



LUCY MARA NASCIMENTO ROCHA

**MICROBIOTA EM QUEIJO MINAS ARTESANAL “CASCA
FLORIDA” EM DIFERENTES TEMPOS DE MATURAÇÃO**

**LAVRAS - MG
2023**

LUCY MARA NASCIMENTO ROCHA

**MICROBIOTA EM QUEIJO MINAS ARTESANAL CASCA FLORIDA EM
DIFERENTES TEMPOS DE MATURAÇÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Luís Roberto Batista
Orientador (a)

**LAVRAS - MG
2023**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Rocha, Lucy Mara Nascimento.

Micobiota em Queijo Minas Artesanal “Casca Florida” em
diferentes tempos de maturação / Lucy Mara Nascimento Rocha. -
2023.

61 p. : il.

Orientador(a): Luis Roberto Batista.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2023.

Bibliografia.

1. Modo de fazer. 2. Diversidade fúngica. 3. Maturação. I.
Batista, Luís Roberto. II. Título.

LUCY MARA NASCIMENTO ROCHA

**MICROBIOTA EM QUEIJO MINAS ARTESANAL CASCA FLORIDA EM
DIFERENTES TEMPOS DE MATURAÇÃO**

**MYCOBIOTA IN ARTISANAL MINAS CHEESE FLOWERY RIND AT DIFFERENT
MATURATION TIMES**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 29 de agosto de 2023.
Profº Dr. Luíz Ronaldo de Abreu - UFLA
Profº Dr. Cleube Andrade Boari - UFVJM

Prof. Dr. Luíz Roberto Batista
Orientador

**LAVRAS - MG
2023**

*À minha família, especialmente minha mãe
Valderice Gomes Nascimento.
Dedico.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por ser antes de tudo meu alicerce, meu guia e fortaleza.

Agradeço a toda a minha família, em especial minha mãe/pai Valderice, a melhor base, professora e exemplo de mulher que Deus me presenteou. Minhas irmãs Lana e Ângela e irmãos João e Gil, obrigada pelo amor, incentivo e paciência, principalmente nos momentos de distanciamento.

A cada pessoa que com tanto carinho me apoiou, incentivou, aconselhou e esteve ao meu lado, presencialmente ou de coração, a Geyse (obrigada por cada oração), Josi, Beth, Alice, Vanessa, Graça, Tamara, Joelma, Tia Carmina, Sandra.

Ao meu orientador professor Luís Roberto, pelos conhecimentos repassados.

Pelas minhas colegas e parceiras de laboratório que tanto me ajudaram de todas as formas, por cada cafezinho... obrigada Fabiana Passamani, Fabiana Lima, Miriam, Thalissa, Nádja, Giovana, Cris, Kelly.

Aos amigos Dani, Juan, Jher, Kathe.

À UFLA, aos professores e Coordenação do Departamento de Ciência dos Alimentos, ao Departamento de Ciência dos Alimentos, Laboratório de Micologia e Micotoxinas de Ciência dos Alimentos, à Unidade de Recursos Microbiológicos (URMICRO), à Coleção de Culturas da UFLA, ao Laboratório de Leites e derivados em especial ao Prof. Luiz Ronaldo e a técnica Creuza.

A Fabiana Passamani, Alcineia e Jaqueline Rezende pela disponibilidade de ajudar sempre.

A Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal do Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro com a concessão da Bolsa de pesquisa.

Minha eterna gratidão!

“Tudo posso nAquele que me fortalece”

Filipenses 4,13.

