar MRS, tanto na seca quanto nas chuvas, diferem dos vistos em queijo Minas artesanal do Campo das Vertentes (Arenas, Gonzáles, Bernardo *et al.*, 2004).

Em pesquisa com queijos Gouda, em meios M17 e MRS, verificou-se a diminuição da contagem de bactérias ácido-láticas durante o período de maturação, ainda que o período do ano não tenha sido determinado. Para tanto, os autores argumentam que variações podem ocorrer em cada lote, uma vez que queijos feitos a partir de leite cru são praticamente únicos (Hoorde, Heyndrickx, Vandamme *et al.*, 2010).

Contagem de bactérias ácido-láticas durante a maturação de queijo Ibore, com duração de 75 dias, indicou manutenção do valor inicial da contagem desses micro-organismos. As contagens também se assemelharam às encontradas no presente trabalho, com valores entre 10^7 a 10^9 UFC/g (González, Mas, Tabla *et al.*, 2003). Os mesmos resultados, com altas contagens de BAL, foram encontrados em queijo Fresco, mexicano, e queijo Pecorino, italiano (Torrez-Llanez *et al.*, 2006; Randazzo *et al.*, 2008).

É interessante apontar que as contagens de BAL nos queijos foram superiores às contagens em leite e soro-fermento, como já visto em outros trabalhos sobre queijo Minas artesanal. Com a concentração de sólidos na

massa do queijo e a expulsão de soro, assim como a multiplicação constante desses micro-organismos na massa, este resultado é esperado e reconhecido como um processo normal (Souza, Rosa e Ayub, 2003; Resende, 2010).

4.5.2.5. Bolores e leveduras

Não ocorreu diferença ($P > 0,05$) entre as médias das contagens de bolores e leveduras durante a maturação, nos dois períodos estudados (figura 12). Os valores se mantiveram estáveis e variaram entre $1,2 \times 10^4$ a $2,5 \times 10^6$ UFC/g no período seco e 1×10^5 a $4,7 \times 10^6$ UFC/g no período das chuvas.

Não há padrão legal que quantifique um limite máximo para esses micro-organismos em queijo Minas artesanal.

Contagens menores de bolores e leveduras foram encontradas em queijo Montasio e queijo Cotija e houve diferença estatística na contagem durante a maturação, com aumento das colônias de bolores e leveduras no produto, em desacordo com o visto no presente trabalho. Entretanto, em ambos a contagem de bolores e leveduras foi menor que a de BAL no decorrer da maturação. Para tanto, entende-se que há competição entre BAL e bolores e leveduras, e estes últimos encontram-se em desvantagem, já que necessitam de maior concentração de oxigênio para sobreviver. No queijo em maturação, com a compactação da matriz, há queda desse gás, o que resulta nas contagens encontradas (Marino, Maifreni, Rondinini, 2003; Magallón, Hernández e Zapata, 2011).

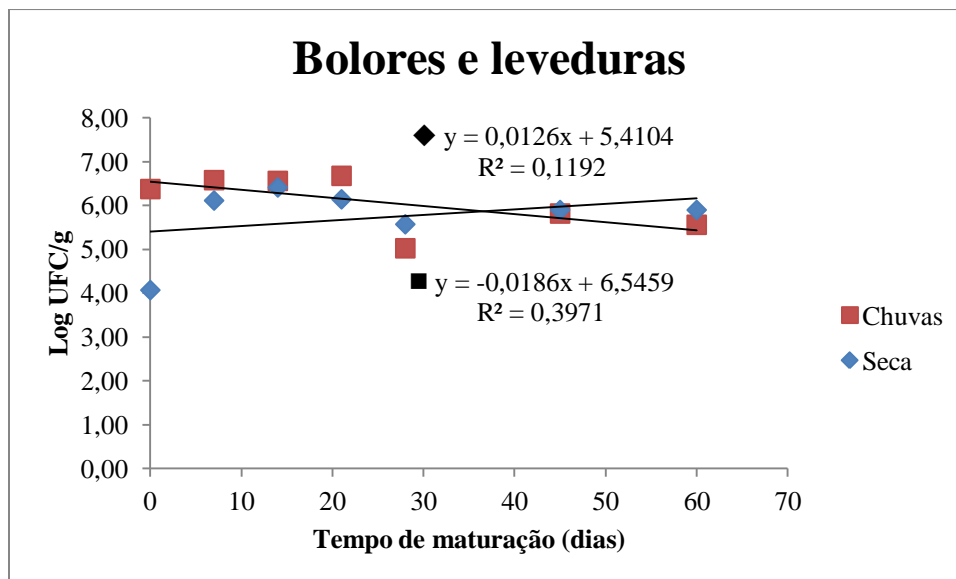


Figura 12. Evolução da contagem de bolores e leveduras em queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG durante a maturação

Em queijo Serrano, original do sul do Brasil, resultados semelhantes foram vistos no inverno, mas discrepantes no verão quando em comparação com o presente trabalho. As contagens de bolores e leveduras também permaneceram mais baixas que as relatadas no queijo Minas artesanal do Campo das Vertentes (Souza, Rosa e Ayub, 2003).

4.6. Qualidade físico-química de queijo Minas artesanal do Campo das Vertentes

Foram comparadas, para avaliação da qualidade físico-química do queijo Minas artesanal do Campo das Vertentes, as médias gerais dos períodos de produção (seca e chuvas) e, de forma isolada, a maturação nas

mesmas estações. Os resultados encontram-se nos itens abaixo. As médias desses parâmetros físico-químicos de qualidade nos períodos de seca e chuva encontram-se no anexo 3.

4.6.1. Diferenças físico-químicas em queijo Minas artesanal entre períodos de análise (seca e chuvas)

Não ocorreu diferença ($P > 0,05$) entre as médias dos parâmetros físico-químicos nos dois períodos estudados (tabela 13). Os valores se mantiveram estáveis e apresentaram coeficientes de variação baixos (informação pessoal).

Tabela 13. Resultados médios (x) e coeficientes de variação (CV) de parâmetros físico-químicos de queijo Minas artesanal de produtores cadastrados na região de Campo das Vertentes – MG

Período de análise	Seca		Chuvas	
	x	CV (%)	x	CV (%)
Extrato Seco Total (%)	60,55	16	63,17	12
Umidade (%)	39,45	24	36,83	20
Gordura (%)	32,82	23	38,51	15
Acidez titulável (%)	0,93	23	0,80	22
pH	-	-	5,36	2
Nitrogênio Total (%)	3,76	13	3,90	15

A variação dos índices de extrato seco total, umidade e gordura está relacionada a diversos fatores como técnicas de corte, dessoragem da massa e compactação durante a elaboração dos queijos. A temperatura e umidade ambientes também são responsáveis por dessecação do queijo e podem variar de acordo com a estação em que ele foi produzido. Por fim, a maturação exacerba os fatores iniciais e determina as características físico-químicas finais do queijo artesanal.

No caso deste estudo, em que os fatores ambientais se assemelharam nos períodos estudados, esperava-se uma similaridade entre os resultados físico-químicos de queijo Minas artesanal. Essa expectativa foi confirmada com os resultados vistos na tabela 12, em que ambos os períodos não apresentaram variação significativa dos valores.

Em queijo Minas artesanal do Campo das Vertentes, objeto deste trabalho, o tempo de maturação de 60 dias permitiu que as médias encontradas para extrato seco total, umidade e gordura se adequassem à legislação estadual (Minas Gerais, 2008) em ambos os períodos estudados.

Extrato seco total de queijo Minas artesanal da Serra da Canastra e requeijão do norte foram condizentes com os valores encontrados no presente trabalho (Ortolani, 2005; Viana, Oliveira, Carmo *et al.*, 2009). Queijos Tetilla e Corrientes, entretanto, apresentaram médias distintas para EST ao serem comparados com as médias encontradas neste estudo (Menéndez, Godínez, Centeno *et al.*, 2001; Vasek, Leblanc, Fusco *et al.*, 2008). Tal resultado é esperado, uma vez que são produtos com características diferentes do queijo Minas artesanal.

Assim como visto no presente trabalho, a produção de queijo no inverno ou no verão não determinou mudanças significativas nos teores de EST em queijo Manchego (Gaya, Sánchez, Nuñez *et al.*, 2005).

As médias de umidade dos períodos de seca e de chuvas se encontram nos padrões adequados quanto à umidade para o queijo Minas artesanal (tabela 13). A legislação determina máximo de 45,9%, enquanto as amostras variaram entre 36,83% a 39,45% nos períodos de chuvas e seca, respectivamente (Minas Gerais, 2008). Resultados semelhantes para teor de umidade

foram vistos em queijo Minas artesanal da Serra da Canastra e queijo Carra, da Turquia (Aygun, Aslantas e Oner, 2005; Ortolani, 2005).

Em pesquisa também com queijo Minas artesanal do Campo das Vertentes, as médias de umidade foram mais elevadas, contrariando os achados do presente trabalho. Resultados discrepantes também foram encontrados em queijo Serrano e estudos distintos de queijo Minas artesanal do Serro. Variações entre queijos Minas artesanais para o parâmetro de umidade podem ser encontradas, uma vez que, como produtos artesanais, dependem da forma de produção de cada local, além das características pedoclimáticas de suas regiões (Machado, Ferreira, Fonseca *et al.*, 2004; Mata, 2009; Oliveira, 2011; Delamare, Andrade, Mandelli *et al.*, 2012).

Quanto à variação em períodos de seca e chuvas, o teor de umidade em queijo Parmigiano-Reggiano foi condizente com as médias vistas na tabela 12 (Careri, Spagnoli, Panari *et al.*, 1996). Resultados em que a época do ano alterou os teores foram vistos em queijo Minas artesanal da Serra da Canastra. Tal diferença ocorreu pela grande variação de temperatura e umidade do ar entre seca e chuvas (Silva, Abreu, Magalhães *et al.*, 2011).

A porcentagem de gordura, entre 32,82% e 38,51% na seca e nas chuvas, respectivamente, classifica os queijos estudados como semi-gordos, de acordo com a legislação federal (Brasil, 1996a). Como houve pequena variação entre chuvas e

temperatura, o percentual de gordura permaneceu semelhante no produto final. As estações do ano também podem alterar a concentração de gordura no leite, o que poderia modificar esse parâmetro também no queijo estudado. Como não houve diferença entre os percentuais de gordura dos leites das estações de seca e de chuvas, tal fator não contribuiu para a mesma comparação no queijo.

Valores semelhantes foram encontrados em médias de gordura de queijo Minas artesanal da Serra da Canastra e requeijão do Norte, também feitos a partir de leite cru integral, não padronizado (Viana, Oliveira, Carmo *et al.*, 2009; Resende, 2010).

