

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia

Leandro Vítor de Figueiredo

MATURAÇÃO E CARACTERÍSTICAS DE QUALIDADE DO QUEIJO MINAS
ARTESANAL DO SERRO - MG

Diamantina
2018

LEANDRO VÍTOR DE FIGUEIREDO

**MATURAÇÃO E CARACTERÍSTICAS DE QUALIDADE DO QUEIJO MINAS
ARTESANAL DO SERRO-MG**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Cleube Andrade Boari
Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Ana Carolina S.D. Chaves

**Diamantina
2018**

Elaborado com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

F475m Figueiredo, Leandro Vitor de
Maturação e características de qualidade do Queijo Minas Artesanal
do Serro-MG. / Leandro Vitor de Figueiredo. – Diamantina, 2018.
66 p. : il.

Orientador: Cleube Andrade Boari

Dissertação (Mestrado – Curso de Pós-Graduação em Zootecnia) -
Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

1. Coliformes. 2. Cor. 3. Firmeza. 4. Proteína. 5. Umidade. I. Boari,
Cleube Andrade. II. Título. III. Universidade Federal dos Vales do
Jequitinhonha e Mucuri.

CDD 637.3

Ficha Catalográfica – Serviço de Bibliotecas/UFVJM
Bibliotecário Anderson César de Oliveira Silva, CRB6 – 2618.

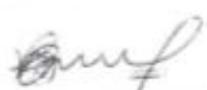
**MATURAÇÃO E CARACTERÍSTICAS DE QUALIDADE DO QUEIJO MINAS
ARTESANAL DO SERRO - MG**

Dissertação apresentada ao
MESTRADO EM ZOOTECNIA, nível
de MESTRADO como parte dos
requisitos para obtenção do título de
MAGISTER SCIENTIAE EM
ZOOTECNIA

Orientador : Prof. Dr. Cleube Andrade
Boari

Data da aprovação : 28/05/2018


Prof. Dr. CLEUBE ANDRADE BOARI - UFVJM


Prof. Dr.ª CRISTINA MOREIRA BONAFE - UFVJM


Prof. Dr.ª LARISSA DE OLIVEIRA FERREIRA ROCHA - UFVJM


Prof. Dr. PAULO DE SOUZA COSTA SOBRINHO - UFVJM

DIAMANTINA

A Deus, minha família, amigos e namorada pelo amor incondicional e apoio em todas as
minhas decisões.

À equipe CTPOA, pela amizade, acolhimento e ajuda de sempre.

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente o auxílio de cada um nesta jornada, cada aprendizado técnico, outrora de vida. Agradeço a cada uma das pessoas envolvidas, que sempre estiveram ao lado, em cada metodologia, a cada linha escrita, a cada passo à frente avançado. Gostaria de agradecer a Deus, pelas oportunidades, e que em momento algum me abandonou. Gostaria de agradecer aos meus pais Carlos e Regina, ao meu irmão Vinícius e minha namorada Clara, pelo apoio e amor incondicional em todos os momentos, amo vocês! À equipe CTPOA, em especial ao Orientador Cleube Andrade Boari, Coorientadora Ana Carolina Sampaio Doria Chaves e a técnica laboratorial Mariana Almeida Dumont pelos ensinamentos e apoio sem medidas, fazendo com que a boa vontade de ajudar transpassasse a obrigação profissional. À Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri onde me formei Bacharel em Zootecnia e futuro Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. Agradeço também à APAQS – Associação dos Produtores Artesanais de Queijo do Serro, à CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, à EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária e à FAPEMIG- Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais pelo incentivo à pesquisa.

RESUMO

Esta pesquisa foi realizada com objetivo de se avaliar características de qualidade do Queijo Minas Artesanal do Serro, Minas Gerais, maturado por diferentes tempos: 3, 8, 17, 38 e 60 dias. Os queijos foram maturados nas condições ambientais da propriedade de origem durante época de inverno seco (ano: 2017). Foram realizadas análises de acidez, pH, umidade, proteína, profundidade de maturação, gordura, gordura corrigida para a massa seca, resíduo mineral fixo, firmeza, adesividade, colorimetria ($L^*a^*b^*$ C H°), enumeração de coliformes a 35° e 45 °C, bactérias lácticas, *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* coagulase positiva. Coletou-se o Pingo utilizado na fabricação dos queijos, no qual se determinou acidez, pH, umidade, massa seca, coliformes a 35°C e 45°C, contagem total de bactérias lácticas, aeróbios mesófilos, psicrotróficos, bactérias propiônicas e fungos filamentosos e leveduras. A coleta de Pingo aconteceu apenas uma vez em cada propriedade. O pingo utilizado na produção dos queijos avaliados nesta pesquisa apresentou umidade média de 87,52 g.100 g⁻¹, sólidos totais em torno de 13,5 g.100 g⁻¹, acidez e pH foram respectivamente 0,91 g.100g⁻¹ de ácido láctico e 4,96. Para coliformes a 35°C e 45°C foram encontradas contagens médias de 1,98 log NMP.g⁻¹, bactérias lácticas de 6,12 log UFC.ml⁻¹, fungos filamentosos e leveduras, 6,68 log UFC.ml⁻¹ e para microrganismos psicrotróficos, não se obteve contagens. Não foram observadas variações significativas do tempo de maturação para o pH, acidez, resíduo mineral fixo, profundidade de maturação e gordura corrigida para a massa seca dos queijos. Com o passar do tempo de maturação houve redução na umidade dos queijos e aumento nos valores de proteína e gordura. Durante a maturação houve diminuição da luminosidade da casca (L^* Cas) e aumento da intensidade de vermelho-verde da casca (a^* Cas). A intensidade de amarelo-azul da casca (b^* Cas), intensidade de amarelo-azul central (b^* C) variaram de forma quadrática, aumentando durante a maturação. Os queijos se tornaram mais firmes, com o passar do tempo. Não houve variação significativa para a adesividade. Observou-se nos queijos com 3, 17 e 38 dias valor para coliformes a 35°C e 45°C superiores ao que dispõe a legislação vigente. Dezoito das amostras dos queijos avaliados (72% das amostras analisadas) apresentaram contagens respeitando o limite legislativo para coliformes. Para as bactérias lácticas, observou-se contagens variando entre 4,47 log UFC.g⁻¹ e 6,96 log UFC.g⁻¹. Não foi detectada *Salmonella* spp., em análise realizada no tempo 3 de maturação. No dia três a média para *Staphylococcus* foi superior ao preconizado na legislação, já nos dias 8 e 17 estavam dentro do padrão legislativo. Independente do tempo de maturação, o Queijo Minas Artesanal

do Serro pode ser classificado como Queijo Gordo, apresentando média de 49,09 g.100 g⁻¹ de gordura no extrato seco em todos os tempos avaliados. Com relação ao teor de umidade, os queijos foram classificados em queijos de média umidade dentre os tempos 23 dias e 50 dias.

Palavras chave: Coliformes. Cor. Firmeza. Proteína. Umidade.

ABSTRACT

This research was performed with the objective of evaluating the quality characteristics of Serro's Artisanal Minas Cheese from Minas Gerais, ripened for different periods: 3, 8, 17, 38 and 60 days. The cheeses were ripened in their original farm's environmental conditions during dry winter season (year of 2017). It was analyzed the acidity, pH, humidity, protein, ripening depth, fat, corrected fat for dry mass, ashes, firmness, adhesiveness, colorimetry ($L^*a^*b^* C H^\circ$), coliforms enumeration at 35 °C and 45 °C (95° F and 113° F), lactic bacteria, *Salmonella* spp and coagulase-positive *staphylococci*. A Pingo was used to make cheese, in which acidity, pH, humidity, dry mass, coliforms at 35 °C and 45 °C, total count of lactic bacteria, mesophilic aerobes, psychrotrophs, propionic bacteria and yeast and filamentous fungi were determined. Pingo's pick-up happened only once at each farm. The Pingo used at the cheeses production showed values of mean humidity of 87.5 g.100 g⁻¹, total solids around 13,5 g.100 g⁻¹, acidity 0,91 g.100g⁻¹ of lactic acid and pH of 4,96. For coliforms at 35°C and 45°C, average counts of 1.98 log NMP.g⁻¹, lactic bacteria of 6,12 log UFC.ml⁻¹, yeast and filamentous fungi, 6,68 log UFC.ml⁻¹ and for psychrotrophic microorganisms, no counts were obtained. No significant changes in ripening time were observed for pH, acidity, fixed mineral residue, ripening depth and corrected fat for dry matter. As ripening period went by, there was a reduction in cheese humidity and an increase in protein and fat values. There were a decrease of rind lightness ($L^* Cas$) and a increase of red-green rind intensity ($a^* Cas$). The intensity of yellow-blue rind ($b^* Cas$), intensity of central blue-yellow ($b^* C$) varied in a quadratic form, increasing during ripening. The cheeses became firmer over time. There was no significant variation for adhesiveness. Cheeses with 3, 17 and 38 days values for coliforms at 35 °C and 45 °C were higher than those established by current legislation. Eighteen of the cheeses samples evaluated (72% of the analyzed samples) presented counts respecting the legislative limit for coliforms. Seven of the twenty-five cheeses evaluated (28% of the analyzed samples) presented counts superior to the legislative standard of coliforms. For lactic bacteria, counts ranged from 4.47 log CFU.g⁻¹ to 6.96 log CFU.g⁻¹. There was not detected *Salmonella* spp. in the analysis at time 3 of maturation. At day 3 the average for *Staphylococcus* was higher than that recommended in legislation. However, on days 8 and 17 were within the legislative standard. Regardless of the ripening time, the artisanal Minas cheese produced in the region of Serro may have been classified as Fat, presenting a mean of 49.09 g.100 g⁻¹ of fat in the dry extract at all evaluated periods. Concerning the humidity

content, the cheeses could be classified as medium humidity cheeses between 23 days and 50 days.

Keywords: Coliforms. Color. Firmness. Humidity. Protein.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Mapa da Microrregião do Serro -MG.....	15
Figura 2 – Sala de Maturação.....	17
Figura 3 – Fluxograma do processo de produção do QMA do Serro.....	18
Figura 4 – Esquema da proteólise em queijos.....	21

LISTA DE TABELAS DO ARTIGO

Tabela 1 – Parâmetros físico-químicos do Pingo.....	49
Tabela 2 – Características físico-químicas instrumentais e microbiológicas de Queijo Minas Artesanal do Serro em diferentes tempos de maturação.....	51

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ASBAI – Associação Brasileira de Alergia e Imunologia
Ad – Adesividade
Cas – Casca do queijo
C – Centro geométrico do queijo
CV – Coeficiente de variação.
°C – Grau Celsius
DTA – Doenças Transmitidas por Alimentos
Fz – Firmeza
GES – Gordura no extrato seco
IMA – Instituto Mineiro de Agropecuária
IPHAN – Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional
IG – Indicação Geográfica
INPI – Instituto Nacional de Proteção Intelectual
IEPHA – Instituto Estadual do Patrimônio Histórico e Artístico
L – Luminosidade
M – Média
MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
NMP – Número mais provável
NaCl – Cloreto de sódio
Nh₃ – Amônia
PM – Profundidade de maturação
pH – Pontencial hidrogeniônico
QMA – Queijo minas artesanal
RIISPOA – Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal
SIM – Serviço de Inspeção Municipal
SISB/POA – Sistema Brasileiro de Inspeção de Produtos de Origem Animal
SCTPOA – Setor de Ciência e Tecnologia dos Produtos de Origem Animal
UFC – Unidade de formação de colônias
UFVJM – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
S – Desvio Padrão

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	13
2 REVISÃO DA LITERATURA	15
2.1 Aspectos gerais da produção do Queijo Minas Artesanal do Serro	15
2.2 Maturação do Queijo Minas Artesanal	19
2.3 Legislação do Queijo Minas Artesanal	24
2.4 Microrganismos Indicadores de Contaminação em Alimentos.....	277
2.4.1 Coliformes a 35 °C	27
2.4.2 Coliformes a 45 °C	27
2.4.3 Aeróbios Mesófilos.....	288
2.4.4 Psicrotróficos.....	28
2.4.5 Fungos Filamentosos e Leveduras	299
2.4.6. <i>Stafilococcus</i>	299
2.4.7 <i>Salmonella</i> spp.	30
2.5 Microrganismos de Interesse Tecnológico	30
2.5.1 Bactérias Láticas.....	30
2.5.2 Bactérias Propiônicas	30
3 REFERÊNCIAS	322
4 ARTIGO	39
4.1 MATURAÇÃO E CARACTERÍSTICAS DE QUALIDADE DO QUEIJO MINAS ARTESANAL DO SERRO-MG	39
ABSTRACT	429
INTRODUÇÃO	40
MATERIAL E MÉTODOS	44
RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
CONCLUSÃO.....	Erro! Indicador não definido.
REFERÊNCIAS	61

1 INTRODUÇÃO GERAL

O Queijo Minas Artesanal do Serro é produzido utilizando-se leite cru, sal, coalho e Pingo (que é o soro coletado a partir do segundo dia de dessoragem dos queijos e utilizado como soro-fermento para produção de queijo do dia seguinte). Este produto tem grande importância sociocultural e econômica para a microrregião do Serro, Minas Gerais. A produção ocorre com base da mão de obra familiar, reproduzindo o “Modo de Fazer Queijo de Minas”, passado entre gerações, reconhecido e registrado no Livro de Saberes pelo Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional (IPHAN) no ano de 2008 e um pouco mais tarde, em 2011, o queijo se tornou o primeiro alimento brasileiro a receber certificação de Indicação Geográfica (IG) do Instituto Nacional de Proteção Intelectual (INPI), agregando valor e garantindo qualidade e procedência do produto.

Os queijos produzidos na Microrregião do Serro são descritos no Dossiê de Caracterização da Região do Serro como Produtora de Queijo Minas Artesanal, como queijos de consistência semidura, de textura compacta, com formato cilíndrico, de crosta fina, branca amarelada e sem trincas. O sabor característico é considerado como brando à ligeiramente ácido.

Para a produção do Queijo Minas Artesanal do Serro se adiciona, ao leite cru, coalho e o fermento láctico natural, Pingo. Após coagulação e quebra da coalhada para dessoragem, a massa é enformada e manualmente prensada. Os queijos são salgados à seco, na superfície, com sal grosso (NaCl). Após estabilizar e adquirir firmeza, os queijos são desenformados e encaminhados à maturação, em condições ambientes de temperatura e umidade relativa do ar.

A cada dia, mais produtores optam por maturar seus queijos por períodos superiores ao recomendado (17 dias). A grande motivação tem sido a expressão do *terroir* da propriedade e o valor que se agrega ao produto. Durante a maturação acontecem diversas transformações físico-químicas e microbiológicas, as quais contribuem para a formação de características sensoriais bastante apreciáveis, especialmente o desenvolvimento de aroma.

A hidrólise da lactose, das proteínas e dos lipídeos, tal qual a redução da umidade, são considerados como os principais responsáveis pelo desenvolvimento das características sensoriais do Queijo Minas Artesanal do Serro. Além de contribuir com o desenvolvimento de características desejáveis, as transformações que acontecem durante a maturação podem

contribuir para a eliminação ou redução das populações de microrganismos indesejados, contribuindo, de alguma forma, com a segurança microbiológica do produto.

Considera-se haver uma nova Era na produção do Queijo Minas Artesanal do Serro, que se iniciou no ano de 2002, com a publicação da Lei nº 14.185, de 31 de janeiro de 2002, e com o registro deste produto, neste mesmo ano, como patrimônio imaterial do Estado de Minas Gerais, pelo Instituto Estadual do Patrimônio Histórico e Artístico (Iepha/ MG).

Ressalta-se ter havido, antes deste momento e desde a publicação do Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (R.I.I.S.P.O.A., 1952), a fase de condenação deste produto, cuja produção teve início nos primórdios do ciclo da mineração, durante período colonial. Nesta nova Era de produção deste queijo, a maturação tem sido cada vez mais praticada pelos produtores. Entretanto, por ser tão recente, é fundamental de se pesquisar as variações que acontecem nos produtos, com a finalidade de se compreender quais variações são desejáveis e relacionadas ao desenvolvimento do *terroir* e quais são indesejáveis, decorrentes de falhas no processo.

Considerando-se o exposto, esta pesquisa foi conduzida com o objetivo de se avaliar os efeitos da maturação nas características de qualidade do Queijo Minas Artesanal do Serro, Minas Gerais.