RESUMO GERAL

O Queijo Minas Artesanal (QMA), é um alimento típico do estado de Minas Gerais, carrega técnicas tradicionais de onde é produzido. Atualmente, existem dez regiões reconhecidas como produtoras de QMA dentre as quais, Araxá, Campos das Vertentes, Cerrado, Serra da Canastra, Serra do Salitre, Serro, Triângulo Mineiro, Serras da Ibitipoca, Diamantina e Entre Serras de Piedade ao Caraça. A produção de QMA tem semelhança entre as regiões, porém aspectos geográficos, físico-químicos, sensoriais e microbianos proporcionam características sensoriais intrínsecas de cada lugar. Especialmente a diversidade micológica contida nesses queijos, deve ser conhecida, por serem produzidos e maturados artesanalmente e em condições não controladas. Na região do Cerrado mineiro, existem poucos estudos sobre a microbiota dos queijos Minas Artesanais especialmente de casca florida e sobre variação da comunidade durante a maturação. O objetivo desta pesquisa foi analisar Queijo Minas Artesanal de 'casca florida' da Microrregião do Cerrado mineiro, identificando a microbiota predominante, e variações nos aspectos físico-químicos em diferentes tempos de maturação. Foram coletadas 11 amostras de QMA, com 18, 23, 33 e 60 dias de maturação. Realizou-se análises micológicas e físico-químicas, considerando casca e massa. O isolamento dos fungos ocorreu por método dependente de cultivo pela técnica de diluição seriada. Os fungos filamentosos foram identificados com manuais de identificação e as leveduras em MALDI-TOF. Nas análises físico-químicas, foram analisados pH, umidade, teor de gordura no extrato seco, proteínas e sal na umidade. As diferenças estatísticas foram analisadas ao nível de 5% de variância pelo teste Tukey com o software SISVAR. Nas análises micológicas, a média de fungos isolada foi $19,25 \times 10^4$ UFC/g (massa) e $81,65 \times 10^6$ UFC/g (casca). Foram identificadas *D. catenulata*, *K.lactis*, *T. delbrueckii*, *D. hansenii*, *C. intermedia*, *W. pararugosa* e os fungos filamentosos *G. candidum*, *Geotrichum sp.*, *Cladosporium sp.*, *T. variabili*, *Penicillium sp.*, *P. corylophilum*, *P. decubens*, *P. brevicompactum*. Os resultados físico-químicos mostraram diferença estatística nas cascas e massa para pH e umidade, para proteína não houve distinção estatística, para gordura e sal na umidade, houve diferença estatística nas análises de massa ($<0,05$). Os valores percentuais médios da massa variaram entre 18 a 60 dias para pH: $5.6 \pm 0.2ab$ - $5.7 \pm 0.1ab$); umidade: (50.9 ± 1.7 a - $37.2 \pm 0.5b$); proteína ($17.8 \pm 4.4a$ - $27.8 \pm 0.9a$); gordura no extrato seco: ($28.3 \pm 0.2a$ - $20.3 \pm 0.0b$); sal na umidade: ($3.3 \pm 0.2a$, - $4.0 \pm 0.0ab$). Na casca obteve-se para pH: ($6.0 \pm 0.3a$ - $7.1 \pm 0.2b$); umidade: ($50.3 \pm 2.8a$ - $30.6 \pm 1.2b$); proteína ($19.1 \pm 2.7a$ - $16.4 \pm 4.8a$); gordura no extrato seco: ($27.3 \pm 0.0a$, - $26.0 \pm 0.0a$); sal na umidade: ($2.8 \pm 0.9a$, - $2.6 \pm 0.0a$). Esses resultados contribuíram para quantificar e identificar a diversidade micológica presente nos queijos analisados. Os parâmetros físico-químicos podem ser influenciados pela microbiota presente. A presença e altas contagens de leveduras benéficas e do *G. Candidum* tanto na massa, quanto na casca, é positiva, pois representa qualidade sanitária e sensorial, demonstrado segurança para consumo.

Palavra-chave: Modo de fazer. Diversidade fúngica. Maturação.