Queijo Minas artesanal da Serra da Canastra, queijo Serrano, queijo Fresco do México, queijo Galotyri, queijo Tetilla e queijo Caciocavallo Pugliese apresentaram resultados discrepantes daqueles encontrados no presente trabalho para teor de gordura. Tais valores podem ter sido resultado de leite com menor teor de gordura, além de menor concentração do mesmo componente por alta umidade dos queijos pesquisados (Menéndez, Godínez, Centeno *et al.*, 2001; Gobbetti, Morea, Baruzzi *et al.*, 2002; Torrez-Llanez *et al.*, 2006; Kondyli, Katsiari e Voutsinas, 2008; Costa Júnior *et al.*, 2009; Delamare, Andrade, Mandelli *et al.*, 2012).

Assim como visto no queijo Minas artesanal do campo das Vertentes, não houve diferença entre os períodos de produção seca e chuvas sobre a gordura em queijo Parmigiano-Reggiano (Careri, Spagnoli, Panari *et al.*, 1996). Resultado oposto foi visto em

pesquisa de queijos Minas artesanal da Serra da Canastra (Silva, Abreu, Magalhães *et al.*, 2011).

Para acidez titulável, valores médios semelhantes foram encontrados em queijo Minas artesanal do Serro, queijo Serrano, requeijão do norte e queijo Sepet (Souza, Rosa e Ayub, 2003; Martins, 2006; Viana, Oliveira, Carmo *et al.*, 2009; Ercan, Korel, Yuceer *et al.*, 2011). Resultados distintos de média para acidez titulável foram encontrados em queijo Minas artesanal do Serro, queijo Galotyri e queijo Corrientes (Machado, Ferreira, Fonseca *et al.*, 2004; Kondyli, Katsiari e Voutsinas, 2008; Vasek, Leblanc, Fusco *et al.*, 2008).

Quanto à não variação entre os períodos de seca e chuvas para acidez titulável, os resultados foram coerentes com pesquisas em queijo Minas artesanal do Serro e queijo Serrano (Souza, Rosa e Ayub, 2003; Martins, 2006).

Média para valores de pH semelhantes aos da tabela 12 foram encontrados em queijo Carra (Aygun, Aslantas e Oner, 2005). Resultados discrepantes foram encontrados em pH de queijo Minas artesanal também do Campo das Vertentes, queijo Minas artesanal do Serro e queijo Fresco mexicano (Mavhado *et al.*, 2004; Torrez-Llanez *et al.*, 2006; Oliveira, 2011).

Não foi possível comparar os períodos de seca e chuvas quanto ao valor de pH, por perda das amostras.

A semelhança ($P > 0,05$) de pH durante a maturação também foi vista em trabalhos

com queijo Minas artesanal do Serro (Pinto, Carvalho, Pires *et al.*, 2011). Resultados distintos foram vistos em queijo Minas artesanal da Serra da Canastra, queijo Serrano e queijo Ahumado de Ávila, em que houve diminuição de pH, e queijo Quesucos de Liébana, em que houve aumento do valor de pH (Pietro *et al.*, 2000; Franco, Prieto, Urdiales *et al.*, 2001; Souza, Rosa e Ayub, 2003; Dores, Dias, Arcuri *et al.*, 2013).

Resultados semelhantes de média para nitrogênio total foram encontrados em queijo Minas artesanal do Serro e da Serra da Canastra (Machado, Ferreira, Fonseca *et al.*, 2004; Resende, 2010). A comparação seca e chuvas, assim como no presente trabalho, não afetou a variação de nitrogênio total em queijo Parmigiano-Reggiano (Careri, Spagnoli, Panari *et al.*, 1996).

Os coeficientes de variação encontrados nas análises físico-químicas de queijo Minas artesanal são esperados para estudos biológicos (Sampaio, 2010). A comparação de CV entre os períodos de seca e chuvas para as características físico-químicas indicou resultados bastante similares, o que corrobora a semelhança e baixa variabilidade entre as amostras das duas estações.

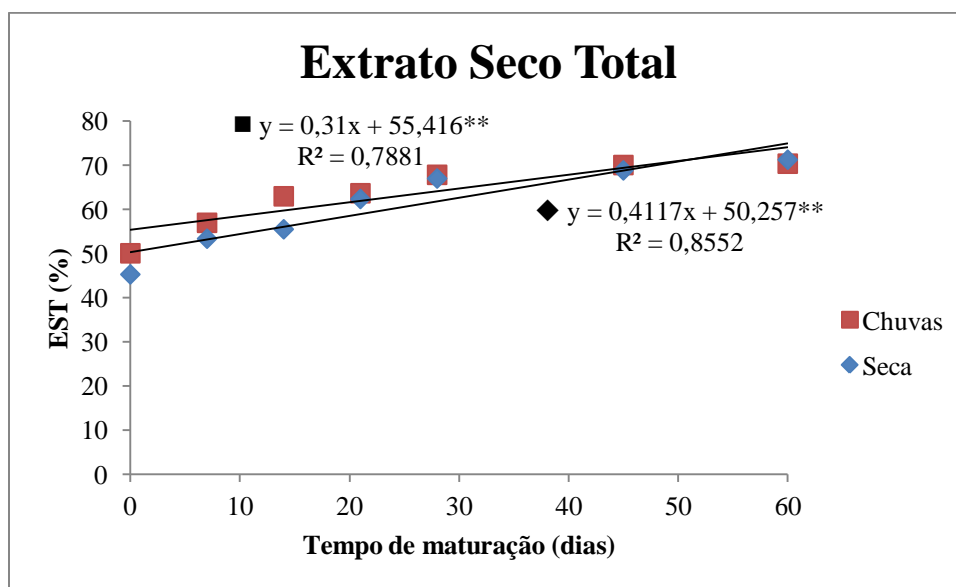
Ainda que a comparação com queijos de outras regiões e países seja importante para aumento de conhecimento, a identidade do queijo Minas artesanal é única para os parâmetros estudados. Assim, deve-se ater inicialmente à legislação vigente para adequação do objeto do estudo e utilização da literatura para entendimento maior da variedade de queijos presentes e da atuação

dos fatores analisados sobre as características de cada produto.

4.6.2. Diferenças físico-químicas em queijo Minas artesanal durante maturação

4.6.2.1. Extrato seco total

Houve diferença ($P < 0,05$) para teor de extrato seco total durante a maturação, em ambas as estações (figura 13).



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

Figura 13. Evolução do extrato seco total (%) em queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG durante a maturação

A evaporação sofrida pela água contida no queijo Minas artesanal resulta em concentração dos sólidos presentes no produto. Assim, há aumento nos teores de EST e gordura e queda no teor de umidade, a serem visualizados também nos itens seguintes.

Com a maturação em temperatura ambiente e sem controle de umidade e temperatura do recinto, a perda de água é acelerada. Em locais de clima tropical, como em Minas Gerais, ainda que as temperaturas e a

umidade relativa do ar sejam mais elevadas no verão, o inverno seco também pode causar grande evaporação da massa de queijos em maturação. Assim como no EST, as análises de umidade e gordura são afetadas de maneira semelhante. Portanto, as figuras 14 e 15, a serem vistas nos itens seguintes, também apresentam transformações significativas ($P < 0,05$) em seus valores.

Resultados semelhantes, em que o tempo de maturação influenciou o extrato seco total, foram vistos em queijos Urfa e branco, da

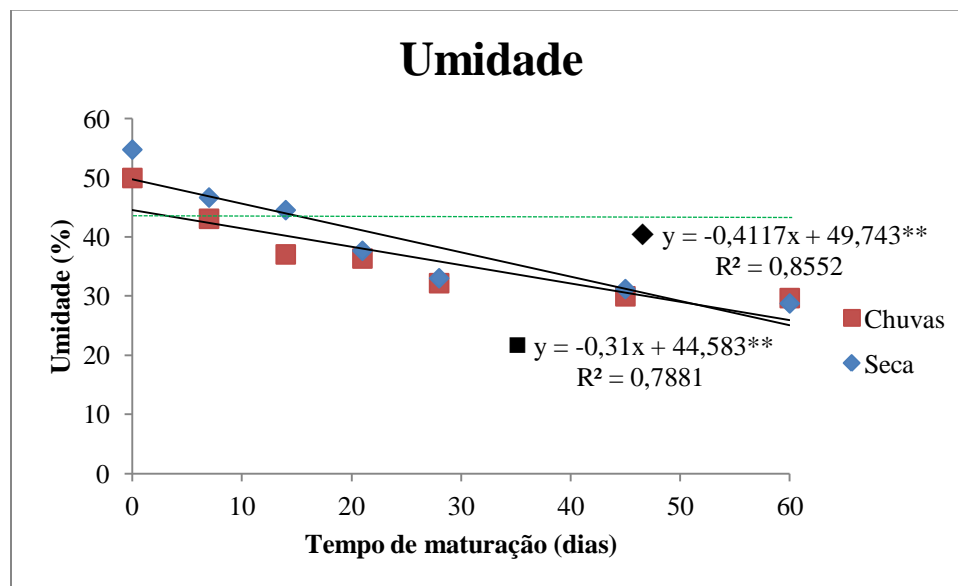
Turquia (Öner *et al.*, 2006; Atasoy, Yetismeyen, Turkoglu *et al.*, 2008). Ainda que esses queijos apresentem valores diferentes de EST, todos sofreram alterações similares àquelas vistas no presente trabalho. Isso se deve à forma de maturação dos produtos artesanais, com umidade e temperatura não controlados e com os queijos expostos ao ambiente.

Queijo Saint-Nectaire apresentou resultados discrepantes. Isso pode ocorrer, uma vez que a forma de maturação desse queijo é distinta da vista no Brasil. Dependendo da identidade, queijos artesanais podem ser maturados em ambientes com baixa temperatura e alta umidade, como o Saint-Nectaire, o que diminui a variação de resultados ao longo desse estoque (Millet, Saubusse, Didiene *et al.*, 2006).

O aumento do EST e a queda da umidade não foram suficientes para que houvesse redução na contagem de micro-organismos potencialmente patogênicos (item 4.5.2.2) (coliformes termotolerantes e *Staphylococcus* coagulase positivo) nas amostras analisadas durante a maturação. Ainda que a baixa umidade seja importante na eliminação desses micro-organismos, por permitir um ambiente hostil a eles, a recontaminação durante a maturação foi suficiente para manter o queijo constantemente contaminado.