2 REVISÃO DA LITERATURA

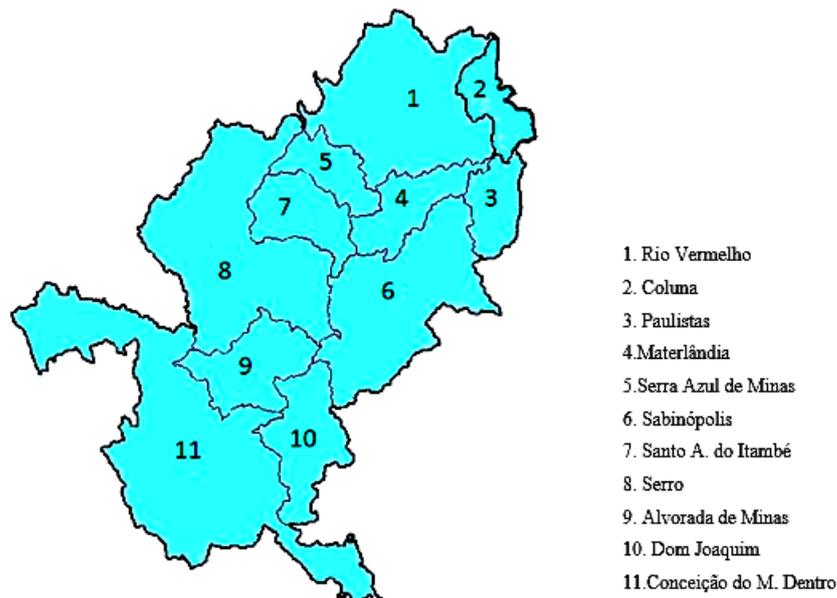
2.1 Aspectos gerais da produção do Queijo Minas Artesanal do Serro

O Estado de Minas Gerais se destaca no cenário nacional e internacional por sua relevante e histórica produção de queijos artesanais com leite cru. Neste contexto, se observa o relevante número de produtores cadastrados no Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA), totalizando, até o ano de 2017, o quantitativo de 282 produtores. O Queijo Minas Artesanal tem sido produzido em sete microrregiões do estado, perfazendo 74 municípios. Dentre estas se destaca a Microrregião do Serro (INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA, 2018).

Compondo uma dessas microrregiões do estado de Minas Gerais e grande importância econômica e sociocultural, a microrregião do Serro produz cerca de 3.100 ton. de queijos por ano e gera 2.290 empregos diretos (ABREU *et al.*, 2002)

A microrregião do Serro, como mostra a figura 1, é composta por 11 municípios, a saber: Alvoradas de Minas, Conceição do Mato Dentro, Dom Joaquim, Materlândia, Paulistas, Rio Vermelho, Sabinópolis, Santo Antônio do Itambé, Serra Azul de Minas, Coluna e Serro. Nesta região há 125 produtores cadastrados no IMA.

Figura 1. Mapa da microrregião do Serro-MG.



Fonte: Adaptado de DUARTE (2016). Disponível em: <<http://queijosecompanhia.blogspot.com.br/2016/04/mapa-do-queijo-de-minas-artesanal-serro.html>>. Acesso em: 03 dez.2017.

Para o cadastramento no IMA é necessário que o produtor atenda exigências quanto à sua produção, instalações, boas práticas de produção, controle sanitário dos animais

e colaboradores (INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA, 2013). Este cadastro zela e prevê que o produto seja íntegro, de qualidade e produzido em consonância com as legislações vigentes.

Por ser produzido a partir de matéria-prima que não passa por processo de tratamento térmico, como a pasteurização, o Queijo Minas Artesanal do Serro pode se tornar veículo para a disseminação de patógenos ao consumidor. Portanto, deve haver mais cautela com a adoção de medidas preventivas e de boas práticas agropecuárias e de fabricação sujeitando-se sua produção à legislações que definem forma de produzir, padrões microbiológicos e físico-químicos.

O Queijo Minas Artesanal do Serro é produzido de forma simples e tradicional, em queijarias edificadas nas propriedades rurais, junto à sala de ordenha (BRANT; FONSECA; SILVA, 2007). Em 2011, o queijo se tornou o primeiro alimento brasileiro a receber certificação de Indicação Geográfica (IG) do Instituto Nacional de Proteção Intelectual (INPI), agregando valor e garantindo qualidade e procedência do produto.

O queijo do Serro deve ser produzido a partir da inoculação do leite cru com Pingo e adição de coalho, em no máximo 90 minutos após a ordenha (MINAS GERAIS, 2002). Após a coagulação das caseínas, é realizado o corte da massa, agitação, enformagem e prensagem manual. São realizadas algumas viragens dos queijos nas formas e então ocorre a salga da superfície. Após estabilização dos queijos (final da dessoragem), que leva em média três dias, os queijos são desenformados, lavados, lixados (processo conhecido como “rala”) para a remoção de imperfeições da superfície e então os queijos são encaminhados para maturação.

O Pingo, é o soro dos queijos enformados que é coletado a partir do segundo dia de processamento. O soro do primeiro dia é destinado à alimentação animal. Devido a microbiota endógena e diversificada, a inoculação do Pingo proporciona a qualidade e identidade característica dos queijos (MARTINS, 2006).

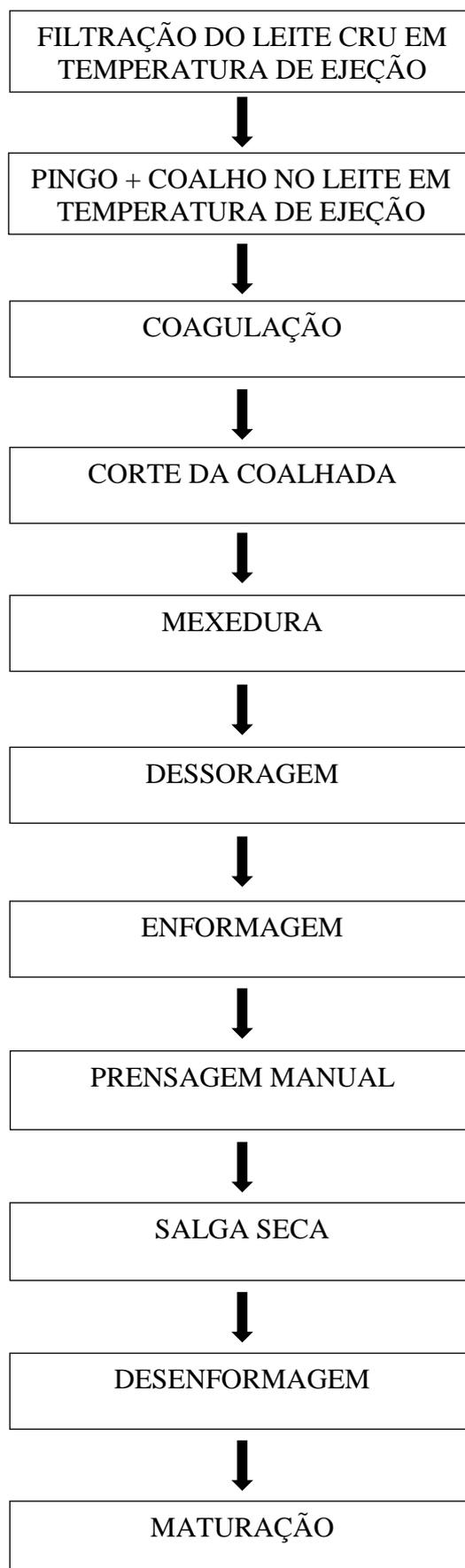
A maturação é realizada devido às exigências legais, para auxiliar na manutenção da qualidade microbiológica e físico-química do produto. Ao longo da maturação ocorrem diversas reações químicas, físicas, bioquímicas e alterações microbiológicas que são responsáveis por desenvolver características sensoriais desejáveis e é considerada importante processo de melhoria das características do produto (COSTA JÚNIOR et al., 2014). Essa fase da produção ocorre na “sala de maturação”, apresentada na figura 2, onde os queijos são virados diariamente.

Os queijos artesanais apresentam características sensoriais influenciadas pelo local de produção e maturação. Isto se deve às variações: edafoclimáticas locais, da microbiota endógena e das propriedades do leite cru (MARTINS et al., 2015a; MONTEL et al., 2014).

Figura 2 – Sala de Maturação



Fonte: Próprio autor.

Figura 3 – Fluxograma do processo de produção do Queijo Minas Artesanal do Serro.

2.2 Maturação do Queijo Minas Artesanal

A maturação pode ser realizada em variadas condições e por diferentes períodos, no caso dos Queijos Minas Artesanais (QMA) da microrregião do Serro, com o Sistema Brasileiro de Inspeção de Produtos de Origem Animal (SISBI/POA), eles devem ser maturados por no mínimo 17 dias (INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA, 2013), enquanto queijos como Parmesão devem ser maturados por, no mínimo, seis meses (BRASIL, 1997).

Em países como França e Itália diferentes tipos de queijo tem o processo de produção e maturação muito bem elucidados. A produção de queijos como o Grana Padano, por exemplo, protegidos pelo Consorzio Tutela Grana Padano e com Denominação de origem protegida, descritos no estatuto do del Grana Padano, mantém a receita tradicional, forma de fazer e são maturados por mínimo de nove meses (FURTADO, 2011).

A maturação é realizada em geral, em câmaras bioclimáticas, nas quais são controladas a temperatura e umidade relativa do ar (PERRY, 2004).

No caso dos queijos da região do Serro, a maturação é realizada em condições ambientais das queijarias, sem controle de temperatura e umidade relativa do ar. Na Portaria Nº 1305 de 30 de abril de 2013, voltada às queijarias integrantes do SISBI/POA, exige-se maturação mínima de 17 dias que é realizada nas condições ambientais e segundo o R.I.I.S.P.O.A. (BRASIL, 2017), os queijos de leite cru deve ser maturados por mínimo de 60 dias a uma temperatura superior a 5°C.

Ao fim do período de maturação, o QMA do Serro, deve estar microbiologicamente seguro e com máximo de 45,9 g.100 g⁻¹ de umidade. Ressalta-se, no entanto, que a maturação não deve ser utilizada com o propósito de resolver falhas sanitárias na produção do leite cru e dos queijos, mas sim para proporcionar o desenvolvimento das características sensoriais desejáveis ao produto final (FIGUEIREDO, 2015).

Diversas são as alterações microbiológicas e bioquímicas que ocorrem durante a maturação. Estes fenômenos são interligados de forma complexa, sendo essenciais ao desenvolvimento das características sensoriais para o produto final, especialmente sabor, aroma e textura (ABEIJÓN MUKDSI *et al.*, 2014).

De forma dinâmica e temporal, sucessivas alterações são observadas nos queijos durante a maturação e acontecem nos principais componentes como a lactose, caseínas e lipídeos (MCSWEENEY, 2004).

A lactose, dissacarídeo encontrado no queijo, é substrato para bactérias fermentadoras presentes no Pingo, ou ainda para os possíveis contaminantes presentes no leite cru, que provocam variadas transformações nos queijos.

Cerca de 98% da lactose é retirada da coalhada durante dessoragem, e o que resta de lactose no queijo é metabolizado durante a primeira fase de maturação (FOX; LUCEY; COGAN, 1990).

A lactose é hidrolisada pela via glicolítica ou por vias enzimáticas, bactérias lácticas produzem o L-lactato ou o D-lactato, sendo um importante substrato para diversas reações que ocorrem no queijo durante a maturação (MCSWEENEY, 2004). Este intermediário metabólico produz aumento da acidez titulável, reduzindo o pH, teor de lactose, e quando oxidados por bactérias lácticas, podem ainda produzir metabólitos como o acetato, etanol e CO₂. A lactose pode ainda ser também isomerizado ou oxidado por bactérias secundárias produzindo compostos voláteis (MCSWEENEY, 2004; MCSWEENEY; SOUSA, 2000).

A isomerização do L-lactato em D-lactato forma uma mistura racêmica, sendo a última forma mais encontrada em queijos produzidos a partir de leite cru. A racemização do L-lactato envolve a oxidação devido a atividade da enzima L-lactato desidrogenase, produzindo um intermediário, o piruvato, que posteriormente é reduzido a D-lactato por ação da enzima, D-lactato desidrogenase (MCSWEENEY, 2004; MCSWEENEY; SOUSA, 2000). A transformação da mistura enantiomericamente pura, L-lactato, em uma mistura racêmica, D-lactato, ocorre devido a solubilidade do DL-lactato de cálcio ser menor que a do L-lactato de cálcio, favorecendo a formação de cristais de cálcio formadas pelo D-lactato e manifestadas no queijo em formas de manchas brancas na superfície (MCSWEENEY, 2004).

O produto da hidrólise da lactose, preferencialmente o L-lactato, pode ser metabolizado por microbiota secundária, como as Propionibactérias, que consomem as duas formas isoméricas do lactato, produzindo ácido propiônico, formiato e CO₂ (FROHLICH-WYDER; BACHMANN; CASEY, 2002; MCSWEENEY; SOUSA, 2000).

O desenvolvimento de bactérias propiônicas, assim como de leveduras e fungos filamentosos, como o gênero *Penicillium* sp., tendem a reduzir a acidez do queijo, ao consumir o ácido láctico por vias oxidativas, produzindo ainda, CO₂ e água. Esta redução na acidez favorece o desenvolvimento de outras bactérias sensorialmente benéficas ao queijo, as quais, até então, não dispunham de condições apropriadas para se desenvolver (MCSWEENEY, 2004; MCSWEENEY; SOUSA, 2000).

Os ácidos orgânicos originados pela fermentação microbiana da lactose contribuem ainda para a redução e/ou eliminação de possíveis patógenos contaminantes, tornando o queijo mais seguro (NERO *et al.*, 2008). A redução do pH, devido a produção de ácidos, juntamente com outros aspectos desfavoráveis ao desenvolvimento de microrganismos tem contribuído na redução das contagens de bactérias contaminantes em Queijos Minas Artesanais do Serro recém fabricados e nos maturados por períodos de 30 dias (BRANT; FONSECA; SILVA, 2007).

O processo de redução do pH auxilia, também, na redução de umidade, fenômeno conhecido como sinérese. Quando a matriz de caseína atinge o ponto isoelétrico, com pH em torno de 4,6, ela se torna menos solúvel, liberando água (ESKIN; SHAHIDI, 2015).

Queijos do Serro, quando recém-fabricados apresentam umidade superior a 45,9 g.100 g⁻¹, e tendem a diminuir este valor durante a maturação. Entre 8 e 17 dias de maturação os queijos já podem estar com umidade variando entre 36 e 45,9 g.100 g⁻¹, que são valores que caracterizam o QMA como queijos de média umidade. De acordo com parâmetros estabelecidos no Decreto N° 42645 de 5 de junho de 2002 os queijos estão aptos a serem comercializados com valor máximo de 45,9 g.100 g⁻¹ de umidade (MARTINS, 2006, MINAS GERAIS, 2002).

Além dos fatores influenciados pela variação do pH supracitados, salienta-se a importância do pH na atividade das enzimas que atuam na maturação e na textura. Quando o pH atinge valor muito baixo a textura da massa tende a ser esfarelada, quebradiça, por outro lado quando o pH encontra-se muito alto a textura torna-se mais elástica (FOX; LUCEY; COGAN, 1990).

O controle da atividade enzimática exercido pela variação do pH durante a maturação, influencia a atividade das enzimas proteolíticas, as proteases, que estão diretamente relacionadas com maior ou menor taxa de extensão e profundidade da proteólise, refletindo diretamente na textura e no sabor do produto (FOX; LUCEY; COGAN, 1990). A intensidade de proteólise dos queijos também é influenciada pela umidade e período de maturação (LAVASANI *et al.*, 2012).

A extensão de maturação é um índice que mede a ação proteolítica pela quantidade desdobrada de caseína em peptídeos de alto e médio peso molecular, enquanto que, a profundidade de proteólise indica a hidrólise destes peptídeos de médio e alto peso molecular, em peptídeos de baixo peso molecular, aminoácidos, oligopeptídeos, aminas, uréia e amônia (MARTINS, 2006).