GENERAL ABSTRACT

Artisanal Minas Cheese (QMA), is a typical food from state of Minas Gerais, carrying traditional techniques from where it is produced. Currently, there are ten regions recognized as producing QMA, including Araxá, Campos das Vertentes, Cerrado, Serra da Canastra, Serra do Salitre, Serro, Triângulo Mineiro, Serras da Ibitipoca, Diamantina and Entre Serras de Piedade ao Caraça. QMA production is similar between regions, but geographic, physicochemical, sensorial and microbial aspects provide intrinsic sensory characteristics of each place. Especially the mycological diversity contained in these cheeses must be known, as they are produced and matured by hand and in uncontrolled conditions. In the Cerrado region of Minas Gerais, there are few studies on the mycobiota of Minas Artesanais cheeses, especially those with flowery rinds, and on community variation during maturation. The objective of this research was to analyze Minas Artesanal 'flowery rind' cheese from the Cerrado Microregion of Minas Gerais, identifying the predominant mycobiota, and variations in physical-chemical aspects at different maturation times. 11 QMA samples were collected, with 18, 23, 33 and 60 days of maturation. Mycological and physicochemical analyzes were carried out, considering rind and mass. The fungi were isolated using a cultivation-dependent method using the serial dilution technique. Filamentous fungi were identified using identification manuals and yeasts using MALDI-TOF. In the physical-chemical analyses, pH, humidity, fat content in the dry extract, proteins and salt in the humidity were analyzed. Statistical differences were analyzed at the level of 5% of variance using the Tukey test with the SISVAR software. In mycological analyses, the average number of fungi isolated was 19.25×10^4 CFU/g (mass) and 81.65×10^6 CFU/g (rind). *D. catenulata*, *K. lactis*, *T. delbrueckii*, *D. hansenii*, *C. intermedia*, *W. pararugosa* and the filamentous fungi *G. candidum*, *Geotrichum sp.*, *Cladosporium sp.*, *T. variabili*, *Penicillium sp.*, *P. corylophilum*, *P. decubens*, *P. brevicompactum* were identified. The physicochemical results showed a statistical difference in the peels and mass for pH and humidity, for protein there was no statistical distinction, for fat and salt in humidity, there was a statistical difference in the mass analyzes (<0.05). The average mass percentage values varied between 18 and 60 days for pH: $5.6 \pm 0.2ab$ - $5.7 \pm 0.1ab$); humidity: ($50.9 \pm 1.7a$ - $37.2 \pm 0.5b$); protein ($17.8 \pm 4.4a$ - $27.8 \pm 0.9a$); fat in the dry extract: ($28.3 \pm 0.2a$ - $20.3 \pm 0.0b$); salt in humidity: ($3.3 \pm 0.2a$, - $4.0 \pm 0.0ab$). In the rind, pH was obtained: ($6.0 \pm 0.3a$ - $7.1 \pm 0.2b$); humidity: ($50.3 \pm 2.8a$ - $30.6 \pm 1.2b$); protein ($19.1 \pm 2.7a$ - $16.4 \pm 4.8a$); fat in dry extract: ($27.3 \pm 0.0a$, - $26.0 \pm 0.0a$); salt in humidity: ($2.8 \pm 0.9a$, - $2.6 \pm 0.0a$). These results contributed to quantifying and identifying the mycological diversity present in the cheeses analyzed. Physicochemical parameters can be influenced by the microbiota present. The presence and high counts of beneficial yeasts and *G. Candidum* in both the dough and the shell are positive, as they represent sanitary and sensorial quality, demonstrating safety for consumption.

Keyword: Way of production. Mycological diversity. Maturation.

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE

1. INTRODUÇÃO GERAL	10
2. REFERENCIAL TEÓRICO	12
2.1 Queijo Minas Artesanal: generalidades	12
2.2 Queijo Minas Artesanal do Cerrado mineiro.....	14
2.3 Fungos em Queijo Minas Artesanal.....	17
2.4 Maturação.....	19
2.5 MALDI-TOF: generalidades.....	20
REFERÊNCIAS.....	22
SEGUNDA PARTE-ARTIGO	
ARTIGO- Micobiota em Queijo Minas Artesanal casca florida em diferentes tempos de maturação.....	27
1 INTRODUÇÃO.....	30
2 METODOLOGIA.....	32
3 RESULTADOS.....	39
4 DISCUSSÃO.....	50
5 CONCLUSÃO.....	56
REFERÊNCIAS.....	57

1. INTRODUÇÃO

O Queijo Minas Artesanal é um alimento típico do estado de Minas Gerais e carrega consigo tradição em suas técnicas, genuínas de cada local onde é produzido e por conta disso, sua fama já ultrapassou as fronteiras do Estado. Esse modo de fazer refere-se à memória nacional e cultural dando continuidade histórica, sendo reconhecido em 2008 como Patrimônio Cultural Imaterial pelo Instituto de Patrimônio Histórico e Artístico Nacional (IPHAN).

Para ser considerado "Queijo Minas Artesanal", é necessário seguir critérios estipulados pela Portaria do IMA nº 1969, de 26 de março de 2020, em que diz que é um alimento produzido com leite cru, integral, recém ordenhado, sadio e deve ser produzido na mesma propriedade. Ao final da produção do queijo, ele deve ser firme, consistente, com cor e sabor próprio, a massa deve ser uniforme. Proíbe-se a utilização de corantes e conservantes. Seu tempo de maturação deve atestar segurança e ser estipulado por meio normativas, bem como, estudos científicos (IMA, 2020).

Segundo a EMATER (2023), atualmente, o estado de Minas Gerais possui dez regiões reconhecidas como produtoras do Queijo Minas Artesanal, dentre elas, Araxá, Campos das Vertentes, Cerrado, Serra da Canastra, Serra do Salitre, Serro, Triângulo Mineiro, Serras da Ibitipoca, Diamantina e Entre Serras de Piedade ao Caraça.