4.6.2.2. Umidade

O teor de umidade em queijo Minas artesanal do Campo das Vertentes apresentou diferença ($P < 0,05$) durante a maturação, em ambas as estações (figura 14).



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

Figura 14. Evolução da umidade (%) em queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG durante a maturação

As amostras de queijo Minas artesanal iniciaram o período de maturação, no dia um, com umidade superior a 45,9%, padrão definido pela legislação estadual (Minas Gerais, 2008). Entretanto, entre 10 e 15 dias em maturação, as amostras se enquadraram nos padrões legais.

Assim como a concentração de sólidos totais, a perda de umidade do queijo durante a maturação é definida por fatores ambientais, mas também por características intrínsecas do queijo. O tamanho da peça é determinante para a rapidez dessa perda, uma vez que aquelas maiores concentram umidade em seu interior por um período maior de tempo (Martins, 2006).

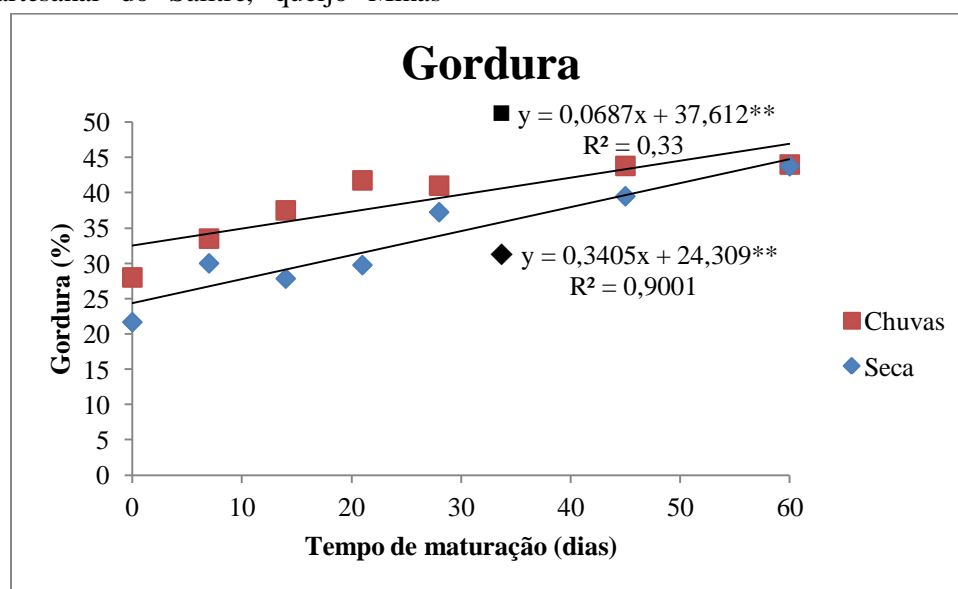
Estudos durante a maturação em queijo Minas artesanal do Salitre, queijo Minas

artesanal do Serro e queijo Peñamellera demonstraram resultados condizentes com os vistos na figura 14 (Estepar, Sánchez, Alonso *et al.*, 1999; Lima, Cerqueira, Ferreira *et al.*, 2008; Pinto, Carvalho, Pires *et al.*, 2011).

Resultados discrepantes foram vistos em maturação de queijo Minas artesanal do Serro e queijo Saint-Nectaire (Millet, Saubusse, Didiene *et al.*, 2006; Mata, 2009).

4.6.2.3. Gordura

Houve diferença ($P < 0,05$) para teor de gordura durante a maturação, em ambas as estações, em queijo Minas artesanal do Campo das Vertentes (figura 15).



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

Figura 15. Evolução do teor de gordura (%) em queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG durante a maturação

O aumento de concentração de gordura ocorre devido à perda de umidade, que permite maiores valores de sólidos totais. Resultados semelhantes foram vistos em queijo Minas artesanal do Serro, queijo Castelmagno e queijo Peñamellera (Estepar, Sánchez, Alonso *et al.*, 1999; Bertolino, Dolci, Giordano *et al.*, 2011; Pinto, Carvalho, Pires *et al.*, 2011).

Resultado contrastante foi visto em queijo Quesucos de Liébana, que apresentou teores constantes de gordura por toda a maturação. Segundo os autores, as amostras permaneceram em ambiente com

temperaturas entre 8 e 12°C e umidade relativa do ar de 85 a 95%, o que provocou baixa desidratação. Assim, não houve concentração de gordura na matriz do queijo (Prieto, Urdiales, Franco *et al.*, 2000). Condições diferentes de maturação são vistas em Minas Gerais e permitem maior dessecação do queijo Minas artesanal.

4.6.2.4. Acidez titulável

Não ocorreu diferença ($P > 0,05$) no cálculo de acidez titulável (porcentagem de ácido láctico) durante a maturação, nos dois períodos estudados (figura 16).

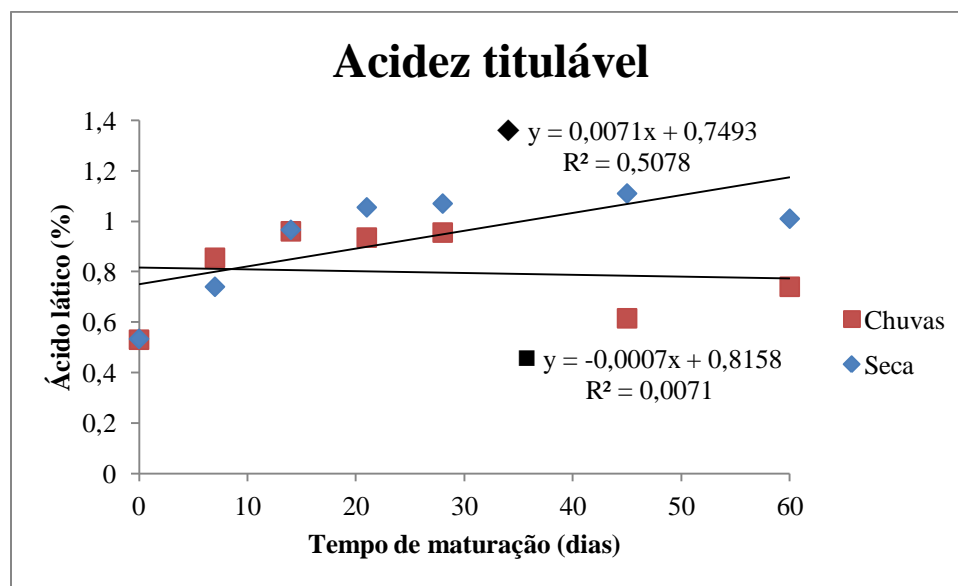


Figura 16. Evolução da acidez titulável (% de ácido láctico) em queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG durante a maturação

Semelhanças no teor de ácido láctico durante a maturação também foram vistos em trabalhos com queijo Minas artesanal do Serro e queijo branco da Turquia (Öner *et al.*, 2006; Mata, 2009).

Resultado distinto pode ser visto em pesquisa com queijo Serrano, quando a maturação afetou de forma significativa o teor de ácido láctico nas amostras (Souza, Rosa e Ayub, 2003). Resultados distintos também foram

encontrados em queijo Sepet (Ercan, Korel, Yuceer *et al.*, 2011).

4.6.2.5. pH

Não ocorreu diferença ($P > 0,05$) no pH das amostras de queijo Minas artesanal durante a maturação no período das chuvas, como visto na figura 17. Não houve medição do pH durante o período da seca por perda das amostras do experimento. Ainda que ocorra acidificação inicial da matriz do queijo pela ação de bactérias ácido-láticas, ao longo da maturação ocorre degradação de proteínas pela presença de proteases naturais do leite e das próprias BAL. Outro fator microbiológico que estabiliza o valor do pH é a presença de bolores e leveduras, que utilizam o ácido láctico para ganho energético (Jensen, Blanc e Patton, 1995; Pinto, Carvalho, Pires *et al.*, 2011). Esses fenômenos são observados em

produtos feitos a partir de leite cru com altas contagens de células somáticas, BAL e bolores e leveduras, como ocorrido no presente trabalho. Assim, não houve variação excessiva de pH durante a maturação (figura 17).

Resultados semelhantes, sem variação do valor de pH durante a maturação, foram encontrados em estudos com queijo Minas artesanal do Serro (Pinto, Carvalho, Pires *et al.*, 2011).

Em estudos com queijo Minas artesanal Serra da Canastra, queijo Serrano e queijo Quesucos de Liébana, em contraste com o observado acima, houve variação do pH durante a evolução da maturação (Prieto, Urdiales, Franco *et al.*, 2000; Souza, Rosa e Ayub, 2003; Dores, Dias, Arcuri *et al.*, 2013).