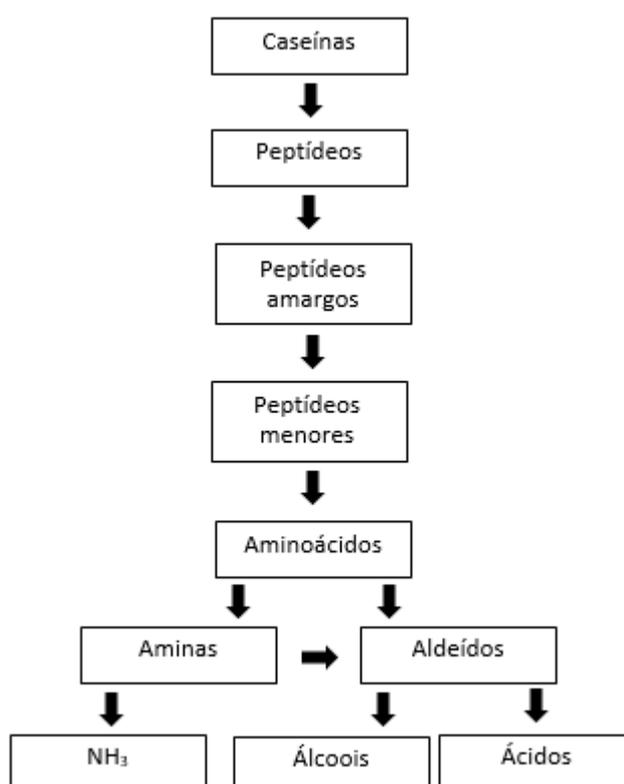
As alterações nas proteínas durante a maturação são os processos mais importantes e complexos que ocorrem, influenciando ativamente o sabor, aroma, textura (AZARNIA *et al.*, 2010; LIMA *et al.*, 2017).

Durante a maturação, proteínas do queijo são hidrolisadas por diversas enzimas proteolíticas (proteases), formando diferentes tipos de compostos nitrogenados (GAYA *et al.*, 2005; MARTINS, 2006).

As proteases, são naturalmente presentes no leite cru, ou são produzidas pelo fermento láctico e também por microrganismos contaminantes. A partir da degradação das caseínas, são formados compostos como peptídeos, aminoácidos, aminas, tioésteres, cetoácidos, álcoois, aldeídos, tióis, amônia, lactonas, aminas, aldeídos e álcoois (AZARNIA; ROBERT; LEE, 2006; GUINEE, 2003).

Na figura 4, observa-se o esquema da hidrólise das proteínas e seus metabólitos.

Figura 4 – Esquema da proteólise em queijos.



Fonte: Adaptado de Perry (2004).

Peptídeos de cadeia curta são responsáveis pelo sabor amargo no queijo e os aminoácidos formados durante a proteólise, podem ser desdobrados em moléculas menores, que contribuem para a formação de sabor e aroma desejáveis (MCSWEENEY; SOUSA, 2000).

De acordo com Associação Brasileira de Alergia e Imunologia (ASBAI), a Caseína- α -S1, que está ligada aos processos alérgicos, pode ser hidrolisada durante a maturação de queijos por ação da enzima quimosina (GAYA *et al.*, 2005; KALIT *et al.*, 2016).

Além disto, o desdobramento de proteínas em peptídeos e em aminoácidos, promove uma redução da atividade de água dos queijos, ocasionado pela ligação entre a água livre e os grupamentos amino formados durante a proteólise (MCSWEENEY, 2004). A redução da atividade de água, impacta negativamente na multiplicação de alguns grupos bacteriano prejudiciais, com conseqüente impacto positivo na qualidade microbiológica (DORES; FERREIRA, 2012).

Os queijos são alimentos ricos em lipídeos que têm uma relação direta com o sabor do produto. Durante a maturação ocorre a perda de umidade, e conseqüentemente a concentração da gordura. Os lipídeos estão sujeitos à dois tipos de degradação lipolítica, a hidrolítica ou oxidativa, sendo a última menos frequente pelo baixo poder de oxirredução. As lipases encontradas no queijo provêm naturalmente do leite cru, do soro-fermento natural e também podem ser produzidas por microrganismos iniciadores e pelos secundários (LAVASANI *et al.*, 2012; MCSWEENEY, 2004).

Os ácidos graxos são liberados dos triglicerídeos devido a hidrólise das ligações éster com um glicerol por atividade das enzimas esterases lipolíticas. Eles são responsáveis por produzir sabor e aroma típicos para a maioria dos queijos, podendo resultar em notas pungentes, frutadas e/ou rançosas (ABEIJÓN MUKDSI *et al.*, 2014; COLLINS; MCSWEENEY; WILKINSON, 2003).

Os ácidos graxos são também responsáveis por alterações na cor, tendo em vista a capacidade de solubilizar compostos como os carotenoides. A mudança de cor dos queijos parece também ser influenciada tanto por variações sazonais quanto pelo período de maturação (FIGUEIREDO *et al.*, 2015).

Os triglicerídeos da gordura do leite bovino, são em sua maioria compostos por ácidos graxos de cadeia curta, e quando estão na forma livre apresentam capacidade de

produzir, além de sabor, compostos voláteis aromáticos durante a maturação (MCSWEENEY, 2004).

Diferentes microrganismos tais como: *Penicillium*, *Propionibacterium* e *Geotrichum* entre outros, estão associados com a atividade lipolítica em queijos. Bactérias lácticas possuem também enzimas lipolíticas e apesar da baixa atividade dessas enzimas, se a quantidade existente dessas bactérias for grande elas também podem ser responsáveis por uma considerável lipólise no queijo (COLLINS; MCSWEENEY; WILKINSON, 2003).

2.3 Legislação do Queijo Minas Artesanal

A legislação do Queijo Minas Artesanal é complexa e vem passando por mudanças e adequações ao longo dos últimos anos. Para estar em consonância com a legislação brasileira, os produtos de origem animal, como o queijo, devem ser inspecionados por uma das três instâncias governamentais: União, Estado ou Município, de acordo com a intenção de comercialização, sendo o Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) o responsável em promover a fiscalização e inspeção no estado de Minas Gerais.

No ano de 1952, foi aprovado o Regulamento Técnico de Inspeção Sanitária de Produtos de Origem Animal onde, em destaque era abordado a produção de Queijos, e dentre eles os queijos de leite cru. A produção do queijo de leite cru, dentre outras variedades de queijos citadas no regulamento era tida como uma prática incipiente, e que enquanto perdurasse este tipo de prática, a comercialização destes queijos seria permitida desde que fossem maturados por um mínimo de dez dias após sua produção.

Em 1996 a portaria Nº 146 de 7 de março de 1996, do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), que aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos, autorizou a produção de queijo a partir do leite cru, ficando excluída a obrigação de ser submetido à pasteurização ou outro tratamento térmico desde que fossem maturados a temperaturas superiores a 5°C por um período mínimo de 60 dias (BRASIL, 1996), sendo mantida esta exigência no Decreto 9.013 de 29 de março de 2017 que dispõe sobre o regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal.

Em Janeiro de 2002 foi aprovada a Lei estadual 14.185, que dispõe sobre o processo de produção do Queijo Minas Artesanal. Ainda neste mesmo ano, no mês de junho, o Decreto 42645 de 5 de junho de 2002 aprovou o regulamento desta Lei (MINAS GERAIS, 2002).

A Lei 14.185 define o Queijo Minas Artesanal como o produto elaborado a partir do leite cru, ordenhado unicamente na propriedade onde será produzido o queijo, e coagulado por meio de coalho animal, prensado a mão, resultando em um produto de consistência semidura, de cor e sabor característicos. Esta Lei define padrões microbiológicos e físico-químicos. Com relação aos padrões físico-químicos: a umidade expressa em base seca deve ser de até 54 g.100 g⁻¹, deve ter resultado negativo para o teste de amido e se o teste da enzima fosfatase alcalina der resultado positivo isso indica que o leite não foi pasteurizado, já os padrões microbiológicos estão expressos na Tabela 1 (MINAS GERAIS, 2002).

Tabela 1 - Padrões microbiológicos de acordo com a Lei 14.185 de Janeiro de 2002.

Microrganismos	n	c	m	M
coliformes a 30°C	5	2	5x10 ³	1x10 ⁴
coliformes a 45°C	5	2	1x10 ³	5x10 ³
S. C. positiva	5	2	1x10 ²	1x10 ³
<i>Salmonella</i> spp.	Aus. 25g	-	-	-
<i>Listeria</i> spp.	Aus. 25g	-	-	-

S. C. positiva = *Staphylococcus* coagulase positiva; Aus. 25g = Ausente em 25g

Fonte: (MINAS GERAIS, 2002)

Em agosto de 2008, a lei 14.185 foi alterada pelo Decreto 44864, redefinindo o produto, dispondo também sobre o estabelecimento, fabricação, cadastramento, qualidade de água, do queijo e transporte equipamentos. Neste decreto o padrão umidade em base seca foi alterada de no máximo 54 g.100 g⁻¹ para 54,1 g.100 g⁻¹ e os padrões de coliformes também foram alterados, como apresentados tabela 2.

Tabela 2 - Padrões microbiológicos de acordo com Decreto 44864 de 5 de junho de 2002.

Microrganismos	n	c	m	M
coliformes a 30°C	5	2	1x10 ³	5x10 ³
coliformes a 45°C	5	2	1x10 ²	5x10 ²

Fonte: (MINAS GERAIS, 2002).

A alteração feita pelo decreto 44864 tornou a legislação mais rigorosa em relação aos parâmetros microbiológicos, tornando-se mais rígida que padrões federais dispostos na RDC N° 12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária que define para os queijos de média umidade, categoria na qual se enquadra o QMA do Serro, de 36 a 46g.100 g⁻¹ de umidade, exige apenas coliformes a 45°C e com valores de $n = 5$, $c = 2$, $m = 5 \times 10^2$ NMP.g⁻¹ e $M = 10^3$ NMP.g⁻¹, ou seja, é permitido um ciclo logarítmico a mais do que na legislação estadual, além de não se exigir coliformes a 35°C.

Por fim, em 2011, a Lei 19.492 de janeiro, alterou a Lei 14.185, dispondo também sobre o processo de fabricação do produto (MINAS GERAIS, 2011). E em 2012, foi revogada pela Lei 20.549, 18 de dezembro 2012 e esta Lei continua em vigor até o momento.

A Lei 20.549 realizou algumas modificações tais como: a definição de queijos, considerando artesanais não só os produzidos a partir do leite cru, mas também alguns queijos que passam por tratamento térmico durante seu processamento, como o queijo Cabacinha e o Requeijão Artesanal. E esta Lei, apresentou a possibilidade de cadastramento na cidade de origem, pelo Serviço de Inspeção Municipal (SIM) e a comercialização de queijos meia-cura (MINAS GERAIS, 2012).

Existe também portarias como a N° 517, que estabelece as normas de defesa sanitária para rebanhos fornecedores de leite na produção de Queijo Minas Artesanal (MINAS GERAIS, 2002), N° 518 que dispõe sobre requisitos básicos das instalações, materiais e equipamentos para a fabricação do QMA (MINAS GERAIS, 2002), N° 523, que dispõe sobre as condições higiênico-sanitárias e boas práticas na manipulação e fabricação do Queijo Minas Artesanal (MINAS GERAIS, 2002). Portarias como a N° 1305, de 30 de abril de 2013 também estabelecem diretrizes para esta produção (MINAS GERAIS, 2013).

A Instrução normativa 57, de 15 de dezembro de 2011, no Artigo primeiro e a Instrução Normativa 30 de agosto de 2013, autorizaram a comercialização de queijos maturados por menos de 60 dias, frente a estudos científicos que comprovassem a segurança do produto (BRASIL, 2013, 2011). Esta exceção ficou restrita as regiões com Indicação Geográfica e em propriedades que tenham boas práticas de produção e sejam certificadas como livre de Brucelose e Tuberculose.

Em 2013, a Portaria N° 1305, de 30 de abril de 2013, com as diretrizes da produção do Queijo Minas Artesanal, produzido exclusivamente de leite cru, de produção própria, com utilização de soro fermento e aplica-se somente às queijarias integrantes do Sistema Brasileiro de Inspeção de Produtos de Origem Animal (SISBI/POA). O tempo

mínimo de maturação para o QMA da Microrregião do Serro, foi reduzido de 60 dias para 17 dias (MINAS GERAIS, 2013).

2.4 Microrganismos Indicadores de Contaminação em Alimentos

Microrganismos indicadores podem ou não oferecer riscos à saúde pública e quando presentes nos alimentos podem indicar falhas nas boas práticas (SILVA et al., 2010).

São observadas características que definem o microrganismo como indicador, entre elas estão a facilidade e rapidez de enumeração, fácil detecção, ausência natural no alimento que se deseja avaliar, associação com algum patógeno quando este for isolado, ausência em alimentos que estão livres de patógenos e ter capacidade de sobrevivência superior à do patógeno. Os principais grupos de microrganismos indicadores são os coliformes a 35°C ou coliformes totais, coliformes a 45°C ou coliformes termotolerantes, microrganismos aeróbios mesófilos, microrganismos psicrotróficos, fungos filamentosos e leveduras e *Staphylococcus coagulase positiva* (FRANCO; LANDGRAF, 2003).

2.4.1 Coliformes a 35 °C

Os coliformes a 35°C ou totais, são um grupo de bactérias formadas por predominantemente quatro gêneros de bactérias: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*, todos pertencentes à família Enterobacteriaceae, embora haja outros gêneros que possam estar presentes (OKURA; MOACIR 2010).

Este grupo de microrganismos compreendem bactérias bacilares gram-negativas, aeróbios ou anaeróbios facultativos, não formadores de esporos e fermentadores da lactose com produção de gás, quando incubados entre 35 e 37°C, por 24/48 hs (BRASIL, 2013).

Dentro do grupo, apenas a espécie *Escherichia coli* tem como habitat primário o intestino de seres humanos e dos animais, sendo um importante indicador de contaminação fecal em alimentos. Os outros gêneros podem estar presentes no ambiente e lá persistem por tempo superior à *Escherichia*, logo, quando isolados coliformes totais em alimentos, não necessariamente o produto foi contaminado por fezes (SILVA, 2007).

2.4.2 Coliformes a 45 °C

Os coliformes a 45°C ou termotolerantes compõem um subgrupo de microrganismos do grupo dos coliformes totais e são capazes de continuar a fermentação da lactose com produção de gás em temperatura de $44,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$ em 24 horas. A principal espécie que compõe este grupo é a *Escherichia coli* (*E. coli*), de origem exclusivamente fecal, tornando os coliformes termotolerantes, importantes indicadores de contaminação fecal em alimentos (BRASIL, 2013).

Dados epidemiológicos do perfil de microrganismos causadores de surtos entre o ano de 2007 e 2017 fornecidos pelo Sistema Único de Saúde, mostram que 95% dos surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos são causados por bactérias, sendo que 27,83% são por *E. coli*.

2.4.3 Aeróbios Mesófilos

A população de microrganismos aeróbios mesófilos compõe um grupo capaz de se desenvolver a temperaturas em torno de 30°C, e é amplamente utilizada para se obter informações sobre as condições sanitárias em que o alimento foi produzido (FRANCO; LANDGRAF, 2003).

A grande maioria dos microrganismos patogênicos em alimentos fazem parte do grupo dos aeróbios mesófilos, logo, observando-se altas contagens, pode ser indicativo que houve condição e possibilidade de desenvolvimento de patógenos no produto. Em produtos lácteos, como o QMA, observa-se contagens em torno de 10^8 UFC.g⁻¹, devido à sua riqueza de microrganismos mesófilos de origem tecnológica, ou seja, de bactérias como as lácticas (SÁ, 2012).

2.4.4 Psicrotróficos

Os psicrotróficos compõem um grupo de microrganismos com capacidade de se desenvolverem em temperaturas de refrigeração, no entanto, sua temperatura ótima de multiplicação varia entre 20 e 30 °C (FURTADO, 2005).

A contagem deste grupo de bactérias avalia o nível de deterioração de alimentos, principalmente os refrigerados, frente à capacidade de desenvolvimento em temperaturas mais baixas.

2.4.5 Fungos Filamentosos e Leveduras

Este grupo de microrganismos, pertencentes ao Reino Fungi, são formados por células eucariotas, uni ou pluricelulares que se desenvolvem bem a temperaturas entre 25 e 28°C e estão amplamente difundidos no ambiente. Em alimentos ácidos e com baixa atividade de água, diferentemente de bactérias, a multiplicação é maior, sendo, portanto, importantes deterioradores deste tipo de alimento (SILVA, 2007).