Mesmo que algumas etapas da produção desses queijos sejam parecidas, alguns fatores são determinantes para a obtenção de queijos com características sensoriais intrínsecas de cada lugar. Portanto, é fundamental entender sobre os aspectos físico-químicos e sensoriais dos queijos Minas Artesanais produzidos nessas regiões, no entanto, também é fundamental compreender sobre a diversidade microbiana contida nesses queijos, considerando que são produzidos e maturados artesanalmente e sob condições não controladas. Jonnala et al., (2018), enfatizam sobre a importância de compreender a atuação dos microrganismos no ambiente do queijo, para que possam auxiliar na promoção daqueles que são desejáveis.

Dentre essa biodiversidade, os fungos em especial, geralmente são relatados como contaminantes e deteriorantes, no entanto, atuam em todas as etapas de produção do queijo e alguns deles destacam-se como produtores de compostos importantes que influenciam em características sensoriais desejáveis. Além disso, no caso dos queijos de “casca florida”, a prevalência visualmente dominante de fungos filamentosos na casca é um diferencial em que muitos produtores aderem.

Na região do Cerrado mineiro em particular, existem poucos estudos sobre a micobiota dos queijos Minas Artesanais especialmente os de casca florida, sendo importante traçar um estudo sobre esses fungos, afim de observar se essa comunidade se modifica ao longo do tempo, como se comportam e como se apresentam nas cascas a medida em que são maturados. Isso poderá auxiliar futuramente na identificação de uma micobiota core dos queijos Minas Artesanais produzidos no Cerrado mineiro.

Considerando-se o exposto, esta pesquisa foi conduzida com o objetivo de analisar Queijo Minas Artesanal de ‘casca florida’ da Microrregião do Cerrado mineiro, identificando a micobiota predominante, bem como variações nos aspectos físico-químicos, considerando diferentes tempos de maturação.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Queijo Minas Artesanal: generalidades

No Brasil, a produção de queijos é grande e variada, dentre eles, os queijos artesanais ganham destaque, por diferenciarem-se com suas características singulares e modo de preparo com técnicas manuais e tradicionais (KAMIMURA et al., 2019). O Queijo Minas Artesanal (QMA) é um alimento genuinamente mineiro e tem ganhado importante espaço no Brasil, destacando-se por seus aspectos sensoriais como sabor, textura e aroma singulares, proporcionados por microrganismos advindos da microbiota natural do leite (DORES, 2013).

É um alimento que segundo a Portaria IMA 1969, de 26 de março de 2020, define-se como, produto elaborado com leite cru, obtido na mesma propriedade de produção, integral, recém ordenhado e sadio, devendo apresentar consistência firme ao final do processo, além de cor e sabor próprios, a massa deve ser uniforme e sem adição de corantes e conservantes, podendo apresentar ou não olhaduras mecânicas, não deve passar por tratamento térmico, seu processamento deve ser imediato (até noventa minutos após início da ordenha), ingredientes de culturas lácticas naturais e maturação por tempo estipulado por normativas e/ou estudos científicos que atestem segurança (IMA,2020).

Minas Gerais destaca-se como grande produtor de queijos, dentre eles os artesanais (MINAS GERAIS, 2012; COSTA JÚNIOR et al., 2014; CORREIA & ASSIS, 2017; EMATER, 2021). Esse “modo de fazer”, refere-se ao modo tradicional, artesanal, afetividade dos produtores em relação ao seu produto, cultura e memórias, tudo isso carrega consigo, identidade e conseqüentemente preservação, atributos que são valorizados como Patrimônio Cultural Imaterial e de Indicação Geográfica (IPHAN, 2008). Esses atributos sensoriais de sabor, textura e aromas genuínos de cada queijo, oriundos do “modo de fazer”, também tem como responsáveis a microbiota natural do leite utilizado na produção desses queijos (DORES, DIAS, ARCURI et al., 2013).