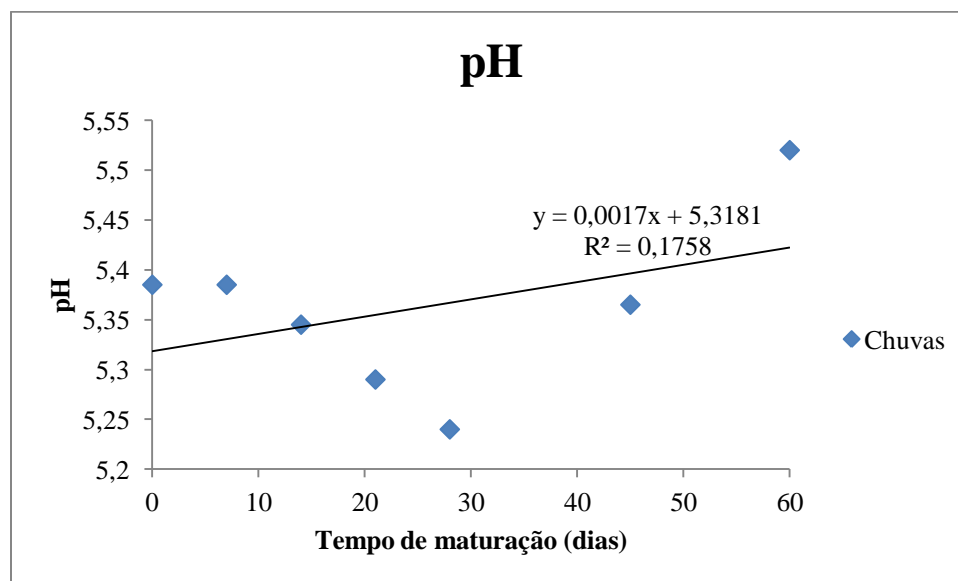


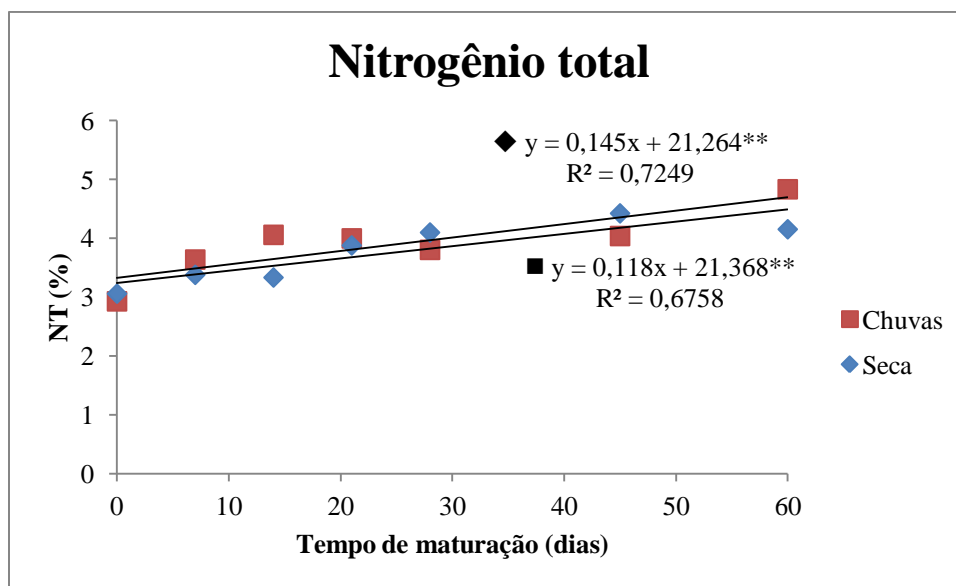
Figura 17. Evolução do pH em queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG durante a maturação

Em queijo Quesucos de Liébana, contradizendo os trabalhos relatados acima, a maturação determinou aumento de pH. Os autores sugeriram que houve baixo consumo de lactose para fermentação em ácido lático, provavelmente pelas cepas de BAL presentes. Assim, os queijos analisados ainda apresentam esse carboidrato mesmo após 60 dias de maturação, associado a uma degradação moderada de proteínas, fator importante para o aumento do pH (Pietro *et al.*, 2000).

4.6.2.6. Nitrogênio total

Houve diferença ($P < 0,05$) para teor de nitrogênio total durante a maturação, em ambas as estações, em queijo Minas artesanal do Campo das Vertentes (figura 18).

A maturação determinou aumento na concentração de nitrogênio total em ambos os períodos estudados. Ainda que ocorra proteólise nos queijos em maturação, esse processo pode ser considerado como de baixa intensidade e extensão. Assim, com a baixa proteólise e com a desidratação causada pela evaporação de água do queijo, os valores de NT se alteram de forma positiva ao longo do período nas queijarias.



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

Figura 18. Evolução do teor de nitrogênio total (%) em queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG durante a maturação

Resultados semelhantes aos encontrados no queijo Minas artesanal do Campo das Vertentes foram vistos em queijo Minas artesanal do Serro, Quesucos de Liébana e queijo prato artesanal (Prieto, Urdiales, Franco *et al.*, 2000; Gorostiza, Cichoscki, Valduga *et al.*, 2004; Martins, 2006).

Contradizendo o gráfico acima, maturação em queijo Urfa determinou queda significativa na concentração de nitrogênio total. Segundo o autor, o decréscimo ocorreu pela proteólise sofrida no queijo, que transformou o nitrogênio em compostos voláteis (Atasoy, Yetismeyen, Turkoglu *et al.*, 2008).

5. CONCLUSÕES

Os queijos analisados foram caracterizados como queijo Minas artesanal do Campo das Vertentes, de média umidade e semi-gordos em ambas as estações estudadas.

As populações de micro-organismos dominantes no produto foram bactérias ácido-láticas, *Staphylococcus* coagulase positivo e coliformes totais e termotolerantes.

Quanto a *Staphylococcus* coagulase positivo, a inocuidade do produto não foi conclusiva, visto que não foram pesquisadas enterotoxinas na massa do queijo Minas artesanal. Também não foram pesquisados genes codificantes para as mesmas toxinas.

Os períodos de chuvas e seca não alteraram os parâmetros microbiológicos analisados em água, soro-fermento e leite cru, assim como os parâmetros físico-químicos de leite cru e queijo Minas artesanal. Entretanto, foram

responsáveis por diferenças nos parâmetros microbiológicos de qualidade em queijo Minas artesanal do Campo das Vertentes.

A maturação atuou sobre padrões físico-químicos de queijo Minas artesanal do Campo das Vertentes e o adequou às legislações vigentes entre os dias dez e quinze. Nas análises microbiológicas, ao contrário do esperado, a maturação não determinou mudanças significativas na contagem de micro-organismos.

O tempo recomendado de maturação para adequação do queijo Minas artesanal à legislação estadual vigente variou de acordo com a queijaria cadastrada e o período de produção (secas ou chuvas). No período da seca, os tempos mínimos para adequação aos parâmetros microbiológicos foram de sete a 45 dias, dependendo da propriedade analisada. No período das chuvas, o tempo mínimo de maturação foi de sete em queijos de uma propriedade, enquanto que na outra, o tempo máximo de maturação estudado, de 60 dias, não foi capaz de diminuir as contagens de coliformes totais e termotolerantes. Assim, até essa data, o produto continuou impróprio para consumo.

As análises microbiológicas de queijo Minas artesanal apresentaram grandes variações das amostras estudadas, indicando heterogeneidade das condições higiênico-sanitárias de elaboração e maturação entre os produtores cadastrados pelo IMA.

Ainda que a maturação seja um fator importantíssimo na proteção contra micro-organismos patogênicos, a elaboração com

matérias-primas com baixas contagens microbianas e os cuidados higiênico-sanitários durante a elaboração e na pós-produção são fundamentais para a adequação do produto às legislações vigentes e, principalmente, para a sua inocuidade.

6. PERSPECTIVAS FUTURAS

Última região a ser identificada oficialmente como produtora de queijo Minas artesanal, o Campo das Vertentes precisa de maior número de estudos que caracterizem o queijo e sua elaboração. Com poucos produtores cadastrados no IMA, mas com ampla produção não oficial, deve-se estimular o aumento do conhecimento sobre o queijo da região e, principalmente, incentivar sua produção legal.

É importante salientar que, enquanto as informações finais tendem a ficar no âmbito acadêmico, a função de extensão da pesquisa não pode ser negada. Assim, o retorno frequente à região, sempre em contato com os produtores, é de extrema importância, uma vez que os dados coletados indicam melhorias a serem adotadas.

Atendendo à demanda de produtores e consumidores, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento permitiu a venda de queijo feito a partir de leite cru, com um período de maturação inferior a 60 dias. Entre as condições estipuladas, está a realização de estudos científicos que comprovem a inocuidade do produto antes desse prazo. Assim, pesquisas como a presente não só caracterizam o produto, mas permitem

tomadas de decisões quanto à sua adequação e possibilitam sua melhoria contínua.

Os micro-organismos desejáveis coletados e armazenados em banco de BAL do DTIPOA da EV-UFGM permitem sua preservação, com possibilidades futuras de uso em queijos ou como probióticos.

Por fim, esta pesquisa permitiu maior conhecimento da situação do queijo Minas artesanal de queijarias cadastradas do Campo das Vertentes - MG. Ela pode ser interpretada como um estudo preliminar, que poderá permitir a melhora desse produto artesanal.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, L. C. (Ed.). *Queijos no Brasil*. Juiz de Fora: EPAMIG, 1986. 162 p.

ALEGRÍA, A.; ÁLVAREZ-MARTÍN, P.; SACRISTÁN, N. *et al.* Diversity and evolution of the microbial populations during manufacture and ripening of Casín, a traditional Spanish, starter-free cheesemade from cow's milk. *International Journal of Food Microbiology*, v. 136, n. 1, p. 44-51, 2009.

ALEXANDRE, D. P.; SILVA, M. R.; SOUZA, M. R. *et al.* Atividade antimicrobiana de bactérias lácticas isoladas de queijo-de-minas artesanal do Serro (MG) frente a micro-organismos indicadores. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 54, n. 4, 2002.

ALICHANIDIS, E; POLYCHRONIADOU, A. Characteristics of major traditional regional cheeses varieties of East-

Mediterranean countries: a review. *Dairy Science and Technology*, v.88, p. 495-510, 2008.

ALICHANIDIS, E. What causes early and late gas blowing in white-brined cheese? In: MCSWEENEY, P. L. H. (Ed) *Cheese problems solved*. CRC Press: Boca Raton, 2007. p. 332-335.

ALMEIDA, E. F. L. Aspectos sociais da produção de leite no Brasil. In: MADALENA, F. E.; MATOS, L. L.; HOLANDA JÚNIOR, E. V. (Ed.). *Produção de leite e sociedade: uma análise crítica da cadeia de leite no Brasil*. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2001. 533 p.

ALMEIDA, J. L.. *Papel de dípteros muscóides como potenciais vetores de agentes bacterianos em fazendas de leite da região norte do Paraná*. 2013. 44 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente.

AMARAL, L. A.; ROSSI JÚNIOR, O. D.; NADER FILHO, A. *et al*. Ocorrência de *Staphylococcus* sp. em água utilizada em propriedades leiteiras do estado de São Paulo. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 55, n. 5, p. 620-623, 2003.

ARAÚJO, R. A. B. M. *Diagnóstico socioeconômico, cultural e avaliação dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos de queijo Minas artesanal da região de Araxá*. 2004. 136 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

ARAÚJO, T. F. *Caracterização e identificação de Enterococcus spp. isolados de fermento endógeno utilizado na fabricação do queijo Minas artesanal da região da Canastra, Minas Gerais*. 2008. 74 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

ARCURI, E. F.; SHEIKHA, A. F. E.; RYCHLIK, T. *et al*. Determination of cheese origin by using 16S rDNA fingerprinting of bacteria communities by PCR-DGGE: preliminary application to traditional Minas cheese. *Food Control*, v. 30, n. 1, p. 1-6, 2013.

ARENAS, R.; GONZÁLES, L.; BERNARDO, A. *et al*. Microbiological and physico-chemical changes in Genestoso cheese, a Spanish acid curd variety, throughout ripening. *Food Control*, v. 15, n. 4, p. 271-279, 2004.