Os fungos filamentosos e leveduras são importantes tanto para indicação de deterioração de alimentos, como por suas diversas utilizações na tecnologia dos alimentos (MOSS, 2000).

2.4.6. *Staphylococcus*

Staphylococcus formam um gênero composto por 37 espécies de bactérias gram-positivas, em forma de cocos e amplamente encontrada em amostras biológicas humanas (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Dentre as variadas espécies que compõe este gênero, encontra-se o *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), cuja presença elevada em alimentos pode indicar perigo potencial à população, devido a capacidade de produção da enterotoxina estafilocócica. A elevada contagem em alimentos indica uma inadequada sanitização e manipulação de alimentos (FRANCO; LANDGRAF, 2003).

A faixa de multiplicação ótima é entre 35 a 45°C, este microrganismo não é capaz de sobreviver a altas temperaturas, como no caso da pasteurização. Contudo, a enterotoxina produzida por estas bactérias são muito estáveis, e mesmo após processamento térmico, ainda podem causar intoxicações de origem alimentar. Em relação ao pH, elas se desenvolvem em uma ampla faixa que varia entre 4,2 e 9,3. A atividade de água mínima é de 0,85 e suporta concentrações altas de cloreto de sódio, chegando a valores de até 25 g.100 g⁻¹ (SILVA et al., 2010).

Dados epidemiológicos de microrganismos causadores de surtos entre o ano de 2007 e 2017 fornecidos pelo Sistema Único de Saúde, mostraram que 95% dos surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) são causados por bactérias, sendo que 21,58% são *S. aureus*.

2.4.7 *Salmonella* spp.

As bactérias do gênero *Salmonella* são caracterizadas como bacilos Gram-negavivos, anaeróbios facultativos, com ampla faixa de temperatura de crescimento que varia entre 7°C e 47°C e de pH variando entre 4 e 6 (JAY, 1992).

O gênero *Salmonella* foi responsável por 515 surtos de doenças transmitidas por alimentos identificados no Brasil entre os anos de 2007 e 2017 de acordo com dados fornecidos pelo Sistema Único de Saúde, em um montante de 1886 casos causados por bactérias, tornando-se um dos agentes etiológicos mais representativos nestes números.

A legislação mineira que estabelece limites microbiológicos para Queijos Artesanais define ausência de *Salmonella* spp. em 25g do produto (MINAS GERAIS, 2012).

2.5 Microrganismos de Interesse Tecnológico

2.5.1 Bactérias Lácticas

As bactérias lácticas ou bactérias ácido lácticas, formadas principalmente por gêneros como *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* e *Bifidobacterium*, são microrganismos gram-positivos, negativos a testes como catalase, coagulase, oxidase e desenvolvem-se em ambientes anaeróbios estritos ou facultativos (BRUNO; CARVALHO, 2009).

De importância tecnológica, este grupo de bactérias tem característica de fermentar carboidratos e produzir a partir deste o ácido láctico ou lactato, podendo ser homofermentativas ou heterofermentativas, sendo a última, além de produzir o ácido láctico, produz CO₂ e outros produtos durante a fermentação (SILVA, 2010).

São consideradas as principais bactérias responsáveis pela inibição do crescimento de microrganismos indesejáveis via produção de ácidos orgânicos e bacteriocinas, atuando também de forma probiótica (ORTOLONI, 2009).

2.5.2 Bactérias Propiônicas

O gênero *Propionibacterium*, composto por principais espécies como *Propionibacterium freudenreichii* das subespécies *freudenreichii* e *shermanii* são

classificadas como mesófilas, com crescimento ótimo próximo de 30°C mantendo seu crescimento ainda aos 12°C (DIAS, 2011).

Fermentadoras de lactose, glicose e também do lactato, sendo o último o principal substrato para a fermentação, produzem o ácido láctico, ácido propiônico, ácido acético e succínico, além do CO₂. As bactérias propiônicas têm importante papel tecnológico em queijos, responsáveis pela produção de flavor e olhaduras em queijos (FREITAS, 2014).

3. REFERÊNCIAS

ABEIJÓN MUKDSI, M. C. *et al.* The Secreted Esterase of *Propionibacterium freudenreichii* Has a Major Role in Cheese Lipolysis. **Applied and Environmental Microbiology**, [s. l.], v. 80, n. 2, p. 751–756, 2014.

ABREU, C. F. C. De *et al.* **Caracterização da Região do Serro como Produtora de Queijo Minas Artesanal**, 2002. Disponível em: <[http://www.emater.mg.gov.br/doc/intranet/upload/queijo_historico/dossiê do serro def2.pdf](http://www.emater.mg.gov.br/doc/intranet/upload/queijo_historico/dossiê%20do%20serro%20def2.pdf)>

AZARNIA, S. *et al.* Proteolysis development in enzyme-modified Cheddar cheese using natural and recombinant enzymes of *Lactobacillus rhamnosus* S93. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 120, n. 1, p. 174–178, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.003>>

BRANT, L. M. F.; FONSECA, L. M.; SILVA, M. C. C. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo-de-minas artesanal do Serro-MG. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [s. l.], v. 59, n. 6, p. 1570–1574, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352007000600033&lng=pt&tlng=pt>

BRASIL. **Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017**. Riispoa, [s. l.], p. 1–108, 2017.

BRASIL.FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. **Manual prático de análise de água**. 4 ed. Brasília: Funasa, 2013. Disponível em: <http://www.funasa.gov.br/site/wp-content/files_mf/manual_pratico_de_analise_de_agua_2.pdf>

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 57 de 15 de dezembro de 2011. **Diário Oficial da União**, 30 de dezembro de 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 30 de 3 de agosto de 2013. **Diário Oficial da União**, 3 de agosto de 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Queijo**. Portaria no 146, de 07 de março de 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijo Parmesão, Parmesão, Reggiano, Reggianito e Sbrinz.** Portaria nº 353, de 4 de setembro de 1997.

BRUNO, L. M.; CARVALHO, J. D. G. C. Microbiota Láctica de Queijos Artesanais. **Microbiota Láctica de Queijos Artesanais - Embrapa Agroindústria Tropical**, [s. l.], p. 25, 2009.

COLLINS, Y. F.; MCSWEENEY, P. L. H.; WILKINSON, M. G. Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: A review of current knowledge. **International Dairy Journal**, [s. l.], v. 13, n. 11, p. 841–866, 2003.

COSTA JÚNIOR, L. C. G. *et al.* Maturação Do Queijo Minas Artesanal Da Microrregião Campo Das Vertentes E Os Efeitos Dos Períodos Seco E Chuvoso. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, [s. l.], v. 69, n. 2, p. 111, 2014. Disponível em: <<http://www.revistadoilct.com.br/rilct/article/view/326>>

DIAS, G. **Microfiltração como alternativa na produção de queijos com olhaduras e utilização da fase aquosa para avaliação de suas características físico-químicas.** 2011. Universidade Federal de Viçosa, [s. l.], 2011.

DORES, M. T. Das; FERREIRA, C. L. de L. F. Queijo Minas Artesanal, Tradição centenária: ameaças e desafios. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, [s. l.], v. 2, n. 2, p. 26–34, 2012.

DUARTE, J.A. **Mapa do Queijo de Minas Artesanal - Serro.** abr.2016. Disponível em: <<http://queijosecompanhia.blogspot.com.br/2016/04/mapa-do-queijo-de-minas-artesanal-serro.html>>. Acesso em: 03 dez. 2017

ESKIN, M.; SHAHIDI, F. **Bioquímica de Alimentos.** 3ª ed. Brasil: Elsevier Editora Ltda., 2015. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=_JbpCgAAQBAJ>

FIGUEIREDO, S. P. *et al.* Características do leite cru e do queijo Minas artesanal do Serro em diferentes meses. **Archives of Veterinary Science**, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 68–82, 2015.

FOX, P. F.; LUCEY, J. A.; COGAN, T. M. Glycolysis and related reactions during cheese manufacture and ripening. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [s. l.], v. 29, n. 4, p. 237–253, 1990.

FRANCO, B. D. G. de M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2003.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo. Editora Atheneu, 2008.

FREITAS, R. **Genetic and phenotypic diversity of autochthonous dairy propionibacteria isolated in Brazil**. 2014. Universidade Federal em Viçosa, [s. l.], 2014.

FROHLICH-WYDER, M. T.; BACHMANN, H. P.; CASEY, M. G. Interaction between propionibacteria and starter/non-starter lactic acid bacteria in Swiss-type cheeses. **Lait**, [s. l.], v. 82, n. 1, p. 1–15, 2002.

FURTADO, M. M. Fundamentos originais dos queijos grana italianos. **Inst. Latic. Cândido Tostes**, Jan/Fev, v.66, n. 378, p.40-50, 2011.

FURTADO, M. M. **Principais problemas dos queijos: causas e prevenções**. São Paulo, Brasil: Fonte comunicações e editora, 2005.

GAYA, P. *et al.* Proteolysis during ripening of Manchego cheese made from raw or pasteurized ewes' milk. Seasonal variation. **Journal of Dairy Research**, [s. l.], v. 72, n. 3, p. 287–295, 2005.

INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. **Portaria nº 1305 de 30 de Abril de 2013. Estabelece diretrizes para a produção do queijo Minas artesanal**. Belo Horizonte, Brasil.

JAY, J. M. **Modern food microbiology**. 4. Ed. New York: Chaoman & Hall, 1992. 701 p

LAVASANI, A. R. S. *et al.* Changes in physicochemical and organoleptic properties of traditional Iranian cheese Lighvan during ripening. **International Journal of Dairy Technology**, [s. l.], v. 65, n. 1, p. 64–70, 2012. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1471-0307.2011.00724.x>>

LIMA, M. dos S. F. De *et al.* Queijo de coalho artesanal: fonte alternativa de peptídeos antimicrobianos. **Brazilian Journal of Food Technology**, [s. l.], v. 20, n. 0, 2017. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1981-67232017000100440&lng=pt&tlng=pt>

MARTINS, J. M. **Características físico-químicas e microbiológicas durante a maturação do queijo Minas artesanal da região do Serro**. 2006. Universidade Federal de Viçosa, [s. l.], 2006.

MARTINS, J. M. *et al.* Determining the minimum ripening time of artisanal Minas cheese, a traditional Brazilian cheese. **Brazilian Journal of Microbiology**, [s. l.], v. 46, n. 1, p. 219–230, 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-83822015000100219&lng=en&nrm=iso&tlng=en>

MCSWEENEY, P. L. H. Biochemistry of cheese ripening. **International Journal of Dairy Technology**, [s. l.], v. 57, n. 2–3, p. 127–144, 2004. Disponível em: <<http://www.science-direct.com/science/article/pii/B9780123744074000807>>

MCSWEENEY, P. L. H.; SOUSA, M. J. Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. **Le Lait**, [s. l.], v. 80, n. 3, p. 293–324, 2000. Disponível em: <<http://www.edpsciences.org/10.1051/lait:2000127>>

MINAS GERAIS. Instituto Mineiro de Agropecuária. **Queijo Minas Artesanal - IMA**. Disponível em: <http://www.ima.mg.gov.br/queijo-minas-artesanal>. Acesso em: 30 out. 2017.

MINAS GERAIS. Instituto Mineiro de Agropecuária. **Queijo Minas Artesanal - IMA**. Disponível em: <http://www.ima.mg.gov.br/queijo-minas-artesanal>. Acesso em: 30 out. 2017.

MINAS GERAIS. Instituto Mineiro de Agropecuária. Portaria nº 1305, de 30 de abril de 2013. **Diretrizes para a produção do queijo Minas artesanal**.

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. **Diário Do Executivo**, Belo Horizonte, 19 de dezembro de 2012.

MINAS GERAIS. Assembleia Legislativa do Estado de Minas Gerais. Lei nº 19.492 de 13 de Janeiro de 2011. Altera dispositivos da lei nº 14.185, de 31 de janeiro de 2002, que dispõe sobre o processo de produção do queijo Minas artesanal e dá outras providências. **Diário Do Executivo**, Belo Horizonte, 14 de janeiro de 2011.

MINAS GERAIS. Decreto nº 44864 de 1 de agosto de 2008. Altera o Regulamento da Lei n. 14.185, de 31 de janeiro de 2002, que dispõe sobre o processo de produção de Queijo Minas Artesanal. **Diário do Executivo**, Minas Gerais. Pag. 1, Col.2, 2008.

MINAS GERAIS. Assembleia Legislativa do Estado de Minas Gerais. Lei nº 14185 de 31 de janeiro de 2002. Processo de Produção do Queijo Minas Artesanal. **Diário do Executivo**, Belo Horizonte, 01 de fevereiro de 2002.

MINAS GERAIS. Portaria nº 517 de 14 de junho de 2002. **Estabelece normas de defesa sanitária para rebanhos fornecedores de leite para a produção de Queijo Minas Artesanal.**

MINAS GERAIS. Portaria nº 518 de 14 de junho de 2002. **Dispõe sobre requisitos básicos das instalações, materiais e equipamentos para a fabricação do Queijo Minas Artesanal.**

MINAS GERAIS. Portaria nº 523 de 3 de julho de 2002. **Dispõe sobre as condições higiênico-sanitárias e boas práticas na manipulação e fabricação do Queijo Minas Artesanal.**

MONTEL, M.-C. *et al.* Traditional cheeses: Rich and diverse microbiota with associated benefits. **International Journal of Food Microbiology**, [s. l.], v. 177, p. 136–154, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.02.019>>

MOSS, M. Spoilage problems. Problems caused by Fungi. In: Robinson, R., Batt, C. & Patel, P. **Encyclopedia of food microbiology**. Bath: Academic Press, 2000.

NERO, L. A. *et al.* *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in raw milk produced in Brazil: Occurrence and interference of indigenous microbiota in their isolation and development. **Zoonoses and Public Health**, [s. l.], v. 55, n. 6, p. 299–305, 2008.

ORTOLONI, M. B. T. **Bactérias ácido lácticas autóctones de leite cru e queijo minas frescal: isolamento de culturas bacteriocinogênicas, caracterização da atividade antagonista e identificação molecular**. 2009. Universidade Federal de Viçosa, [s. l.], 2009. Disponível em: <<http://locus.ufv.br/handle/123456789/4974>>

OKURA, M. H.; MOACIR, J. Avaliação das condições higiênico-sanitárias de queijos Minas Frescal produzidos com leite cru, leite pasteurizado e de queijo temperado em alguns municípios da região do triângulo mineiro. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.65, n.375, p. 33-42, 2010

PERRY, K. S. P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**, [s. l.], v. 27, n. 2, p. 293–300, 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo.php?>

script=sci_arttext&pid=S0100-40422004000200020&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>

SÁ, J. F. O.; Caracterização microbiológica de doce de leite, leite condensado e queijo Minas Padrão por metodologia clássica e padronização de multiplex para detecção de patógenos por PCR em tempo real. 2012, 112f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2012

SILVA, M. C. D. *et al.* Influência dos procedimentos de fabricação nas características físico-químicas, sensoriais e microbiológicas de queijo de coalho. **Rev Inst Adolfo Lutz**, [s. l.], v. 69, n. 2, p. 214–221, 2010.