ARFI, K.; LECLERQ-PERLAT, M. N.; BAUCHER, A. *et al*. Contribution of several cheese-ripening microbial associations to aroma compound production. *Le Lait*, v. 84, n. 5., p. 435-447, 2004.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE INDÚSTRIAS DE QUEIJO (ABIQ). Produção de queijos no Brasil deve ultrapassar 1,0 milhão de toneladas em 2013. Disponível em: <<http://www.scotconsultoria.com.br/noticias/artigos/28592/producao-de-queijos-no-brasil-deve-ultrapassar-10-milhao-de-toneladas-em-2013.htm>>. Acesso em: 02/12/2013.

- ATASOY, A. F.; YETISMEYEN, A.; TURKOGLU, H. *et al.* Effects of heat treatment and starter culture on the properties of traditional Urfa cheeses (a white-brined Turkish cheese) produced from bovine milk. *Food Control*, v. 19, n. 3., p. 278-285, 2008.
- AYGUN, O.; ASLANTAS, O.; ONER, S. A survey on the microbiological quality of Carra, a traditional Turkish cheese. *Journal of Food Engineering*, v. 66, n. 3, p. 401-404, 2005.
- BANKS, J. M. How can cheese yield be predicted? In: MCSWEENEY, P. L. H. (Ed) *Cheese problems solved*. CRC Press: Boca Raton, 2007. p. 105-106.
- BARBOSA, W. A. *A decadência das minas e a fuga da mineração*. Belo Horizonte: Imprensa da UFMG, 1971. 264 p.
- BENTLEY INSTRUMENT INC. Bactocount 150 Operator's Manual. Chaska: Bentley Instruments Inc.; 2002. 49p.
- BENTLEY INSTRUMENT INC. SomaCount 300 Operator's Manual. Chaska: Bentley Instruments Inc.; 1997. 116p.
- BERESFORD, T. P.; FITZSIMONS, N. A.; BRENNAN, N. L. *et al.* Recent advances in cheese microbiology. *International Dairy Journal*, v. 11, n. 4-7, p. 259-274, 2001.
- BERTOLINO, M.; DOLCI, P.; GIORDANO, M. *et al.* Evolution of chemico-physical characteristics during manufacturing and ripening of Castelmagno cheese in wintertime. *Food Chemistry*, v. 129, n. 3, p. 1001-1011, 2011.
- BERTONI, G.; CALAMARI, L.; MAIANTI, M. G. Producing specific milks for speciality cheeses. *Proceedings of the Nutrition Society*, v. 60, n. 2, p. 231-46, 2001.
- BERTOZZI, L.; PANARI, G. Cheeses with appellation d'origine contrôlée (AOC): factors that affect quality. *International Dairy Journal*, v. 3, n. 4-6, p. 297-312, 1993.
- BORELLI, B. M.; FERREIRA, E. G.; LACERDA, I. C. A. *et al.* Enterotoxigenic *Staphylococcus* spp. and other microbial contaminants during production of Canastra cheese. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 37, n. 4, p. 545-550, 2006a.
- BORELLI, B. M.; LACERDA, I. C. A.; BRANDÃO, C. R. *et al.* Identification of *Staphylococcus* spp. isolated during the ripening process of a traditional Minas cheese. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 63, n. 2, p. 481-487, 2011.
- BORELLI, B. M.; FERREIRA, E. G.; LACERDA, I. C. A. *et al.* Yeast populations associated with the artisanal cheese produced in the region of Serra da Canastra, Brazil. *World Journal of Microbiology Biotechnology*, v. 22, n. 11, p. 1115-1119, 2006b.
- BOUAMRA-MECHEMACHE, Z.; CHAABAN, J. Determinants of adoption of protected designation of origin label: evidence from the French brie cheese industry. *Journal of Agricultural Economics*, v. 61, n. 2, p. 225-269, 2010.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC n° 12 de 02 de janeiro de 2001. *Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos*. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2001. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/legis/resol/_12_01r dc.html>. Acesso em 13 de novembro de 2013.

BRASIL. Constituição. Constituição da República Federativa do Brasil. Brasília, 1988.

BRASIL. Decreto n. 3.551. 04 ago. 2000. Institui registro de bens culturais de natureza imaterial. Brasília, 2000b.

BRASIL. Decreto n. 5.741. 30 mar. 2006. Regulamenta artigos da Lei 8.171 e organiza o SUASA. Brasília, 2006a.

BRASIL. Lei n. 9.279. 14 mai. 1996. Regula direitos e obrigações relativos à propriedade industrial. Brasília, 1996b.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Gabinete do Ministro. Portaria n° 46 de 10 fev. 1998. Institui o APPCC em indústrias de POA. Brasília, 1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa n° 30 de 07/08/2013. Permite que os queijos feitos a partir de leite cru sejam maturados por um período inferior a 60 dias. Brasília, 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa

Agropecuária. Instrução Normativa n° 36 de 20/07/2011. Estabelece requisitos para adesão ao SUASA. Brasília, 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa n° 62 de 26/08/2003. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Brasília, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa n° 68 de 12/12/2006. Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos para Controle de Leite e Produtos Lácteos. Brasília, 2006b.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria n° 146 de 07 mar. 1996. Regulamento técnico de identidade e qualidade de produtos lácteos. Brasília, 1996a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Aprovado pelo decreto n° 30690, de 20 de março de 1952. Brasília, 1952.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Resolução n. 7 de 28/11/2000. Critérios de funcionamento e de controle da produção de queijarias. Brasília, 2000a.

BUNBURY, C. J. F. *Viagem de um naturalista inglês ao Rio de Janeiro e Minas*

- Gerais. Belo Horizonte: Editora Itatiaia, 1981. 123 p.
- CARDOZO, G. M. B. Q.; BARBIERI, M. K.; MORENO, I. *et al.* Musca domestica L. como vetor de micro-organismos patogênicos para queijo Minas frescal ultrafiltrado. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 12, n. 2, p. 85-91, 2009.
- CARERI, M.; SPAGNOLI, S.; PANARI, G. *et al.* Chemical parameters of the non-volatile fraction of ripened Parmigiano-Reggiano cheese. *International Dairy Journal*, v. 6, n. 2, p. 147-155, 1996.
- CARMO, L. S.; CUMMINGS, C.; LINARDI, V. R. *et al.* A case study of a massive staphylococcal food poisoning incident. *Foodborne pathogens and disease*, v. 1, n. 4, p. 241-248, 2004.
- CARMO, L. S.; DIAS, R. S.; LINARDI, V. R. *et al.* Food poisoning due to enterotoxigenic strains of *Staphylococcus* present in Minas cheese and raw milk in Brazil. *Food Microbiology*, v. 19, n. 1, p. 9-14, 2002.
- CARVALHO, P. L. N.; CARVALHO, P. R.; HOFER, E. *et al.* Research about *Listeria* sp. and *Salmonella* sp. and others contamination indicators to milk's and cheese's samples sale in the south of Minas Gerais state. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, v. 3, n. 4, p. 4422-4431, 2009.
- COLAK, H.; HAMPIKYAN, H.; BINGOL, E. B. *et al.* Prevalence of *L. monocytogenes* and *Salmonella* spp. in Tulum cheese. *Food Control*, v. 18, n. 5, p. 576-579, 2007.
- COSTA SOBRINHO, P. S.; FARIA, C. A. M.; PINHEIRO, J. S. *et al.* Bacteriological quality of raw milk used for production of a Brazilian farmstead raw cheese. *Foodborne Pathogens and Disease*, v. 9, n. 2, p. 138-144, 2012.
- COSTA JUNIOR, L. C. G.; COSTA, R. G. B.; MAGALHÃES, F. A. R. *et al.* Variações na composição de queijo Minas artesanal da Serra da Canastra nas quatro estações do ano. *Revista do Instituto Laticínios Cândido Tostes*, v. 371, n. 64, p. 13-20, 2009.
- DALBY, 2009. *Cheese: A global history*. Londres: Reaktion Books, 2009. 154 p.
- DEBRET, J. B. *Viagem pitoresca e histórica ao Brasil*. Belo Horizonte: Editora Itatiaia, 1978. 387 p.
- DELAMARE, A. P. L.; ANDRADE, C. C. P.; MANDELLI, F. *et al.* Microbiological, physico-chemical and sensorial characteristics of Serrano, an artisanal Brazilian cheese. *Food and Nutrition Sciences*, v. 3, n. 8, p. 1068-1075, 2012.
- DIAS, J. C. *500 Anos de Leite no Brasil*. São Paulo: Calandra Editorial, 2006. 147 p.
- DIXON, P. European systems for the safe production of raw milk cheese. A report presented to the Vermont Cheese Council, novembro 2000. Disponível em: http://www.dairyfoodsconsulting.com/pdf/EU_cheese_safety_report.pdf. Acesso em: 25 out. 2013.
- DORES, M. T.; DIAS, R. S.; ARCURI, E. F. *et al.* Enterotoxigenic potential of

Staphylococcus aureus isolated from artisan Minas cheese from the Serra da Canastra - MG, Brazil. *Food Science and Technology*, v. 33, n. 2, p. 271-275, 2013.

DORES, M. T.; NÓBREGA, J. E.; FERREIRA, C. L. 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.

ELLIS, A.; PRESTON, M.; BORCZYK, B. M. *et al.* A community outbreak of *Salmonella berta* associated with a soft cheese product. *Epidemiology and Infection*, v. 120, n. 1, p. 29-35, 1998.

EMPRESA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL DE MINAS GERAIS (EMATER). Queijo Minas Artesanal – Mapa do Queijo 2013. Disponível em: http://www.emater.mg.gov.br/portal.cgi?flag_web=site_pgn_downloads_vert&grupo=135&menu=59. Acesso em: 01 nov. 2013.

ERCAN, D.; KOREL, F.; YUCEER, Y. K. *et al.* Physicochemical, textural, volatile, and sensory profiles of traditional Sepet cheese. *Journal of Dairy Science*, v. 94, n. 9, p. 4300-4312, 2011.

ESTEPAR, J.; SÁNCHEZ, M. M.; ALONSO, L. *et al.* Biochemical and microbiological characterization of artisanal Peñamellera cheese: analysis of its indigenous lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, v. 9, n. 10, p. 737-746, 1999.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). Production –

Livestock Processed – Cheese: all kinds [2011]. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/search/CHEESE/E>. Acesso em: 04 nov. 2013.

FELÍCIO, B. A.; LEMPK, M. W.; PINTO, M. S. *et al.* Efeito in-vitro de nisina sobre pool de *Staphylococcus aureus* isolados de queijo Minas artesanal da região do Campo das Vertentes - MG. *Revista do Instituto Laticínios Cândido Tostes*, v. 68, n. 391, p. 19-23, 2013.

FERREIRA, R. M.; SPINI, J. C. M.; CARRAZZA, L. G. *et al.* Quantificação de coliformes fecais e termotolerantes em queijo Minas frescal artesanal. *Pubvet*, v. 5, n. 5, 2011.

FERNANDES, R. *Microbiology Handbook: Dairy Products*. Surrey: Leatherhead Publishing, 2009. 174 p.

FOX, P. F. *et al.* *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. 3. ed. Madison: Academic Press, 2004. 1070 p.

FRANCIOSI, E.; SETTANNI, L.; CAVAZZA, A. *et al.* Biodiversity and technological potential of wild lactic acid bacteria from raw cows' milk. *International Dairy Journal*, v. 19, n. 1, p. 3-11, 2009.

FRANCO, I.; PRIETO, B.; URDIALES, R. *et al.* Study of the biochemical changes during ripening of Ahumado de Áliva cheese: a Spanish traditional variety. *Food Chemistry*, v. 74, n. 4, p. 463-469, 2001.

- FREIREYSS, G. W. *Viagem ao Interior do Brasil*. Belo Horizonte: Itatiaia, 1982. 138 p.
- FRIEIRO, E. *Feijão, angu e couve*. Belo Horizonte: Editora Itatiaia, 1966. 279 p.
- GARABAL, J. I. Biodiversity and the survival of autochthonous fermented products. *International Microbiology*, v. 10, n. 1, p. 1-3, 2007.
- GATESOUBE, F. J. Updating the importance of lactic acid bacteria in fish farming: natural occurrence and probiotic treatments. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, v. 14, n. 1-3, p. 107-114, 2008.
- GAYA, P.; SANCHÉZ, C.; NUÑES, M. *et al.* Proteolysis during ripening of Manchego cheese made from raw or pasteurized ewes' milk. Seasonal variation. *Journal of Dairy Research*, v. 72, n. 3, p. 287-295, 2005.
- GIMENES, M. H. S. G. Patrimônio gastronômico, patrimônio turístico: uma reflexão introdutória sobre a valorização das comidas tradicionais pelo IPHAN e a atividade turística no Brasil. In: SEMINÁRIO DE PESQUISA EM TURISMO DO MERCOSUL, IV, 2006, Caxias do Sul. *Anais...* Caxias do Sul, Semitur, 2006.
- GOBBETTI, M.; MOREA, M.; BARUZZI, F. *et al.* Microbiological, compositional, biochemical and textural characterization of Caciocavallo Pugliese cheese during ripening. *International Dairy Journal*, v. 12, n. 6, p. 511-523, 2002.
- GOMES, A. L. A. *Registro dos queijos artesanais de Minas a serem inscritos no Livro dos Saberes*. Brasília: Ministério da Cultura, 2006. 17 p.
- GOMES, L. C.; VENTORINI, S. E. Mesorregião do Campo das Vertentes. In: Base Digital de Dados da Embrapa. 2010. Disponível em: <http://www.pibid.ufsj.edu.br/geografia/envia_dos/campos_das_vertente.JPG>. Acesso em: 17/11/2013.
- GONZÁLEZ, J.; MAS, M.; TABLA, R. *et al.* Autochthonous starter effect on the microbiological, physicochemical and sensorial characteristics of Ibore goat's milk cheeses. *Le Lait*, v. 83, p. 193-202, 2003.
- GOROSTIZA, A.; CICHOSKI, A. J.; VALDUGA, A. T. *et al.* Changes in soluble nitrogenous compounds, casein and free amino acids during ripening of artisanal prato cheese: a Brazilian semi-hard cows variety. *Food Chemistry*, v. 85, n. 3, p. 407-414, 2004.
- GRIMAUD, P.; SSERUNJOGI, M.; WESUTA, M. *et al.* Effects of season and agro-ecological zone on the microbial quality of raw milk along the various levels of the value chain in Uganda. *Tropical Animal Health Production*, v. 41, n. 6, p. 883-890, 2008.
- GUEDES NETO, L. G. *Caracterização da produção artesanal e industrial de queijo de coalho em Pernambuco, de sua microbiota e avaliação das propriedades de suas bactérias ácido-láticas*. 2008. 155 f. Tese (Doutorado em Veterinária) – Escola de Veterinária,

Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

GUEDES NETO, L. G. *Produção de queijo de coalho em Pernambuco: isolamento e identificação de Staphylococcus spp e de bactérias ácido-láticas e de sua atividade antagonista in vitro*. 2004. 94 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

GUINEE, T. P. Salting and the role of salt in cheese. *International Journal of Dairy Technology*, v. 57, n. 2-3, p. 99-109, 2004.

HANSEN, E. B. Commercial bacterial starter cultures for fermented foods of the future. *International Journal of Food Microbiology*, v. 78, n. 1-2, p. 119-131, 2002.

HAYES, M. C.; BOOR, K. Raw milk and fluid milk products. In: MARTH, E. H.; STEELE, J. L. (Ed) *Applied Dairy Microbiology*. Marcel Dekker: Nova York, 2001. p. 59-76.

HOORDE, K. V.; HEYNDRICKX, M.; VANDAMME, P. *et al.* Influence of pasteurization, brining conditions and production environment on the microbiota of artisan Gouda-type cheeses. *Food Microbiology*, v. 27, n. 3, p. 425-433, 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Censo Agropecuário 2006. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/2006/defaulttab_censoagro.shtm. Acesso em 05 nov. 2013.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Censo 2010a. Disponível em: <http://censo2010.ibge.gov.br/>. Acesso em 15 out. 2013.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Estado de Minas. Meso e microrregiões do IBGE. 2010b. Disponível em: <http://www.mg.gov.br/governomg/ecp/conten.ts.do?evento=conteudo&idConteudo=69547&chPlc=69547&termos=s&app=governomg&tax=0&taxp=5922>. Acesso em 02 nov. 2013.

INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA (IMA). Produtores de Queijo Minas artesanal. Disponível em: < http://www.ima.mg.gov.br/component/docman/doc_details/680-produtores-queijo-minas-artesanal ->. Acesso em: 29/12/2013.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Milk: enumeration of somatic cell. *IDF Standard 148A*. Bruxelas: IDF, 1995. 8p.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Whole milk: determination of milkfat, protein and lactose content. Guidance on the operation midinfrared instruments. *IDF Standard 141C*. Bruxelas: IDF, 2000. 8p.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Yogurt: enumeration of characteristic microorganisms colony count technique at 37°C. *IDF Standard 117A*. Bruxelas: IDF, 1988. 10p.

- JAY, J. M.; LOESSNER, M. J., GOLDEN, D. D. *Modern Food Microbiology*. 7. ed. New York: Springer, 2005. 782 p.
- JENSEN, R. G.; BLANC, B.; PATTON, S. Particulate constituents in human and bovine milks. In: JENSEN, R. G. (Ed) *Handbook of Milk Composition*. Academic Press: Londres, 1995. p. 50-62.
- KONDYLI, E.; KATSIARI, M. C.; VOUTSINAS, L. P. Chemical and sensorial characteristics of Galotyri-type cheese made using different procedures. *Food Control*, v. 19, n. 3, p. 301-307, 2008.
- KOUSTA, M.; MATARAGAS, M.; SKANDAMIS, P. *et al.* Prevalence and sources of cheese contamination with pathogens at farm and processing levels. *Food Control*, v. 21, n. 6, p. 805-815, 2009.
- LAGES, V.; LAGARES, L.; BRAGA, C. L. (Org.). *Valorização de produtos com diferencial de identidade e qualidade: indicações geográficas e certificações para competitividade nos negócios*. Brasília: Sebrae, 2005. 227 p.
- LARSEN, M. K.; NIELSEN, J. H.; BUTLER, G. *et al.* Milk quality as affected by feeding regimens in a country with climatic variation. *Journal of Dairy Science*, v. 93, n. 7, p. 2863-2873, 2010.
- LATIF, M. B. *As Minas Gerais*. Belo Horizonte: Editora Itatiaia, 1991. 213 p.
- LAW, B. A.; TAMIME, A. Y. *Technology of Cheesemaking*. Sussex: Wiley-Blackwell, 2010. 515 p.
- LEMOS, M. B.; GALINARI, R.; CAMPOS, B. *et al.* Tecnologia, especialização e produtividade : um estudo da pecuária leiteira de Minas Gerais. *Revista de Economia e Sociologia Rural*, v. 41, n. 3, p. 117-138, 2003.
- LERICHE, F.; FAYOLLE, K. No seasonal effect on culturable pseudomonads in fresh milks from cattle herds. *Journal of Dairy Science*, v. 59, n. 5, p. 2299-2306, 2012.
- LICITRA, G. World wide traditional cheeses: Banned for business? *Dairy Science and Technology*, v. 90. P. 357-374, 2010.
- LIMA, C. D. L. C.; LIMA, L. A.; CERQUEIRA, M. M. O. P.; *et al.* Bactérias do ácido láctico e leveduras associadas com o queijo-de-minas artesanal produzido na região da Serra do Salitre, Minas Gerais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 61, p. 266-272, 2009.
- LIMA, C. D. L. C.; CERQUEIRA, M. M. O. P.; FERREIRA, E. G. *et al.* Microbiological, physical-chemical and sensory evaluation of a traditional Brazilian cheese during the ripening process. *World Journal of Microbiology Technology*, v. 24, n. 11, p. 2389-2395, 2008.
- LITOPOULOU-TZANETAKI, e.; TZANETAKIS, N. Microbiological characteristics of Greek traditional cheeses. *Small Ruminant Research*, v. 101, n. 1-3, p. 17-32, 2011.
- LOPES, M. A.; CARMO, E. A.; LIMA, A. L. R. *et al.* Análise da rentabilidade de uma empresa com opção de comercialização de

queijo ou leite. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 58, n. 4, p. 642-647, 2006.

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

MAGALLÓN, R. F.; HERNÁNDEZ, A. A. O.; ZAPATA, J. A. N. Characterization of microbial traits involved with elaboration of the Cotija cheese. *Food Science and Biotechnology*, v. 20, n. 4, p. 997-1003, 2011.

MAJHENIČ, A.; MOHAR LORBERG, P.; ROGELJ, I. Characterization of the *Lactobacillus* community in traditional Karst ewe's cheese. *International Journal of Dairy Technology*, v. 60, n. 3, p. 182-190, 2007.

MARINO, M.; MAIFRENI, M.; RONDININI, G. Microbiological characterization of artisanal Montasio cheese: analysis of its indigenous lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, v. 229, n. 1, p. 133-140, 2003.