4 ARTIGO

4.1 MATURAÇÃO E CARACTERÍSTICAS DE QUALIDADE DO QUEIJO MINAS ARTESANAL DO SERRO-MG

RESUMO

Esta pesquisa foi conduzida objetivando-se avaliar a influência da maturação nas características de qualidade do Queijo Minas Artesanal do Serro, Minas Gerais. Os queijos foram produzidos e maturados nas condições de temperatura e umidade relativa do ar das queijarias de origem, durante o inverno de 2017. Os queijos foram maturados por 3, 8, 17, 38 e 60 dias. Avaliou-se firmeza, adesividade, acidez titulável, pH, umidade, proteína, profundidade de maturação, gordura, gordura no extrato seco, resíduo mineral fixo, cor ($L^*a^*b^*$, C e H°), número mais provável de coliformes a 35°C e 45°C, contagem total de bactérias lácticas em todos os tempos os tempos de maturação, *Staphylococcus* coagulase positiva nos tempos 3, 8 e 17 e *Salmonella* spp. no tempo 3 de maturação. Nas propriedades foram coletadas amostras do Pingo, nos quais foram mensuradas acidez titulável, pH, umidade, número mais provável de coliformes a 35 °C e 45 °C, contagem total de bactérias lácticas, mesófilos aeróbios, psicrotróficos, bactérias propiônicas e de fungos filamentosos e leveduras. O pingo utilizado na produção dos queijos avaliados nesta pesquisa apresentou umidade média de 87,52 g.100 g⁻¹ e sólidos totais em torno de 13,5 g.100 g⁻¹, acidez e pH foram respectivamente 0,91 g.100 g⁻¹ de ácido láctico e 4,96. Para coliformes a 35°C e 45°C foram encontradas contagens médias de 1,98 log NMP.g⁻¹, bactérias lácticas de 6,12 log UFC.ml⁻¹, fungos filamentosos e leveduras 6,68 log UFC.ml⁻¹ e para microrganismos psicrotróficos, não se observou contagens. Nos Queijos não houve variação (P>0,05) nos tempo de maturação no pH, acidez titulável, resíduo mineral fixo, gordura em base seca e profundidade de maturação. Houve (P<0,05) redução na umidade e aumento no teor de proteína e de gordura. Houve redução (P<0,05) da luminosidade da casca (L^* Cas) nos queijos. A intensidade de b^* da casca (b^* Cas) aumentou (P<0,05) até o trigésimo oitavo dia, enquanto b^* do centro (b^* C) aumentou durante todos os períodos de maturação, ambos se comportando de forma quadrática durante os tempos. Os queijos se tornaram (P<0,05) mais

firmes, com o passar do tempo de maturação. Entretanto, não houve variação ($P > 0,05$) da sua adesividade ou aderência entre queijo e outro objeto. Observou-se nos queijos com 3, 17 e 38

dias valores de números mais prováveis para coliformes a 35°C e 45°C superiores aos permitidos pela legislação vigente. Para as bactérias lácticas, observou-se contagens variando entre 4,47 log UFC.g⁻¹ e 6,96 log UFC.g⁻¹. Não foi detectada *Salmonella* spp. No dia três a média para *Staphylococcus* foi superior ao preconizado na legislação, já nos dias 8 e 17 estavam dentro do padrão legislativo. Independentemente do tempo de maturação, os queijos analisados foram classificados como Queijo Gordo e a partir do vigésimo terceiro dia de maturação até o quinquagésimo como queijos de média umidade.

Palavras-chave: Coliformes. Cor. Firmeza. Proteína. Umidade.

ABSTRACT

This research was performed with the objective of evaluating the influence of ripening on the quality characteristics of Serro's Artisanal Minas Cheese from Minas Gerais. The cheeses were produced and ripened under the conditions of temperature and air relative humidity of the original cheese dairies during the winter of 2017. The cheeses were ripened for 3, 8, 17, 38 and 60 days. It was analyzed the firmness, adhesiveness, titratable acidity, pH, humidity, protein, ripening depth, fat, corrected fat for dry mass, fixed mineral residue, color ($L^*a^*b^*$, C and H°), the most probable number of coliforms at 35 °C and at 45 °C (95 °F and 113 °F), total lactic bacteria count at all times of maturation, coagulase-positive *staphylococci* at times 3, 8 and 17 and *Salmonella* spp. at time 3 of maturation. In the properties, samples of the Pingo were collected, in which titratable acidity, pH, humidity, the most probable number of coliforms at 35 °C and at 45 °C, total lactic bacteria count, aerobic mesophiles, psychrotrophs, propionic bacteria and yeast and filamentous fungi were determined. The Pingo used at cheeses production presented average humidity of 87.5 g.100g⁻¹ and total solids around 13,5 g.100 g⁻¹, acidity and pH, respectively, 0,91 g.100g⁻¹ of lactic acid and 4,96. For coliforms at 35°C and 45°C were found average counts of 1,98 log MPN.g⁻¹, lactic bacteria of 6,12 log CFU.ml⁻¹, yeast and filamentous fungi 6,68 log CFU.ml⁻¹ and for psychrotrophic microorganisms, no counts were observed. There was no effect ($P>0.05$) of ripening time on cheeses' pH, titratable acidity, fixed mineral residue, fat on dry basis and ripening depth. There was a reduction ($P<0.05$) in humidity and an increase in protein and fat content. There was a decrease ($P<0.05$) in the rind luminosity (L^* Cas) of the cheeses. The intensity of rind b^* (b^* Cas) increased ($P<0.05$) up to the thirty-eighth day, while central b^* (b^* C) increased during all ripening periods, both behaving quadratically during the times. The cheeses became ($P<0.05$) firmer as ripening time went by. However, there was no variation ($P>0.05$) of its adhesiveness or adhesion between cheese and another object. Cheeses with 3, 17 and 38 days values of the most probable coliform numbers at 35° C and 45° C were higher than allowed by current legislation. For lactic bacteria, counts ranged from 4.47 log CFU.g⁻¹ to 6.96 log CFU.g⁻¹. No presence of *Salmonella* spp. in any sample. At day three the average for *Staphylococcus* was higher than that recommended in legislation, though on days 8 and 17 were within the legislative standard.

INTRODUÇÃO

O Queijo Minas Artesanal do Serro, artesanalmente produzido utilizando-se leite cru de vaca, sal, coalho e Pingo, remonta à história, à cultura e aos sabores característicos desta região. Devido a sua importância, foi registrado no Livro de Saberes pelo Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional (IPHAN). Um pouco mais tarde, em 2011 era o primeiro alimento brasileiro a receber certificação de Indicação Geográfica (IG) do Instituto Nacional de Proteção Intelectual (INPI), agregando valor e garantindo qualidade e procedência do produto.

O Queijo Minas Artesanal é produzido manualmente em local conhecido como “casa do queijo”, onde em no máximo noventa minutos após a ordenha, inocula-se ao leite o coalho e o Pingo, coletado a partir da sinérese de queijos com dois dias de produção, os quais vão coagular o leite, para posteriormente realizar o corte da massa, agitação, enformagem, prensagem manual e salga a seco na superfície. No terceiro dia é desenformado e levado à câmara de maturação (MINAS GERAIS, 2012; BRANT; FONSECA; SILVA, 2007; MARTINS, 2006; PERRY, 2004).

Durante a maturação ocorrem diversas reações químicas, físicas e bioquímicas que alteram as características do produto, podendo ser considerada como uma das etapas mais importantes na melhoria das características do queijo (COSTA JÚNIOR *et al.*, 2014). Alterações na microbiota e modificações bioquímicas decorrem da maturação, estando estes fenômenos interligados de forma complexa e essenciais ao desenvolvimento de características sensoriais para o produto final, especialmente sabor, aroma, textura e acontecem nos principais componentes dos queijos: lactose, proteína e lipídeos (ABEIJÓN MUKDSI *et al.*, 2014; MCSWEENEY, 2004).

Hidrolisada pelas vias glicolíticas ou enzimáticas a lactose é utilizada por bactérias lácticas que produzem o L-lactato ou o D-lactato durante o processo de maturação. O aumento deste substrato pode tornar o meio favorável para o desenvolvimento de bactérias secundárias, que ao consumir o lactato, reduzem a acidez e favorecem o desenvolvimento de bactérias sensorialmente benéficas ao queijo, que até então, não dispunham de condições apropriadas para se desenvolver (MCSWEENEY; SOUSA, 2000).

Além da produção de ácidos orgânicos, as reduções do pH e da umidade que ocorrem durante a maturação, podem auxiliar positivamente na diminuição de possíveis patógenos e/ou contaminantes, tornando o queijo mais seguro (NERO *et al.*, 2008). Ainda

durante o processo de maturação, a perda de umidade pode influenciar na cor e na textura do produto final (FIGUEIREDO *et al.*, 2015).

Durante a maturação, as proteínas são hidrolisadas, originando inicialmente peptídeos de alto peso molecular, posteriormente de menor peso molecular, podendo chegar até aminoácidos e produtos de sua degradação. Este processo de proteólise está ligado a importantes modificações complexas, influenciando ativamente o sabor, aroma e textura (AZARNIA *et al.*, 2010; LIMA *et al.*, 2017). Proteínas como a Alfa-S1-Caseína, que de acordo com a Associação Brasileira de Alergia e Imunologia (ASBAI) estão ligadas a processos alérgicos, durante a maturação podem ser proteolisadas por atividades de proteases em queijos (GAYA *et al.*, 2005).

As lipases naturalmente presentes no leite cru, provenientes de microrganismos iniciadores ou secundários inoculados junto ao soro fermento, Pingo, são responsáveis pela hidrólise dos lipídeos, lisando ligações tipo éster, liberando ácidos graxos, principalmente de cadeias curtas, responsáveis por produzir sabores e aromas nos queijos, trazendo, em algumas vezes notas rançosas, pungentes e frutadas em períodos mais avançados da maturação (COLLINS; MCSWEENEY; WILKINSON, 2003; LAVASANI *et al.*, 2012). São também responsáveis por produzir cor, tendo em vista sua capacidade de solubilizar provitaminas, como os carotenoides. A mudança de cor dos queijos pode também ser influenciada por variações sazonais e pelo período de maturação ao qual é submetido (FIGUEIREDO *et al.*, 2015).

A cada dia, mais produtores optam por maturar seus queijos por períodos superiores ao recomendado (17 dias). A grande motivação tem sido a expressão do *terroir* da propriedade que se deve às variações edafoclimáticas, microbiota local e características do leite cru, além da agregação de valor ao produto.

Considera-se haver uma nova Era na produção do Queijo Minas Artesanal do Serro, que se iniciou no ano de 2002, com a publicação da Lei nº 14.185, de 31 de janeiro de 2002 (MINAS GERAIS, 2002), e com o registro deste produto, neste mesmo ano, como patrimônio imaterial do Estado de Minas Gerais, pelo Instituto Estadual do Patrimônio Histórico e Artístico (Iepha/ MG).

Ressalta-se ter havido, antes deste momento e desde a publicação do Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (R.I.I.S.P.O.A., 1952), a fase de condenação deste produto, cuja produção teve início nos primórdios do ciclo da mineração, durante período colonial. Nesta nova Era de produção deste queijo, a maturação

tem sido cada vez mais praticada pelos produtores. Entretanto, por ser tão recente, é fundamental de se pesquisar as variações que acontecem nos produtos, com a finalidade de se compreender quais variações são desejáveis e relacionadas ao desenvolvimento do *terroir* e quais são indesejáveis, decorrentes de falhas no processo.

Considerando-se o exposto, esta pesquisa foi conduzida com o objetivo de se avaliar as características de qualidade do Queijo Minas Artesanal do Serro, Minas Gerais, maturado por diferentes tempos.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem

Amostras de Queijo Minas Artesanal do Serro, totalizando 25, foram coletadas em cinco queijarias artesanais cadastradas no Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA), localizadas na região do Serro, Minas Gerais, que já praticavam a maturação do queijo para a comercialização. A altitude média das queijarias estudadas é de 871 ± 223 m. As coletas aconteceram durante o período de inverno seco (21/06/2017 a 19/08/2017). Nesta época a temperatura média no interior das salas de maturação foi de 17°C e a umidade relativa do ar de 78,77%, parâmetros estes mensuradas por medidores acoplados com 'Datalogger' que monitoravam de 1 em 1 hora estes valores. Em cada uma destas propriedades foram coletadas duas amostras de Pingo que foi caracterizado físico-química e microbiologicamente neste trabalho.

Os queijos foram maturados nas condições ambientais de temperatura e umidade relativa do ar das queijarias por 3, 8, 17, 38 e 60 dias em diferentes lotes de produção. As amostras foram coletadas e transportadas em caixas isotérmicas para o Setor de Ciência e Tecnologia dos Produtos de Origem Animal (CTPOA), do Departamento de Zootecnia, da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM).

O experimento foi conduzido seguindo o delineamento em blocos casualizado com 5 tempos de maturação (3, 8, 17, 38, 60 dias) e 5 propriedades (blocos e as repetições).

Análises físico-químicas e instrumentais

Acidez titulável e pH dos queijos e Pingo

A acidez dos queijos foi determinada em alíquotas de 10 g, homogeneizadas em 50 mL de água destilada a 40°C, ausente de CO₂, adicionadas de Fenolftaleína e tituladas com solução hidróxido de sódio 0,1 N. Para a determinação da acidez titulável do Pingo, alíquotas de 10 ml de amostra, indicador ácido-base fenolftaleína e a titulação foi realizada com solução de hidróxido de sódio a 0,1 N (BRASIL, 2006; HORWITZ; LATIMER, 2005).

O pH dos queijos foi determinado a partir da homogeneização de alíquotas de 10 g de queijo em 20 mL de água destilada (BRASIL, 2008, 2006; HORWITZ; LATIMER,

2005). Para o Pingo foi realizada leitura direta em alíquotas de 10 mL. Utilizou-se o peagâmetro modelo mPA-210 (MS TECNOPON), acoplado com eletrodo de imersão.

Teor de Gordura dos queijos

Os teores de gordura dos queijos foram determinados pelo método butirométrico de Gerber (BRASIL, 2008, 2006; HORWITZ; LATIMER, 2005).

Teores de umidade e massa seca dos queijos e Pingo

Para a determinação do teor de umidade ($\text{g}\cdot 100\text{ g}^{-1}$) de alíquotas de 5 g de queijos e 5 mL de Pingo foram dessecadas em estufa ($102^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) procedendo-se a pesagens até peso constante (BRASIL, 2008, 2006; HORWITZ; LATIMER, 2005). A massa seca ($\text{g}\cdot 100\text{ g}^{-1}$) foi obtida por cálculo ($\text{MS}=100-U$).

Teor de resíduo mineral fixo dos queijos e Pingo

Resíduo mineral fixo ($\text{g}\cdot 100\text{ g}^{-1}$) foi obtido por incineração de alíquotas de 5 g de queijo e 5 mL de Pingo, em mufla a 500°C procedendo-se as pesagens e cálculo (BRASIL, 2006; HORWITZ; LATIMER, 2005).

Teor de proteína e profundidade de maturação dos queijos

O teor de proteína ($\text{g}\cdot 100\text{ g}^{-1}$) foi quantificado pelo método de semi-micro Kjeldahl, compreendendo os processos de digestão, destilação e titulação com solução padrão de ácido clorídrico $0,1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (BRASIL, 2006; HORWITZ; LATIMER, 2005). Foi empregado o fator 6,38 para o cálculo do teor de proteína total do queijo.

A determinação da profundidade da maturação foi calculada conforme proposto por Wolfshoon-Pombo (1983), obtida através da razão entre o nitrogênio solúvel em Ácido Tricloroacético a 12% e o Nitrogênio total multiplicando por 100.

Luminosidade e cor dos queijos

A luminosidade (L^*), intensidade de vermelho-verde (a^*) e intensidade de amarelo-azul (b^*) dos queijos foram determinadas na casca e centro geométrico, com o uso do colorímetro Chroma Meter CR-400 (Konica Minolta, Japão), empregando-se o iluminante D 65 e a geometria 45/0. Os valores foram expressos no sistema CIELAB. Calculou-se o matiz ($H^\circ = \arctan b^*/a^*$) e croma [$C = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$], conforme descrito em Konica Minolta Sensing (2007).

Firmeza e adesividade dos queijos

A firmeza (g) e a adesividade (g.s^{-1}) dos queijos foram mensuradas com auxílio do texturômetro TA.XT2 plus® Stable Micro Systems (Stable Micro Systems, Haslemere, Reino Unido) acoplado com a sonda de fio metálico. Amostras, coletadas na região central dos queijos, foram preparadas em formato cilíndrico com 20 mm de diâmetro e 20 mm de altura. Os dados de firmeza (picos positivos máximos) e adesividade (áreas negativas do gráfico) foram obtidos empregando-se o programa Exponent Lite versão 5.1 (Stable Micro Systems, Haslemere, Reino Unido). O equipamento foi calibrado com peso padrão de 5 kg, com velocidade de descida e de corte do dispositivo de $200 \text{ mm.minuto}^{-1}$, velocidade de pré-teste, teste e de pós-teste de 2 mm.s^{-1} e distância de penetração de 15 mm (VALLE *et al.*, 2004).