MARTINS, J. M. *Características físico-químicas e microbiológicas durante a maturação do queijo Minas artesanal da região do Serro*. 2006. 146 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

MATA, G. M. S. C. *Comparação de métodos para pesquisa de Salmonella sp. e Listeria sp. e avaliação microbiana e físico-química em*

queijo Minas artesanal. 2009. 110 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

MAWE, J. *Viagens ao interior do Brasil*. Belo Horizonte: Editora Itatiaia, 1978.

MENÉNDEZ, S.; GODÍNEZ, R.; CENTENO, J. A. *et al.* Microbiological, chemical and biochemical characteristics of Tetilla raw cows-milk cheese. *Food Microbiology*, v. 18, n. 2, p. 151-158, 2001.

MENESES, J. N. C. *O continente rústico*. Diamantina: Maria Fumaça, 2000. 263 p.

MENESES, J. N. C. *Queijo Minas Artesanal: Dossiê Interpretativo*. Belo Horizonte: IPHAN, 2006. 139 p.

MENEZES, S. S. M. Queijo artesanal: identidade, prática cultural e estratégia de reprodução social em países da América Latina. *Revista Geográfica da América Central*, v. 2, n. 47, p. 1-16, 2011.

MICHELETTI, S. M. F.; DIAS, N. S.; VALENTE, E. C. N. *et al.* Ação de extrato de óleo de nim no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em laboratório. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 19, n. 1, p. 44-48, 2010.

MILLET, L.; SAUBUSSE, M.; DIDIENNE, R. *et al.* Control of *Listeria monocytogenes* in raw-milk cheeses. *International Journal of Food Microbiology*, v. 108, n. 1, p. 105-114, 2006.

MINAS GERAIS. Assembléia Legislativa do Estado de Minas Gerais. Decreto nº 44.864, de 01 de agosto de 2008. Altera o regulamento de lei nº14.185 de 31 de janeiro de 2002, que dispõe sobre o processo de produção de queijo Minas artesanal. Belo Horizonte: Assembléia Legislativa do Estado de Minas Gerais, 2008. Disponível em: <<http://www.almg.gov.br>>. Acesso em 02 out. 2013.

MINAS GERAIS. Assembléia Legislativa do Estado de Minas Gerais. Lei nº 14.185, de 31 de janeiro de 2002. Dispõe sobre o processo de produção de queijo Minas artesanal e dá outras providências. Belo Horizonte: Assembléia Legislativa do Estado de Minas Gerais, 2002a. Disponível em: <<http://www.almg.gov.br>>. Acesso em 02 out. 2013.

MINAS GERAIS. Assembleia Legislativa do Estado de Minas Gerais. Lei nº 20.549, de 18 de dezembro de 2012. Dispõe sobre a produção e a comercialização dos queijos artesanais de Minas Gerais. Belo Horizonte: Assembléia Legislativa do Estado de Minas Gerais, 2012. Disponível em: <<http://www.almg.gov.br>>. Acesso em 07 out. 2013.

MINAS GERAIS. INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria n. 517 de 14 jun. 2002c. Normas de defesa sanitária para rebanhos fornecedores de leite. Disponível em: http://www.ima.mg.gov.br/component/docman/doc_details/209-portaria-517. Acesso em: 05 out. 2013.

MINAS GERAIS. INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria n. 518 de 14 jun. 2002b. Requisitos básicos de instalações, materiais e equipamentos. Disponível em: http://www.ima.mg.gov.br/component/docman/doc_details/210-portaria-518. Acesso em: 05 out. 2013.

MINAS GERAIS. INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria n. 546 de 29 out. 2002. Identifica a microrregião do Serro. Disponível em: http://www.ima.mg.gov.br/component/docman/doc_details/242-portaria-591. Acesso em: 05 out. 2013.

MINAS GERAIS. INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria n. 594 de 10 jun. 2003. Identifica a microrregião de Araxá. Disponível em: http://www.ima.mg.gov.br/component/docman/doc_details/244-portaria-594. Acesso em: 05 out. 2013.

MINAS GERAIS. INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria n. 619 de 01 dez. 2003. Identifica a microrregião do Cerrado. Disponível em: http://www.ima.mg.gov.br/component/docman/doc_details/256-portaria-619. Acesso em: 05 out. 2013.

MINAS GERAIS. INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria n. 694 de 17 nov. 2004. Identifica a microrregião da Canastra. Disponível em: http://www.ima.mg.gov.br/component/docman/doc_details/276-portaria-694. Acesso em: 05 out. 2013.

MINAS GERAIS. INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria n. 1022 de 3 nov. 2009. Identifica a região de Campo das Vertentes. Disponível em: <http://imanet.ima.mg.gov.br/nova/legis/portarias_pdf/1022.pdf>. Acesso em: 05 out. 2013.

MINAS GERAIS. *Perfil do produtor de leite nas mesorregiões da Zona da Mata e Campo das Vertentes de Minas Gerais*. Belo Horizonte: INAES, 2010. 119 p.

MOATSOU, G.; MOSCHOPOULOU, E.; GEORGALA, A. *et al.* Effect of artisanal liquid rennet from kids and lambs abomasa on the characteristics of Feta cheese. *Food Chemistry*, v. 88, n. 4, p. 517-525, 2004.

NETTO, M. M. *A geografia do queijo Minas artesanal*. 2011. Tese (Doutorado em Geografia) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Rio Claro.

NETTO, M. M. O mercado central de Belo Horizonte: entre queijos e sabores. *Geograficidade*, v. 2, n. 1, p. 53-67, 2012.

NÓBREGA, D. B.; LANGONI, H. Breed and season influence on milk quality parameters in mastitis occurrence. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 31, n. 12, p. 1045-1052, 2011.

NÓBREGA, J. E. *Caracterização do fermento endógeno utilizado na fabricação do queijo Canastra no município de Medeiros, Minas Gerais, com ênfase em leveduras*. 2007. 94 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

NÓBREGA, J. E.; FERREIRA, C. L. L. F.; DORES, M. T. *et al.* Diferenças sazonais no fermento endógeno utilizado na produção de queijo Minas artesanal, fabricado na Serra da Canastra, Minas Gerais. *Revista do Instituto Laticínios Cândido Tostes*, v. 63, n. 363, p. 26-30, 2008.

NOGUEIRA, M. C. L.; LUBACHEVSKY, G.; RANKIN, S. A. A study of the volatile composition of Minas cheese. *LWT - Food Science and Technology*, v. 38, p. 555-563, 2005.

O'BRIEN, M.; HUNT, K.; MCSWEENEY, S. *et al.* Occurrence of foodborne pathogens in Irish farmhouse cheese. *Food Microbiology*, v. 26, n. 8, p. 910-914, 2009.

OLIVEIRA, A. G. B. *Legislação sanitária no Brasil*. 2008. 42 p. Monografia (Pós-Graduação em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal) – Universidade Castelo Branco, Brasília.

OLIVEIRA, D. F.; PORTO, M. A. C.; BRAVO, C. E. C. *et al.* Caracterização físico-química de queijos Minas artesanais produzidos em diferentes microrregiões de Minas Gerais. *Oikos: Revista Brasileira de Economia Doméstica*, v. 24, n.2, p. 185-196, 2013

OLIVEIRA, V. J. *Da qualidade e organização da produção ao reconhecimento de região produtora de queijo Minas artesanal: análise da experiência dos produtores da região de São João del Rei e seu entorno*. 2011. 205 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

- ÖNER, Z.; KARAHAN, A. G.; ALOGLU, H. Changes in the microbiological and chemical characteristics of an artisanal Turkish white brined cheese. *LWT*, v. 39, n. 5, p. 449-454, 2006.
- ORNELAS, E. A. *Diagnóstico preliminar para caracterização do processo e das condições de fabricação do queijo artesanal da Serra da Canastra*. 2005. 87 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- ORTOLANI, M. B. T. *Bactérias ácido-láticas autóctones de leite cru e queijo Minas frescal: isolamento de culturas bacteriocinogênicas, caracterização da atividade antagonista e identificação molecular*. 2009. 123 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- OUWEHAND, A. C.; VESTERLUND, S. Antimicrobial components from lactic acid bacteria. In: SALMINEN, S.; WRIGHT, A. V.; OUWEHAND, A. (Ed) *Lactic Acid Bacteria*. Marcel Dekker: New York, 2004. p. 375-396.
- PAIVA, P. H. C. *Tratamento da casca do queijo Canastra com resina e seus efeitos durante a maturação e na qualidade como forma de melhorar o aspecto e agregar valor ao produto*. 2012. 91 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados) –Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora.
- PAXSON, H. Post-pasteurized cultures: the microbiopolitics of raw-milk cheese in the United States. *Cultural Anthropology*, v. 23, n. 1, p. 15-47, 2008.
- PERIN, L. M.; MORAES, P. M.; VIÇOSA, G. N. *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.
- 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 do Instituto Adolfo Lutz*, v. 32, p. 97-100, 1972.
- PINTADO, A. I. E.; PINHO, O.; FERREIRA, I. M. P. L. V. O. *et al.* Microbiological, biochemical and biogenic amine profiles of Terrincho cheese manufactured in several dairy farms. *International Dairy Journal*, v. 18, n. 6, p. 631-640, 2008.
- PINTO, M. S.; CARVALHO, A. F.; PIRES, A. C. 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, V. N. *O ouro brasileiro e o comércio anglo-português*. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1979. 346 p.
- POHL, J. E. *Viagem no interior do Brasil*. São Paulo: Editora da USP, 1976. 417 p.
- PRIETO, B.; URDIALES, R.; FRANCO, I. *et al.* Quesucos de Liébana cheese from cow's milk: biochemical changes during ripening.

Food Chemistry, v. 70, n. 2, p. 227-233, 2000.

RANDAZZO, C. L. *et al.* Effect of wild strains used as starters culture and adjunct cultures on the volatile compounds of the Pecorino Siciliano cheese. *International Journal of Food Microbiology*, v. 122, n. 3, p. 269-278, 2008.

RESENDE, M. F. S. *Queijo Minas artesanal da Serra da Canastra: influência da altitude e do nível de cadastramento das queijarias nas características físico-químicas e microbiológicas*. 2010. 71 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

RESENDE, M. F. S., COSTA, H. H. S.; ANDRADE, E. H. P. *et al.* Queijo de Minas artesanal da Serra da Canastra: influência da altitude das queijarias nas populações de bactérias ácido-láticas. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 63, n. 6, p. 1567-1573, 2011.

REVISTA DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL. Brasília: Instituto Nacional de Propriedade Industrial, n. 2125, 27 set. 2011.

REVISTA DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL. Brasília: Instituto Nacional de Propriedade Industrial, n. 2137, 20 dec. 2011.