Análises Microbiológicas

Coliformes totais e termotolerantes nos queijos e Pingo

Coliformes a 35°C e 45°C foram obtidos pela técnica do número mais provável, empregando-se séries de três tubos. Os resultados foram expressos em NMP.mL^{-1} para o Pingo e NMP.g^{-1} para os queijos (SILVA *et al.*, 2010). Para o teste presuntivo de coliformes a 35°C utilizou-se caldo Lauril Sulfato Triptose (MICROMED - Brasil) e incubação em estufa tipo BOD a 35°C por 24/48 horas. Para o teste confirmativo de coliformes a 35°C , dos tubos do teste presuntivo, com reação positiva, foram transferidas alíquotas para tubos contendo caldo bile verde brilhante (HIMEDIA - Índia), com incubação a 35°C por 24/48 horas. Coliformes a 45°C foram quantificados com a transferência de alíquotas dos tubos com reação positiva para o teste presuntivo de coliformes a 35°C para tubos contendo caldo EC (MICROMED - Brasil), com incubação em banho-maria a 45°C por 24/48 horas.

Contagem total de bactérias lácticas nos queijos e Pingo

A contagem total de bactérias lácticas foi realizada pela inoculação de alíquotas de diluições apropriadas em placas de Petri, sobre as quais foram vertidas ágar de Man, Rogosa & Sharpe (KASVI - Itália), em camada e sobrecamada, com incubação a 32 °C por 48 horas. Após enumeração das colônias os resultados foram expressos em UFC.mL⁻¹ para o Pingo e UFC.g⁻¹ para o queijo (SILVA *et al.*, 2010).

Contagem de *Staphylococcus coagulase positiva* nos queijos

A enumeração de *Staphylococcus* spp. foi realizada nos dias 3, 8 e 17 de maturação dos queijos pela inoculação de alíquotas em diluições apropriadas em placas de Petri contendo ágar Baird-Parker (ACUMEDIA - EUA), e incubados a 35°C por 48 horas. Após contagem das colônias, os resultados foram expressos em UFC.g⁻¹. Posteriormente, cinco colônias dentre as típicas e atípicas de cada placa foram selecionadas para o teste de coagulase, após cultivadas em caldo infusão cérebro coração (HIMEDIA - Índia), foram testadas em Coagulase Plasma-EDTA (LABORCLIN - Brasil) (SILVA *et al.*, 2010)

Contagem de *Salmonella* spp. nos queijos

Para enumeração de *Salmonella* spp., realizada no tempo 3 de maturação, utilizou-se água peptonada para o pré-enriquecimento, posteriormente realizou-se o enriquecimento seletivo em Caldo Tetrato e Caldo Selenito Cistina. Em sequência, realizou-se o plaqueamento em Ágar Bismuto Sulfito e Agar Entérico Hektoen. Isolou-se colônias típicas em Agar nutriente para realização de testes bioquímicos (SILVA *et al.*, 2010).

Contagem total de fungos filamentosos e leveduras no Pingo

A contagem de fungos filamentosos e levedura foi realizada pela incubação de alíquotas de diluições apropriadas em placas de Petri contendo ágar Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (ACUMEDIA - EUA), com incubação a 25 °C por 3 a 5 dias. Após a enumeração das colônias, os resultados foram expressos em UFC.g⁻¹.

Contagem de bactérias Propiônicas no Pingo

A contagem de bactérias Propiônicas foi realizada utilizando-se alíquotas de 1 mL de Pingo, diluída em 9 mL de água salina (NaCl 0,85% m/v) esterilizada e homogeneizada, posteriormente, diluições apropriadas foram realizadas e procedeu-se com plaqueamento em camada e sobrecamada em ágar Yeast Extract Lactate Agar (YEL). As placas foram incubadas a 30 °C durante 5 dias em condição de anaerobiose (MALIK *et al.*, 1968).

Contagem de microrganismos psicrotróficos no Pingo

Microrganismos psicrotróficos foram quantificados por incubação em profundidade, de alíquotas de diluições apropriadas em placas de Petri, utilizando-se ágar padrão para contagem (PCA). A incubação foi realizada em estufas do tipo BOD, em temperatura de $7 \pm 1^\circ\text{C}$ por 10 dias (SILVA *et al.*, 2007).

Análises Estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas no programa R (R CORE TEAM, 2017) utilizando-se nível de significância de 5%.

O teste F foi aplicado na análise de variância. As pressuposições de normalidade dos resíduos, homoscedasticidade, independência do resíduo e aditividade foram avaliadas por meio dos testes de Shapiro-Wilk (SHAPIRO; WILK, 1965), (BARTLETT, 1937), Durbin-Watson (DURBIN; WATSON, 1950, 1951) e Tukey para aditividade (TUKEY, 1949), respectivamente.

Para variáveis onde o teste F foi significativo ($P < 0.05$) e as pressuposições foram todas atendidas ($P > 0.05$) prosseguiu-se com a análise de regressão linear. Foram avaliados modelos lineares de primeiro, segundo e terceiro grau, escolhendo o modelo mais parcimonioso com base na sua significância a 5% de probabilidade, maior coeficiente de determinação e menor erro padrão. Nos casos onde as pressuposições do teste F foram violadas ($P < 0.05$), adotou-se a transformação logarítmica das variáveis seguida pela regressão. Em casos onde a transformação não foi suficiente, foi aplicado o teste não paramétrico de Friedman (FRIEDMAN, 1937) adotando também nível de significância de 5% seguida pela análise de regressão linear ponderada pelo inverso da variância como fator de ponderação.

Os dados microbiológicos foram modelados por meio da regressão binomial negativa (HILBE, 2011), uma vez que as variáveis estudadas apresentaram médias diferentes da variância. Foram avaliados os modelos de primeiro, segundo e terceiro grau, sendo escolhido o modelo mais parcimonioso com base no critério de informação de Akaike (AIC) (AKAIKE, 1974). Os resultados foram apresentados como contagem média esperada para cada tempo de maturação seguidos pelo intervalo de 95% de confiança.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Características físico-químicas do Pingo e do Queijo Minas Artesanal do Serro

Na Tabela 1 são apresentadas as características físico-químicas e microbiológicas do pingo utilizado na fabricação dos queijos analisados.

Tabela 1 - Parâmetros físico-químicos do Pingo.

Variável	Média	dp	CV (%)
Acidez (g.100g ⁻¹)	0,91	0,3020	32,80
pH	4,86	0,2045	4,20
Umidade (g.100g ⁻¹)	87,52	1,9948	2,27
Coliformes a 35°C	1,98 log NMP.g ⁻¹	1,1947	60,32
Coliformes a 45°C	1,98 log NMP.g ⁻¹	1,1947	60,32
BAL	6,12 log UFC.g ⁻¹	0,6228	10,16
Fungos e leveduras	5,84 log UFC.g ⁻¹	0,6032	10,32
Bactérias propiônicas	6,68 log UFC.g ⁻¹	0,4460	6,66
Psicrotróficos	Aus.	-	-

Fonte: Próprio autor. Legenda: dp = Desvio padrão; CV = Coeficiente de variação; Aus. = ausência

Valores médios de umidade encontrados no Pingo foram de 87,52 g.100 g⁻¹, resultando em valores de sólidos totais em torno de 13,5 g.100 g⁻¹. Os sólidos totais no soro líquido ácido, encontram-se em torno de 5 g.100 g⁻¹ (BRASIL, 2013). O valor superior de sólidos no Pingo, quando comparado ao soro líquido pode ser explicado pelo fato que o Pingo é coletado apenas no segundo dia de produção, o qual, encontra-se mais concentrado e com menos água.

Os valores médios de acidez e pH foram respectivamente 0,91 g.100g⁻¹ de ácido lático e 4,96, indicando um produto ácido, que se deve a atividade de bactérias lácticas produtoras de ácido lático, que são predominantemente encontradas no Pingo (FURTADO, 1990).

Valores médios para coliformes a 35°C e 45°C encontrados nas amostras de Pingo foram de 1,98 log NMP.g⁻¹. A legislação não define valores a serem atingidos neste parâmetro para o fermento láctico natural, no entanto, valores de 3 log UFC/ml foram considerados altos por Martins (2006) ao estudar o Pingo utilizado na região do Serro, encontrando valores de até 3.03 log UFC.ml⁻¹ na época de seca e 3,38 log UFC.ml⁻¹ na época das águas. Neste trabalho 60% das amostras analisadas atingiram valores inferiores a 3 log UFC.ml⁻¹. Os

valores encontrados para coliformes a 45°C foram os mesmos observados para coliformes a 35°C.

A contagem média encontrada para bactérias lácticas foi de 6,12 log UFC.ml⁻¹. Furtado (1990), cita as bactérias lácticas como principais microrganismos presentes no Pingo, explicando sua alta prevalência nas amostras avaliadas neste trabalho e possivelmente explicando o alto valor de ácido láctico e baixo valor de pH observado. Em contrapartida, Paiva *et al.* (2016) ao estudarem o efeito da adição do Pingo na contagem de bactérias lácticas do queijo do Serro em quatro tempos de maturação, não observou diferença significativa entre os queijos produzidos com e sem o fermento láctico natural.

Valores médios de 5,84 log UFC.ml⁻¹ foram encontrados para contagem de fungos filamentosos e leveduras, 6,68 log UFC.ml⁻¹ para bactérias propiônicas e para microrganismos psicrotrofos, não se obteve contagens.

O desenvolvimento de bactérias propiônicas, assim como leveduras e fungos filamentosos, possivelmente inoculados pelo Pingo durante a produção do queijo, tendem a reduzir a acidez do produto durante a maturação, ao consumirem o ácido láctico produzido bactérias lácticas. Esta redução na acidez favorece o desenvolvimento de outras bactérias sensorialmente benéficas ao queijo (MCSWEENEY; SOUSA, 2000).

Os psicrotrofos compõem um grupo de microrganismos com capacidade de se desenvolverem em temperaturas de refrigeração e contribuindo também, negativamente com sabores amargos em queijos. A contagem deste grupo de bactérias avalia o nível de deterioração de alimentos, frente à capacidade de desenvolvimento em ampla faixa de temperatura e neste trabalho, não observou-se enumeração destes microrganismos (FURTADO, 2005).

Na Tabela 2 são apresentadas as características físico-químicas, instrumentais e microbiológicas do Queijo Minas Artesanal do Serro maturado por cinco diferentes tempos, 3, 8, 17, 38 e 60 dias.

Tabela 2 – Características físico-químicas instrumentais e microbiológicas de Queijo Minas Artesanal do Serro em diferentes tempos de maturação.

Parâmetro	Tempo de Maturação					Equação	p-valor	R ²	dp
	3	8	17	38	60				
pH	5,11	4,95	5,16	5,14	5,22	$\hat{Y} = 5,11$	0,32	---	0,20
Acidez	0,66	0,91	0,70	0,71	0,66	$\hat{Y} = 0,73$	0,27	---	0,19
Umidade	55,6	51,8	45,8	39,9	33,3	$\hat{Y} = 54,65 - 0,37 X$	< 0,001	0,68	5,55
RMF	3,81	3,59	4,08	3,51	4,08	$\hat{Y} = 3,81$	0,14	---	0,43
Proteína	23,6	24,5	26,3	32,6	35,1	$\log(\hat{Y}) = 3,14 + 0,007 X$	< 0,001	0,72	0,09
PM%	8,74	11,8	10,6	7,05	10,2	$\hat{Y} = 9,69$	0,10	---	2,97
Gordura	21,5	23,7	27,0	28,3	33,9	$\hat{Y} = 21,96 + 0,20 X$	< 0,001	0,68	2,91
GES	48,3	48,9	49,8	47,6	50,8	$\hat{Y} = 49,09$	0,73	---	3,51
L* Cas	88,2	84,2	77,6	71,5	66,9	$\hat{Y} = 90,42 - 0,78 X + 0,007 X^2$	< 0,001	0,86	0,96
L*C	88,3	90,2	88,8	89,7	84,7	$\hat{Y} = 88,33$	0,06	---	4,06
a* Cas	-2,42	-1,55	0,27	1,30	2,52	$\hat{Y} = -2,68 + 0,10 X$	< 0,001	0,82	1,18
a* C	-2,34	-2,73	-2,91	-2,46	-2,92	$\hat{Y} = -2,67$	0,48	---	0,61
b*Cas	15,6	21,0	25,4	26,2	24,6	$\hat{Y} = 13,72 + 0,68 X - 0,008 X^2$	< 0,001	0,83	1,03
b*C	16,0	16,9	18,5	21,0	21,4	$\hat{Y} = 15,29 + 0,22 X - 0,002 X^2$	< 0,001	0,73	1,36
Fz (g)	530	817	1150	1890	1550	$\hat{Y} = 528,85 + 28,96 X$	0,01	0,28	0,98
Ad (g)	-17,9	-16,6	-15,8	-17,5	-29,2	$\hat{Y} = -19,40$	0,34	---	57,98
Matiz Cas	81,1	61,1	85,2	75,2	84,3	$\hat{Y} = 77,37$	0,07	---	18,28
Matiz C	81,7	80,8	81,1	71,3	82,2	$\hat{Y} = 79,42$	0,57	---	10,92
Croma Cas	15,8	21,1	25,5	26,2	24,8	$\hat{Y} = 15,53 + 0,62 X - 0,008 X^2$	< 0,001	0,51	3,75
Croma C	16,2	17,1	18,7	21,2	21,6	$\hat{Y} = 15,49 + 0,22 X - 0,002 X^2$	< 0,001	0,73	1,38
C. 35	3,90	3,41	3,43	4,94	2,53	$\log(\hat{Y}) = 10,154 - 0,456 * \text{tempo} + 0,024 * \text{tempo}^2 - 0,0003 * \text{tempo}^3$	-	-	-
C. 45	2,53	2,43	2,93	4,94	2,53	$\log(\hat{Y}) = 6,372 - 0,237 * \text{tempo} + 0,020 * \text{tempo}^2 - 0,0003 * \text{tempo}^3$	-	-	-
BAL	4,74	4,47	4,77	6,96	6,04	$\log(\hat{Y}) = 7,38 + 0,26 X - 0,002 X^2$	-	-	-
Salmonella spp.	Aus.	-	-	-	-	-	-	-	-
S. coag. Positiva	5,64	2,20	2,90	-	-	$\log(\hat{Y}) = 3,58$	-	-	-

Fonte: Próprio autor. Legenda: PM = Profundidade de maturação, GES = gordura no extrato seco, L* = luminosidade; a* = intensidade de vermelho-verde; b* = intensidade de amarelo-azul; Cas = Casca do queijo; C = Centro geométrico do queijo; Fz = Firmeza e Ad = Adesividade; RMF = Resíduo mineral fixo; C. 35°C= coliformes a 35°C; C. 45°C= coliformes a 45°C; BAL= bactérias lácticas; Aus.= Ausência em 25g. dp = desvio padrão.

Não houve variação ($P > 0,05$) no pH, acidez, resíduo mineral fixo, profundidade de maturação, gordura no extrato seco, luminosidade do centro (L*C), intensidade de vermelho-verde do centro (a* C) e Matiz da casca e do centro nos diferentes tempos de maturação pesquisados.

A acidez titulável não variou ($P>0,05$) durante os tempos observados, o mesmo fato foi observado por Martins *et al.*, (2015) ao estudar o Queijo Minas Artesanal do Serro em diferentes tempos de maturação. No entanto, Figueiredo *et al.*, (2015), ao comparar a acidez de Queijos Minas artesanais do Serro em diferentes tempos de maturação, durante a época seca e chuvosa observou diferenças neste parâmetro ao longo da maturação.

A constância da acidez e pH observada durante os tempos de maturação estudados pode ser explicado devido ao fato que, mesmo com a produção de ácido láctico que decorre a partir da hidrólise da lactose, há formação de compostos tamponantes e alcalinos, tendendo a estabilizar a acidez e o pH, como é o caso da hidrólise de proteínas, liberando compostos alcalinos, como os próprios aminoácidos (GALÁN; CABEZAS; FERNÁNDEZ-SALGUERO, 2012).

Valores de pH não variaram ($p>0,05$), apresentando média de 5,11. Este valor observado torna facilitado os processos da maturação, por estar entre a faixa de 4,85 e 5,20 favorecendo transformações físico-químicos e microbiológicos no queijo (COSTA JÚNIOR *et al.*, 2014).

Nesta pesquisa, o Queijo Minas Artesanal do Serro foi considerado um alimento pouco ácido ($pH > 4,5$), tornando possível o crescimento de uma variada microbiota, inclusive as patogênicas, bolores e leveduras. No entanto a estabilidade e segurança microbiológica do queijo não está ligada apenas a um fator isolado, mas a um conjunto de fatores intrínsecos e extrínsecos, que controlam o crescimento de possíveis patógenos, tornando necessário cuidado com a higiene e boas práticas nas fases de produção e conservação deste produto (PINTO *et al.*, 2017).