ROSS, R. P.; MORGAN, S.; HILL, C. Preservation and fermentation: past, present and future. *International Journal of Food Microbiology*, v.79, n. 1-2, p. 3-16, 2002.

SAINT-HILAIRE, A. *Viagem pelo distrito dos diamantes e litoral do Brasil*. Belo Horizonte: Editora Itatiaia, 1974. 233 p.

SAINT-HILAIRE, A. *Viagem às nascentes do rio São Francisco*. Belo Horizonte: Editora Itatiaia, 1975. 190 p.

SAMPAIO, I. B. M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2010. 264 p.

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*. 2010. 68 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina.

SEVERINO, N. S. A memória de um paladar. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE HISTÓRIA CULTURAL, VI, 2012, Teresina. *Anais...* Teresina: Universidade Federal do Piauí, 2012. p. 1-6.

SHEEHAN, J. J. What causes the development of gas during ripening? In: MCSWEENEY, P. L. H. (Ed) *Cheese problems solved*. CRC Press: Boca Raton, 2007. p. 105-106.

SILVA, J. G.; ABREU, L. R.; MAGALHÃES, F. A. R. *et al.* Características físico-químicas do queijo Minas artesanal da Canastra. *Revista do Instituto Laticínios Cândido Tostes*, v.380, n. 66, p. 16-22, 2011.

SOUZA, C. F. V.; ROSA, T. D.; AYUB, M. A. Z. Changes in microbiological and

physicochemical characteristics of Serrano cheese during manufacturing and ripening. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 34, n. 3, p. 260-266, 2003.

SUHREN, G.; WALTE, H. G. First experiences with automatic flow cytometric determination of total bacteria count in raw milk. *Bulletin of the International Dairy Federation*, n. 358, p. 36-48, 2000.

SUMMER, A., SANDRI, S.; TOSI, F. *et al.* Seasonal trend of some parameters of the milk quality payment for Parmigiano-Reggiano cheese. *Italian Journal of Animal Science*, v. 6, n. 1, p. 475-477, 2007.

TALPUR, A. D.; MEMON, A. J.; KHAN, M. I. *et al.* Inhibition of pathogens by lactic acid bacteria and application as water additive multi isolates in early stages larviculture of *P. pelagicus*. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, v. 22, n. 1, p. 54-64, 2012.

TORRES-LLANEZ, M. J.; VALLEJO-CORDOBA, B.; DÍAS-CINCO, M. E. *et al.* Characterization of the natural microflora of artisanal Mexican fresco cheese. *Food Control*, v. 17, n. 9, p. 683-690, 2006.

VASEK, O.; LEBLANC, J. G.; FUSCO, A. *et al.* Chemical composition and microbial evaluation of Argentinean Corrientes cheese. *International Journal of Dairy Technology*, v. 61, n. 3, p. 222-228, 2008.

VIANA, F. R.; OLIVEIRA, A. F.; CARMO, L. S. *et al.* Occurrence of coagulase-positive Staphylococci, microbial indicators and physical-chemical characteristics of traditional semihard cheese produced in Brazil. *International Journal of Dairy Technology*, v.62, n. 3, p. 372-377, 2009.

VILJOEN, B. C. The interaction between yeasts and bacteria in dairy environment. *International Journal of Food Microbiology*, v. 69, n. 1-2, p. 37-44, 2001.

WILLIAMS, A. G.; WITHERS, S. E. Microbiological characterization of artisanal farmhouse cheeses manufactured in Scotland. *International Journal of Dairy Technology*, v. 63, n. 3, p. 356-369, 2010.

WOUTERS, J. T. M.; AYAD, E. H. E.; HUGENHOLTZ, J. *et al.* Microbes from raw milk for fermented dairy products. *International Dairy Journal*, v. 12, n. 2-3, p. 90-109, 2002.

WROLSTAD, R. E.; ACREE, T. E.; DECKER, E. A. *et al* (Ed). *Handbook of Food Analytical Chemistry*. Wiley-Interscience: Hoboken, 2005. 1302 p.

ZOTOLLA, E. A.; SMITH, L. B. Pathogens in cheese. *Food Microbiology*, v. 8, n. 3, p. 171-182, 1991

Anexo 1: Questionário para diagnóstico preliminar da produção de leite e queijo de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG

**PESQUISA: QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE QUEIJOS
ARTESANAIS DA REGIÃO DE CAMPOS DAS VERTENTES – MINAS GERAIS**

RELATÓRIO TÉCNICO DE VISITA A PROPRIEDADE

Data: _____
Professor: _____
Relatores: _____

Propriedade: _____

Localidade:

Proprietário:

Reside na propriedade () sim () não

Distância do município:

Endereço para correspondência:

CEP: _____

Entrevistado:

Veterinário responsável – técnico de assistência rural:

End.:

CEP: _____

Fone: _____

1. DADOS DA FAZENDA

Principal atividade:

Sistema de criação:

Assistência Veterinária:

Escrituração Zootécnica / Programa de Controle do Rebanho:

Área:

Área destinada à produção de leite:

Alimentação dos animais:

Divisão de pastos e/ou piquetes:

Origem da água:

2. DADOS DO REBANHO LEITEIRO Número total de animais: _____

Composição genética:

Formação do rebanho:

Entrada de animais:

Vacas em lactação:

Vacas secas:

Novilhas:

Bezerras:

Touros:

3. PRODUÇÃO DE LEITE

Volume de leite diário e média:

Custo de produção:

Preço recebido:

Controle leiteiro:

Uso de BST:

Período lactação/seco:

Tipo de secagem:

4. ORDENHA

Tipo: _____

Local:

Horários:

Relação ordenhador/vaca:

Duração da ordenha:

Rotina pré-ordenha:

Rotina de pós ordenha:

Limpeza dos utensílios e equipamentos:

Pulsação:

Pressão de vácuo:

Sobre-ordenha:

Alimentação:

Análise da água:

Estocagem do leite (local e temperatura):

Limpeza do tanque de expansão:

5. CONTROLE DE MASTITE

Caneca telada:

CMT/CCS:

Tratamento:

Destino do leite durante o tratamento:

Período de retenção do leite:

6. PRODUÇÃO DO QUEIJO ARTESANAL

Horários e dias de produção:

Local / descrição da queijaria

Água:

Encarregado da produção/qualificação:

Utensílios utilizados e sanificação:

Ingredientes/quantidades/seleção:

Descrição dos procedimentos:

Maturação:

Comercialização:

Anexo 2: Médias de parâmetros microbiológicos de qualidade de queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG nos períodos de seca e chuva

Tabela 14. Médias de parâmetros microbiológicos de qualidade de queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG no período de seca

Parâmetro estudado	Tempo de Maturação						
	Um	Sete	14	21	28	45	60
Coliformes a 30°C (NMP/g)	> 1100	> 1100	> 1100	> 1100	695	753	377
Coliformes a 45°C (NMP/g)	390	> 1100	596	571	191	741	3,2
<i>Staphylococcus coagulase</i> positivo (UFC/g)	2,3x10 ⁴	5x10 ⁴	1,1x10 ⁵	2,5x10 ⁴	< 1x10 ⁴	< 1x10 ⁴	2x10 ⁴
<i>Salmonella</i> spp. (25g)	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
BAL MRS (UFC/g)	4,3x10 ¹⁰	3,2x10 ⁹	8,6x10 ⁸	9x10 ⁹	5,9x10 ⁸	2,9x10 ⁸	7,6x10 ⁷
BAL M17 (UFC/g)	1,5x10 ⁹	2,2x10 ⁹	4x10 ⁸	2x10 ⁹	2,1x10 ⁸	1,9x10 ⁸	7,7x10 ⁷
Bolores e leveduras (UFC/g)	1,1x10 ⁴	1,2x10 ⁶	2,5x10 ⁶	1,4x10 ⁶	3,7x10 ⁵	7,8x10 ⁵	7,8x10 ⁵

Tabela 15. Médias de parâmetros microbiológicos de qualidade de queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG no período chuvas

Parâmetro estudado	Tempo de Maturação						
	Um	Sete	14	21	28	45	60
Coliformes a 30°C (NMP/g)	> 110000	5965	5615	5715	5515	5521	5521
Coliformes a 45°C (NMP/g)	5715	5546	5515	5515	5515	5504	5504
<i>Staphylococcus coagulase</i> positivo (UFC/g)	1,3x10 ⁵	< 1x10 ⁵	< 1x10 ⁵	< 1x10 ⁵	< 1x10 ⁵	< 1x10 ⁵	< 1x10 ⁵
<i>Salmonella</i> spp. (25g)	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
BAL MRS (UFC/g)	6,2x10 ⁸	3,2x10 ⁷	5,7x10 ⁷	4,8x10 ⁷	2,7x10 ⁷	5,7x10 ⁷	3,5x10 ⁷
BAL M17 (UFC/g)	6,3x10 ⁸	3,8x10 ⁸	4,1x10 ⁷	4,2x10 ⁷	6,2x10 ⁷	6x10 ⁷	1,1x10 ⁷
Bolores e leveduras (UFC/g)	2,3x10 ⁶	3,7x10 ⁶	3,6x10 ⁶	4,7x10 ⁶	1x10 ⁵	6,5x10 ⁵	3,6x10 ⁵

Anexo 3: Médias de parâmetros físico-químicos de qualidade de queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG nos períodos de seca e chuva

Tabela 16. Médias de parâmetros físico-químicos de qualidade de queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG no período de seca

Parâmetro estudado	Tempo de Maturação						
	Um	Sete	14	21	28	45	60
Extrato seco total (%)	45	53	56	62	67	69	71
Umidade (%)	55	47	44	38	33	31	29
Gordura (%)	21	30	27	29	37	39	43
Acidez titulável (%)	0,53	0,74	0,96	1,055	1,07	1,11	1,01
pH	-	-	-	-	-	-	-
Nitrogênio total (%)	3,055	3,375	3,33	3,875	4,095	4,42	4,15

Tabela 17. Médias de parâmetros físico-químicos de qualidade de queijo Minas artesanal de produtores cadastrados pelo IMA em Campo das Vertentes – MG no período das chuvas

Parâmetro estudado	Tempo de Maturação						
	Um	Sete	14	21	28	45	60
Extrato seco total (%)	50	57	63	64	68	70	70
Umidade (%)	50	43	37	36	32	30	30
Gordura (%)	28	33	37	41	41	43	44
Acidez titulável (%)	0,53	0,855	0,96	0,935	0,955	0,615	0,74
pH	5,385	5,385	5,345	5,29	5,24	5,365	5,52
Nitrogênio total (%)	2,925	3,635	4,055	3,995	3,8	4,035	4,83