Os valores de umidade apresentaram diferenças durante os tempos estudados, observando-se um comportamento linear negativo durante os diferentes períodos ($p>0,05$). Já para o resíduo mineral fixo não houve variação ($p>0,05$) durante os tempos.

Segundo o Decreto 44864 de 01 de agosto de 2008, que dispõe sobre o processo de produção de Queijo Minas Artesanal, define-se que o produto deve ter umidade máxima de $45,9 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ao ser comercializado (MINAS GERAIS, 2008). No entanto, os queijos só atingiram os valores legais a partir do vigésimo terceiro dia de maturação. De acordo com o Ministério da Agricultura e do Abastecimento, pela Resolução Nº 7 de 28 de novembro de 2000 que promove alterações no Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA, define-se o Queijo Minas Artesanal do Serro, como queijo de média umidade ($36,0 \text{ a } 45,9 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$), não se enquadrando, então, nesta denominação os queijos analisados neste trabalho até o período de 23 dias de maturação, sendo considerados

queijos de alta umidade (46 a 54,9 g.100 g⁻¹) e a partir do dia 50, os queijos foram classificados como baixa umidade, quando a umidade observada já se encontrava inferior a 36 g.100 g⁻¹ (BRASIL, 2000). Resultados semelhantes foram encontrados por Machado *et al.*, (2004), que ao analisar queijos do Serro em torno de 6 dias após produção, se enquadraram na classificação de queijos de alta umidade.

Os valores de proteína bruta e gordura, de forma contrária à umidade, tenderam a aumentar linearmente ($P < 0,05$) nos tratamentos. Ao perder umidade para o ambiente durante o processo de maturação, os sólidos se concentram na matriz do queijo. Comportamento semelhante foi observado por Martins *et al.*, (2015) nos dois parâmetros, ao avaliarem queijos da região do Serro maturados entre 08 e 64 dias de maturação. Pinto *et al.*, (2017), observaram valores médios inferiores de proteína e superiores de gordura e umidade, ao avaliar queijos da região de Montes Claros no oitavo dia de maturação, o que pode ser influência na forma de preparo do produto, matéria prima e condições edafoclimáticas e microbiota locais.

Para os teores de gordura, observou-se variação durante os períodos de maturação, aumentando linearmente durante os tempos observados ($P < 0,05$). No entanto, os valores de gordura no extrato seco (GES) não variaram, apresentando média de 49,09 g.100 g⁻¹, classificando o queijo como gordo (Gordura no extrato seco entre 45,0 e 59,9 g.100 g⁻¹) em todos os períodos de maturação. A variação da gordura e a não variação da GES é explicado pelo fato que esta é calculada por uma relação entre a gordura e o extrato seco total dos queijos, que se comportaram de forma crescente, tornando o GES constante nos tempos avaliados.

Os valores médios do Índice de profundidade de maturação não foram influenciados ($p > 0,05$) pelos tempos de maturação aplicados, sendo que o seu valor médio foi de 9,69. Cavalcante *et al.* (2007), ao avaliar a profundidade de maturação durante períodos de 10, 20 e 30 dias de maturação, em queijos produzidos a partir de leite pasteurizado observaram valores muito inferiores à média encontrada neste trabalho, sendo 1,05, 0,86 e 1,98 respectivamente aos tempos estudados. Em contrapartida, Machado *et al.* (2004) encontraram valores médios semelhantes, de 9,18 para queijos do Serro, produzidos a partir de leite cru, com 6 dias de maturação. Estes resultados podem evidenciar a importância do leite cru e sua microbiota endógena para o maior índice de proteólise encontrado no queijo artesanal.

O Índice de profundidade de maturação indica a hidrólise de proteínas e peptídeos de grande peso molecular em peptídeos de baixo peso molecular, até aminoácidos. Este índice

se relaciona de forma direta com as enzimas da cultura utilizada para produção do queijo e com os possíveis agentes contaminantes (NARIMATSU *et al.*, 2003). Kalit *et al.* (2016) observaram significativa redução, via proteólise, da $\alpha 1$ -caseína por ação da enzima quimosina durante diferentes estádios de maturação e, de acordo com Associação Brasileira de Alergia e Imunologia (ASBAI), essas proteínas estão ligadas a processos alérgicos.

Ao avaliar a evolução da profundidade de maturação em queijos maturados por 27 dias, Brumano (2016) comparou Queijos Artesanais do Serro produzidos a partir do Pingo e Rala, e os resultados mostram que a profundidade de proteólise foi maior ($p < 0,05$) em queijos produzidos a partir do Pingo.

Durante os cinco períodos de maturação, houve variação ($p < 0,05$) nos parâmetros de luminosidade da casca (L^* Cas), intensidade de vermelho-verde da casca (a^* Cas), intensidade de amarelo-azul da casca (b^* Cas), intensidade de amarelo-azul central (b^* C), croma da casca e central, sendo os três últimos parâmetros, os únicos que apresentaram variação ($P < 0,05$) no centro geométrico do queijo.

A firmeza dos queijos aumentou de forma linear durante os períodos de maturação observados ($P < 0,05$), enquanto a adesividade manteve-se constante ($P > 0,05$), com média de $19,40 \text{ g.s}^{-1}$.

A crescente perda de umidade observada ($P < 0,05$) entre os cinco diferentes tempos estudados, relaciona-se diretamente com o aumento da firmeza observada nos queijos. Lavasani *et al.* (2012) relacionaram a diminuição da firmeza com o avanço da proteólise nos queijos, no entanto valores de profundidade de proteólise encontrados neste trabalho, não variaram durante os tempos observados. Já Monteiro *et al.* (2009) associaram a firmeza com a umidade, ao relatar a relação entre o avanço da sinérese nos queijos e a diminuição das interações que acontecem entre a matriz proteica e a água, tornando o queijo mais firme.

O resultado apresentado nesta pesquisa, corrobora com Figueiredo *et al.* (2015), em que ao avaliarem a firmeza dos queijos em diferentes tempos de maturação, considerou que este parâmetro é, também, diretamente ligado à quantidade de água presente na estrutura do queijo, ao passo que, com a perda de umidade, aumenta-se a organização e a densidade dos sólidos presentes, resultando em uma matriz mais densa, com consequente aumento da firmeza do alimento. A mesma autora, considerou que a adesividade estaria ligada a umidade, no entanto, não foram observadas diferenças estatísticas ($p > 0,05$) para este parâmetro nesta pesquisa.

O espaço de cor CIELAB, ou $L^*a^*b^*$ é o espaço de cor mais utilizado para a avaliação de cores, já que existe grande correlação com a percepção pelo olho humano.

Dentre estes estão os três parâmetros luminosidade L^* , coordenada vermelho/verde a^* e coordenada amarelo / azul b^* (KONICA MINOLTA, 2007).

A variável luminosidade (L^*), está diretamente relacionada a reflexibilidade da luz no queijo, medida em uma escala que varia entre 0 e 100, que quanto mais próximo de 100, maior sua luminosidade e conseqüentemente a reflexão da luz. A luminosidade está relacionada a umidade, devido a capacidade da água refletir a luz incidente.

Para a variável luminosidade da casca (L^*Cas) observou-se um comportamento quadrático. Notou-se uma diminuição ($p < 0,05$) na variável luminosidade da crosta (L^*Cas) até 17 dias de maturação, o mesmo ocorreu com a umidade, reforçando a importância da água neste parâmetro. Nos tempos 38 e 60, pressupõe-se que o aumento da luminosidade, mesmo frente à progressiva perda de umidade, seja devido a proliferação de fungos de coloração esbranquiçada, observada na crosta do queijo a partir dos tempos 38 dias, aumentando, assim, a reflexão da luz e conseqüentemente a luminosidade. Para a variável luminosidade central (L^*C), obtida no centro geométrico dos queijos, não houve variações ($p > 0,05$), isso pode ser explicado devido ao fato de que as perdas de água são mais acentuadas na periferia do queijo, haja vista sua maior exposição ao meio onde está sendo maturado, sendo menos influenciado o centro do queijo.

Para a coordenada vermelho/verde na crosta ($a^* Cr$), onde sinais positivos indicam cor vermelha e valores negativos cor esverdeada, observou-se variação ($p < 0,05$) durante os tempos de maturação. Os queijos, durante a maturação tendem de um tom mais verdes para tons mais vermelhos. A coordenada vermelho/verde observada no centro geométrico do queijo, não sofreu influência ($p > 0,05$) dos tempos de maturação.

A coordenada amarelo/azul (b^*) foi influenciada ($p < 0,05$) tanto na crosta ($b^* Cr$), quanto no centro geométrico ($b^* C$), tornando-se mais amarelada com o avanço dos dias de maturação.

O parâmetro croma (C) aumentou de forma quadrática, apresentando durante o processo de maturação, um aumento da intensidade de cor ou saturação emitida pelo queijo (KONICA MINOLTA SENSING, 2007).

Para o parâmetro matiz (H°), não houve variação estatística durante os tempos observados, no entanto os valores encontravam-se em torno de 71 e 86 e quando interpretados no quadrante angular onde: $H^\circ = 0$ representa o vermelho puro; $H^\circ = 90$ representa o amarelo puro; $H^\circ = 180$ representa o verde puro; e $H^\circ = 270$ representa o azul puro, nota-se que os valores encontrados remetem a queijos em torno do $H^\circ = 90$, representando o amarelo puro (KONICA MINOLTA SENSING, 2007; HUNT *et al.*, 2012)

Dentre os parâmetros microbiológicos avaliados, coliformes a 35°C e 45°C, bactérias lácticas o modelo quadrático foi o que melhor representou a sua variação durante os tempos. *Staphylococcus* coagulase positiva não apresentou variações durante os tempos, no entanto a média esperada era numericamente inferior nos dias 8 e 17 quando comparada ao dia 3, e estavam dentro dos limites legislativos. *Salmonella* spp. não foi detectada em 25g de amostra no tempo 3 de maturação avaliado.

Conforme Decreto 44864 de 01 de agosto de 2008, vigente para os queijos artesanais de Minas que dispõe sobre o processo de produção de Queijo Minas Artesanal, os padrões microbiológicos para coliformes a 30°C e para coliformes a 45°C seriam respectivamente: $n = 5$, $c = 2$, $m = 1 \times 10^3$, $M = 5 \times 10^3$; e $n = 5$, $c = 2$, $m = 1 \times 10^2$, $M = 5 \times 10^2$ (MINAS GERAIS, 2008). Observa-se na tabela 2 que as contagens médias (IC=95%) esperadas nos tempos 3 e 38 dias estavam superiores ao que dispõe a legislação para coliformes a 35°C. Contudo, para os outros tempos de 8, 17 e 60 dias não houve contagens médias acima destes valores descritos pela legislação. Para coliformes a 45°C, as contagens médias esperadas estavam acima dos valores descritos pela legislação nas amostras dos tempos 17 e 38 dias de maturação.

Ao avaliar as amostras de cada tempo individualmente, uma das cinco amostras do tempo 3 e três amostras do tempo 38 apresentaram-se fora dos limites legislativos. Para coliformes a 45°C, uma das cinco amostras de 17 dias apresentavam valores superiores ao preconizado pela legislação, e para o tempo 38, todas as cinco amostras apresentaram-se acima dos valores preconizados pela legislação. Do total de 25 amostras avaliadas, 72% apresentaram contagens inferiores ao padrão legislativo.

A Lei 14.185 de 31 de janeiro de 2002 que dispunha sobre o processo de fabricação de Queijo Minas Artesanal, revogada pelo art. 28 da Lei nº 20.549, de 18 de dezembro de 2012, continha exigências microbiológicas menos rígidas para a microbiologia e levando-a em consideração, somente médias de contagem para coliformes a 35°C e 45°C dos queijos com 38 dias de maturação estariam fora dos padrões exigidos (MINAS GERAIS, 2002).

Ao considerar a RDC nº 12 da ANVISA, observa-se para queijos de média umidade, apenas parâmetros de coliformes a 45°C, sendo seus limites ainda superiores aos do Decreto 44864, sendo, neste caso, apenas as médias esperadas para os queijos de 38 dias de maturação estariam fora dos padrões legislativos (BRASIL, 2001; MINAS GERAIS, 2008). Frente ao avanço de estudos e maior entendimento das origens ambientais, coliformes a 35°C já são

considerados maus indicadores de contaminação e condições de saneamento (MARTIN *et al.*, 2016).

Ao observar o comportamento da microbiota durante o tempo de maturação, Martins *et al.* (2015), ao estudar Queijos do Serro em diferentes tempos de maturação, relatou contagens inferiores a 10^1 UFC.g⁻¹ para coliformes a 35°C e 45°C em todas suas amostras, a partir de 29 dias, sendo que aos 17 dias todas já se encontravam dentro dos parâmetros legais.

Os resultados encontrados por Melo *et al.* (2013), corroboram com Martins *et al.* (2015), observando redução de coliformes a 35°C à partir de 30 dias de maturação do Queijo Artesanal Serrano, associando a redução das contagens a acidificação observada durante a maturação, e a partir dos 30 dias a possível diminuição da umidade. No entanto, os queijos avaliados nesta pesquisa não variaram a acidez durante os tempos de maturação ($P > 0,05$), podendo então, nos tempos em que as contagens foram superiores ao definido na legislação, associar-se a más condições de obtenção do leite e sua qualidade, condições higiênico-sanitárias do rebanho e as possíveis diferenças durante o processo de produção e maturação. Por fim, observando que o avanço dos períodos de maturação não influenciou linearmente a diminuição de coliformes a 35°C e 45°C.

Para contagens das bactérias lácticas, o modelo quadrático foi o que melhor se ajustou, no qual as médias, com intervalo de confiança de 95%, variaram entre 4,47 log UFC.g⁻¹ e 6,96 UFC.g⁻¹ durante os cinco tempos estudados. Lima *et al.*, (2009) encontraram altas contagens de bactérias lácticas, entre 4,59 e 7,30 log UFC.g⁻¹ ao estudar queijos artesanais da Serra do Salitre. Contagens entre 7,00 e 8,00 log UFC.g⁻¹ foram obtidas por (PAIVA *et al.*, 2016) ao analisar Queijos Artesanais do Serro em quatro diferentes tempos de maturação. Por conseguinte, corroborando com as altas contagens obtidas neste trabalho.

As bactérias ácido lácticas caracterizam-se por fermentar carboidratos, e a partir deste substrato, produzir o ácido láctico (SILVA, 2010). Este grupo é considerado como o principal responsável pela inibição do crescimento de microrganismos indesejáveis via produção de ácidos orgânicos e bacteriocinas, atuando também de forma probiótica (ORTOLONI, 2009).

De acordo com o Decreto N° 44864 de 01 de agosto de 2008, a contagem máxima permitida para *Staphylococcus* coagulase positiva em Queijo Minas Artesanais é de 3 log UFC.g⁻¹ (MINAS GERAIS, 2008). Nesta pesquisa, nos tempos 8 e 17 dias de maturação estudados nos queijos, as médias obtidas eram inferiores aos limites legislativos. No dia 3 a média foi superior ao preconizado na legislação, com valor de 5,64 log UFC.g⁻¹. Para os dias

8 e 17 de maturação os valores estavam abaixo do padrão legislativo obtendo-se respectivamente contagens médias menor que 2,20 e 2,90 log UFC.g⁻¹.

Ferreira *et al.* (2011) ao estudarem queijos artesanais frescos, comercializados em Minas Gerais, obteve contagens superiores aos limites legislativos em 90% das amostras, apresentando qualidade microbiológica insatisfatória. Estes resultados corroboram com os valores encontrados neste trabalho para os queijos de 3 dias, frescos, já que a média encontrada foi superior ao disposto em legislação. Resultados semelhantes foram encontrados por Evangelista-Barreto *et al.* (2016) ao analisarem queijos artesanais comercializados em Cruz das Almas que estavam em um total de 80% contaminados por *Staphylococcus* coagulase positiva.

Nos outros tempos avaliados, 8 e 17 dias, os valores encontrados foram inferiores ao padrão legislativo, pressupondo boas condições de obtenção do produto. Figueiredo *et al.* (2015) ao avaliar Queijos Minas Artesanais produzidos na região do Serro, observou contagem média de 2,4 Log UFC.g⁻¹, inferior ao padrão legislativo exigido de 3 Log UFC.g⁻¹, assim como os queijos de 8 e 17 dias avaliados nesta pesquisa.

Microrganismos do gênero *Staphylococcus*, quando encontrados em elevadas contagens em queijos sugere falta de boas praticas de obtenção da matéria-prima, falhas nas boas práticas de produção, más condições de saúde do rebanho e colaboradores, além disto o *Staphylococcus* coagulase positiva em contagens superiores a 5 Log UFC.g⁻¹ pode produzir enterotoxinas causadoras de toxinoses alimentares e mesmo que ocorra a redução da contagem durante a maturação, os alimentos antes contaminados tem potencial causador destas toxinoses (SILVA, 2010; BRANT; FONSECA; SILVA, 2007).

De acordo com Bandeira *et al.* (2013), o gênero *Staphylococcus* é o principal responsável por mastites infecciosas, e ao avaliar amostras de leite obtidas de 423 animais em oito propriedades, 12,6% dos animais apresentaram mastite subclínica e o *Staphylococcus* coagulase positiva foi prevalente, reforçando a importância das boas condições sanitárias do rebanho para a obtenção da matéria prima de queijos de leite cru.

Para as contagens de *Salmonella* spp., realizada no terceiro dia de produção dos queijos, houve ausência em 25g, atendendo o preconizado pela legislação vigente (MINAS GERAIS, 2002). Este resultado observado é desejável, visto que obedece limites exigidos em legislação desde os primeiros dias de produção, e já que este gênero de microrganismo está associado a doenças veiculadas por alimentos (GARCIA *et al.*, 2016). Figueiredo *et al.* (2015) e Martins *et al.* (2015) observaram o mesmo resultado ao estudar Queijos Minas Artesanais do Serro, em diferentes tempos de maturação. Por outro lado, Garcia *et al.* (2016) ao estudar o

Queijo Artesanal do Norte de Minas, obteve prevalência de *Salmonella* sp. em 67% das amostras analisadas, presente em 12 amostras de queijos.

CONCLUSÃO

Observou-se variação de parte dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos avaliados. A redução da umidade ocorreu durante os tempos observados, tornando os queijos aptos a comercialização entre o vigésimo terceiro dia e quinquagésimo dia.

A redução da umidade durante a maturação influenciou na diminuição da luminosidade, no aumento da firmeza e dos tons de cor da casca e do centro dos queijos.

Valores de proteína e gordura aumentaram sua concentração, e durante todos os cinco tempos observados, o queijo caracterizou-se como Queijo Gordo.

Não houve relação entre o avanço dos tempos de maturação e a redução da microbiota indicadora de contaminação.

REFERÊNCIAS

ABEIJÓN MUKDSI, M. C. *et al.* The Secreted Esterase of *Propionibacterium freudenreichii* Has a Major Role in Cheese Lipolysis. **Applied and Environmental Microbiology**, [s. l.], v. 80, n. 2, p. 751–756, 2014.

AKAIKE, H. A new look at the statistical model identification. **IEEE Transactions on Automatic Control**, [s. l.], v. 19, n. 6, p. 716–723, 1974.

AZARNIA, S. *et al.* Proteolysis development in enzyme-modified Cheddar cheese using natural and recombinant enzymes of *Lactobacillus rhamnosus* S93. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 120, n. 1, p. 174–178, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.003>>

BANDEIRA, F. S. *et al.* Frequência de *Staphylococcus aureus* em casos de mastite bovina subclínica, na região Sul do Rio Grande do Sul. **Arquivos do Instituto Biológico**, [s. l.], v. 80, n. 1, p. 01–06, 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1808-16572013000100001&lng=en&nrm=iso&tlng=pt>

BARTLETT, M. S. Properties of Sufficiency and Statistical Tests. **Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences**, [s. l.], v. 160, n. 901, p. 268–282, 1937. Disponível em: <<http://rspa.royalsocietypublishing.org/cgi/doi/10.1098/rspa.1937.0109>>

BRANT, L. M. F.; FONSECA, L. M.; SILVA, M. C. C. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo-de-minas artesanal do Serro-MG. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [s. l.], v. 59, n. 6, p. 1570–1574, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352007000600033&lng=pt&tlng=pt>

BRASIL.FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. **Manual prático de análise de água**. 4 ed. ed. Brasília: Funasa, 2013. Disponível em: <http://www.funasa.gov.br/site/wp-content/files_mf/manual_pratico_de_analise_de_agua_2.pdf>

BRASIL. Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4ª ed. 1ª edição digital. São Paulo: IMESP, 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68 de 12 de dezembro de 2006. Métodos Analíticos Oficiais Físico-químicos para Controle de Leite e Produtos Lácteos. **Diário Oficial da União**, 14 de dezembro de 2006.

BRASIL. Resolução RDC N°12, de 2 de Janeiro de 2001. Aprova o "**Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**". órgão emissor: ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: www.anvisa.gov.br=> Acesso em: 15 de janeiro de 2018.

BRUMANO, É. C. da C. **Impacto do tipo de fermento endógeno na qualidade e tempo de maturação de queijo Minas artesanal produzido em propriedades cadastradas pelo IMA (Instituto Mineiro de Agropecuária) na região do Serro – MG**. 2016. Universidade Federal de Viçosa, [s. l.], 2016.

CAVALCANTE, J. F. M. *et al.* Processamento do queijo coalho regional empregando leite pasteurizado e cultura láctica endógena. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [s. l.], v. 27, n. 1, p. 205–214, 2007.

COLLINS, Y. F.; MCSWEENEY, P. L. H.; WILKINSON, M. G. Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: A review of current knowledge. **International Dairy Journal**, [s. l.], v. 13, n. 11, p. 841–866, 2003.

COSTA JÚNIOR, L. C. G. *et al.* Maturação Do Queijo Minas Artesanal Da Microrregião Campo Das Vertentes E Os Efeitos Dos Períodos Seco E Chuvoso. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, [s. l.], v. 69, n. 2, p. 111, 2014. Disponível em: <<http://www.revistadoilct.com.br/rilct/article/view/326>>

DURBIN, J.; WATSON, G. S. Testing for serial correlation in least squares regression. I. **Biometrika**, [s. l.], v. 37, n. 3–4, p. 409–28, 1950. Disponível em: <<http://www.jstor.org/stable/2332325?origin=crossref>>

DURBIN, J.; WATSON, G. S. Testing for Serial Correlation in Least Squares Regression. II. **Biometrika**, [s. l.], v. 38, n. 1/2, p. 159–78, 1951. Disponível em: <<http://www.jstor.org/stable/2332325?origin=crossref>>

EVANGELISTA-BARRETO, N. S. *et al.* Queijos artesanais como veiculo de contaminação de Escherichia coli e estafilococos coagulase positiva resistentes a antimicrobianos. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, [s. l.], v. 10, p. 55–67, 2016.

FERREIRA, R. M. *et al.* Pesquisa de Staphylococcus coagulase positiva em queijo Minas Frescal artesanal. **Pubvet**, [s. l.], v. 5, n. 5, 2011.

FIGUEIREDO, S. P. *et al.* Características do leite cru e do queijo Minas artesanal do Serro em diferentes meses. **Archives of Veterinary Science**, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 68–82, 2015.

FRIEDMAN, M. The use of ranks to avoid the assumption of normality implicit in the analysis of variance. **Journal of American Statistical Association**, [s. l.], v. 32, n. 32, p. 675–701, 1937. Disponível em: <<http://www.jstor.org/stable/3001938?origin=crossref%0Ahttp://www.jstor.org/stable/3001938%5Cnhttp://www.jstor.org/%5Cnhttp://www.jstor.org/action/showPublisher?publisherCode=ibs.%5Cnhttp://www.jstor.org>>

FURTADO, M. M. **Principais problemas dos queijos: causas e prevenções**. São Paulo, Brasil: Fonte comunicações e editora, 2005.

FURTADO, M.M. **Isolamento de bactérias lácticas de leite cru e de soro de queijo da Região do Serro, Minas Gerais**. 1990. 95 f.. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 1990.

GALÁN, E.; CABEZAS, L.; FERNÁNDEZ-SALGUERO, J. Proteolysis, microbiology and sensory properties of ewes' milk cheese produced with plant coagulant from cardoon *Cynara cardunculus*, calf rennet or a mixture thereof. **International Dairy Journal**, [s. l.], v. 25, n. 2, p. 92–96, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.idairyj.2012.02.001>>

GARCIA, J. K. S. *et al.* Qualidade microbiológica de queijos frescos artesanais comercializados na região do norte de Minas Gerais. **Caderno de Ciências Agrárias**, [s. l.], v. 8, n. 2, p. 58–65, 2016.

GAVA, A. J.; SILVA, C. A. B.; GAVA J. R. F. **Tecnologia de alimentos: princípios e aplicações**. São Paulo: Nobel, 2008.

GAYA, P. *et al.* Proteolysis during ripening of Manchego cheese made from raw or pasteurized ewes' milk. Seasonal variation. **Journal of Dairy Research**, [s. l.], v. 72, n. 3, p. 287–295, 2005.

HILBE, J. M. **Negative Binomial Regression**. 2. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2011. Disponível em: <<http://ebooks.cambridge.org/ref/id/CBO9780511973420>>

HORWITZ, W.; LATIMER, G. W. **Official methods of analysis of AOAC International**. Gaithersburg, Md.: AOAC International, 2005.

HUNT, M. C. *et al.* **AMSA meat color measurement guidelines**. [s.l: s.n.]. v. 61820

INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria nº 1305 de 30 de Abril de 2013.

Estabelece diretrizes para a produção do queijo Minas 1. IMA. Instituto Mineiro de Agropecuária. Portaria no 1305 de 30 de Abril de 2013. Estabelece diretrizes para a produção do queijo Minas artesanal. 3: . Belo H. [s. l.], v. 3, n. 31, p. . Belo Horizonte: Instituto Mineiro de Agropecuári, 2013.

INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. **Lista produtores cadastrados no programa do Queijo Minas Artesanal.**[s.l: s.n.],2018. Disponível em: <http://www.ima.mg.gov.br/material-curso-cfo-cfoc/doc_details/680-produtores-queijo-minas-artesanal>.

KALIT, S. *et al.* Proteolysis of Livanjski cheese during ripening. **Journal of Central European Agriculture**, [s. l.], v. 17, n. 4, p. 1320–1330, 2016. Disponível em: <<http://jcea.agr.hr/volumes.php?search=Article%3A1852>>

KONICA MINOLTA SENSING. **Precise color communication: color control from perception to instrumentation.** Japan: Konica Minolta Sensing Inc, 2007. 62p.

LAVASANI, A. R. S. *et al.* Changes in physicochemical and organoleptic properties of traditional Iranian cheese Lighvan during ripening. **International Journal of Dairy Technology**, [s. l.], v. 65, n. 1, p. 64–70, 2012. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1471-0307.2011.00724.x>>

LIMA, C. D. L. C. *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**, [s. l.], v. 61, n. 1, p. 266–272, 2009.

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

MALIK, A. C., REINBOLD, G. W.; VEDAMUTHU, E. R. Evaluation of the taxonomy of the *Propionibacterium*. **Canadian Journal. Microbiology**. v. 14, p.1185-1195.

MARTIN, N. H., TRMČIĆ, A., HSIEH, T., BOOR, K. J., WIEDMANN, M. The Evolving Role of Coliforms As Indicators of Unhygienic Processing Conditions in Dairy Foods. **Front Microbiol.** 2016; v. 7: p.1549. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5043024/>>

MARTINS, J. M. **Características físico-químicas e microbiológicas durante a maturação do queijo Minas artesanal da região do Serro.** 2006. Universidade Federal de Viçosa, [s.

l.], 2006.

MARTINS, J. M. *et al.* Determining the minimum ripening time of artisanal Minas cheese, a traditional Brazilian cheese. **Brazilian Journal of Microbiology**, [s. l.], v. 46, n. 1, p. 219–230, 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-83822015000100219&lng=en&nrm=iso&tlng=en>.

MCSWEENEY, P. L. H. Biochemistry of cheese ripening. **International Journal of Dairy Technology**, [s. l.], v. 57, n. 2–3, p. 127–144, 2004. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123744074000807>>

MCSWEENEY, P. L. H.; SOUSA, M. J. Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. **Le Lait**, [s. l.], v. 80, n. 3, p. 293–324, 2000. Disponível em: <<http://www.edpsciences.org/10.1051/lait:2000127>>

MELO, F. D. *et al.* Avaliação da inocuidade e qualidade microbiológica do queijo artesanal serrano e sua relação com as variáveis físico químicas e o período de maturação. **Acta Scientiae Veterinariae**, [s. l.], v. 41, p. 1–7, 2013. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/.../PUB_1152.pdf>

MENESES, J. N. C. **Queijo Artesanal de Minas: patrimônio cultural do Brasil Dossiê interpretativo**. Belo Horizonte. 2006.

MINAS GERAIS. Assembleia Legislativa do Estado de Minas Gerais. Lei nº 14185 de 31 de janeiro de 2002. Processo de Produção do Queijo Minas Artesanal. **Diário do Executivo**, Belo Horizonte, 01 de fevereiro de 2002

MINAS GERAIS. Decreto nº 44864 de 1 de agosto de 2008. Altera o Regulamento da Lei n. 14.185, de 31 de janeiro de 2002, que dispõe sobre o processo de produção de Queijo Minas Artesanal. **Diário do Executivo**, Minas Gerais. Pag. 1, Col.2, 2008.

MONTEIRO, R. R. *et al.* Effect of pH on Microstructure and Characteristics of Cream Cheese. **Journal of Food Science**, [s. l.], v. 74, n. 2, p. C112–C117, 2009. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1750-3841.2008.01037.x>>

NARIMATSU, A. *et al.* Avaliação da proteólise e do derretimento do queijo prato obtido por ultrafiltração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [s. l.], v. 23, p. 177–182, 2003.

NERO, L. A. *et al.* *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in raw milk produced in

Brazil: Occurrence and interference of indigenous microbiota in their isolation and development. **Zoonoses and Public Health**, [s. l.], v. 55, n. 6, p. 299–305, 2008.

ORTOLONI, 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. Universidade Federal de Viçosa, [s. l.], 2009. Disponível em: <<http://locus.ufv.br/handle/123456789/4974>>

PAIVA, V. N. *et al.* Efeito Da Adição Do Fermento Natural Sobre a Contagem De Bactérias Lácticas Em Queijo Minas Artesanal Do Serro. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, [s. l.], v. 70, n. 5, p. 279, 2016. Disponível em: <<https://www.revistadoilct.com.br/rilct/article/view/494>>

PERRY, K. S. P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**, [s. l.], v. 27, n. 2, p. 293–300, 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422004000200020&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>

PINTO, M. S. *et al.* Características físico-químicas e microbiológicas do queijo artesanal produzido na microrregião de Montes Claros – MG. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, [s. l.], v. 71, n. 1, p. 43, 2017. Disponível em: <<https://www.revistadoilct.com.br/rilct/article/view/514>>

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An Analysis of Variance Test for Normality (Complete Samples). **Biometrika**, [s. l.], v. 52, n. 3/4, p. 591, 1965. Disponível em: <<http://www.jstor.org/stable/2333709?origin=crossref>>

SILVA, M. C. D. *et al.* Influência dos procedimentos de fabricação nas características físico-químicas, sensoriais e microbiológicas de queijo de coalho. **Rev Inst Adolfo Lutz**, [s. l.], v. 69, n. 2, p. 214–221, 2010.

SILVA, N. *et al.* **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2007. 536p.

TUKEY, J. W. One Degree of Freedom for Non-Additivity. **Biometrics**, [s. l.], v. 5, n. 3, p. 232–242, 1949. Disponível em: <<http://www.jstor.org/stable/3001938?origin=crossref%0Ahttp://www.jstor.org/stable/3001938%5Cnhttp://www.jstor.org/%5Cnhttp://www.jstor.org/action/showPublisher?publisherCode=ibs.%5Cnhttp://www.jstor.org>>

VALLE, J. L. E.; CAMPOS, S. D. S.; YOTSUYANAGI, K.; SOUZA, G. Influência do teor de gordura nas propriedades funcionais do queijo tipo mozzarella. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.24, n.4, p.669-673, 2004.

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