O número de produtores de queijos artesanais é significativamente relevante. Segundo a Emater (2022), existem 11.158 unidades produtoras de leite, dentre elas, a maioria produz queijos artesanais. Esses dados mostram a importância, valor e potencial desse produto para os pequenos produtores e agroindústrias do Estado. Por ser um produto artesanal de grande importância, o QMA tem resistido a modernização, e tem se mostrado ao longo do tempo como um produto que necessita de regulamentação para ser expandido. Nesse sentido, algumas

normatizações tem sido criadas e atualizadas à medida que se faz necessário. Dentre esses, o selo “ARTE” a partir do Decreto nº 11.099, de 21 de junho de 2022, que foi estabelecido como uma nova regulamentação da Lei nº 13.860 de 2019 para a concessão deste selo, permitindo a comercialização interestadual de produtos artesanais elaborados a partir de matéria prima de origem animal e facilitando a comercialização desses queijos (BRASIL, 2022).

Por não passar por tratamento térmico, critério para ser considerado QMA, os queijos possuem em sua composição natural microrganismos, que são típicos do leite utilizado para sua produção. Esses microrganismos são fundamentais na maturação dos queijos, por proporcionar a especificidade de cada um. São influenciados variando em número e espécie, devido a vários aspectos, dentre eles, as culturas iniciadoras, clima, local, alimentação do rebanho, forma de processamento do produto, época do ano (chuva ou seca), dentre outras (BEMFEITO et.al., 2016; MONTEIRO, 2018).

Diante dessa realidade, a carga microbiana de cada queijo precisa ser conhecida e controlada, para que se tenha um controle higiênico-sanitário de qualidade. Para isso, são necessárias medidas preventivas, nesse sentido, o Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), por meio da Instrução Normativa nº 57 de 2011 passou a permitir comercialização de queijo artesanal com menos de 60 dias de maturação, desde de que cumpridas exigências como, comprovação por meio de estudos científicos da qualidade e inocuidade para consumo em período de maturação inferior ao estipulado, acompanhamento da saúde do rebanho, potabilidade da água e contagens microbiológicas dentro dos limites permitidos (BRASIL, 2011).

Apesar de não haver especificações legais em relação a micotoxinas produzidas por fungos em QMA, existe uma Resolução de Nº 7, de 18 de fevereiro de 2011 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que cita sobre tolerância máxima para micotoxinas em alimentos, e estabelece 2,5 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) de Aflatoxina M1 em queijos, conforme metodologias que seguem os critérios do *Codex Alimentarius* (BRASIL, 2011).

Tendo em vista a segurança estabelecida, a presença de microrganismos em queijos artesanais, entre eles os fungos, é fundamental. Silva (2020), comenta que os queijos artesanais maturados com fungos naturais, o processo de não raspagem da casca preservando-os na superfície, é visto como um “produto diferencial” e de grande potencial econômico, pois influencia na qualidade do produto final por meio de características sensoriais de interesse.

Por isso, afim de valorizar ainda mais o QMA e considerando também os queijos de casca florida, pesquisas foram desenvolvidas e em 2022 foi publicada a Resolução N° 42 de 27 de dezembro de 2022, a primeira legislação do QMA relacionada a fungos, que reconhece o Queijo Minas Artesanal produzidos nos municípios do Estado de Minas Gerais como variedade de Casca Florida, por meio da Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (SEAPA) (MINAS GERAIS, 2022).

Nessa Resolução, atribui-se o termo “casca florida” para os QMA’s com presença e dominância visualmente de fungos filamentosos na casca. Essa predominância nos Queijo Minas Artesanal de Casca Florida (QMACF), no entanto, precisa ser da espécie fúngica *Galactomyces geotricum* (sinônimos *Geotricum candidum* e *Geotrichum silvicola*), Sendo outras espécies inseridas posteriormente, através de pesquisas científicas por órgãos especializados no tema, após comprovação de sua segurança alimentar (MINAS GERAIS, 2022).

2.2 Queijo Minas Artesanal do Cerrado mineiro

A tradição da produção de queijos artesanais na microrregião do Cerrado tem origem desde o século XVIII (MENESES, 2006). Essa tradição mantém-se atualmente, no entanto, a identidade de nomenclatura de sua região tem passado por transições. Anteriormente, o Queijo Minas Artesanal (QMA) do Cerrado era conhecido como QMA Alto Paranaíba, por ser produzindo nessa mesorregião, entretanto para distinguir do QMA Serra do Salitre, adotou-se a nomenclatura utilizada atualmente, proporcionando identidade dessa região aos consumidores (CAIXETA, 2020; IPHAN, 2006).

Segundo o IPHAN, existe ainda ambiguidade nessa designação, descontentando os produtores da região, tendo em vista que o Cerrado é um bioma que abrange vários estados no Brasil (IPHAN, 2014). Entretanto, nada foi modificado, ficando assim a composição dessa microrregião pelos municípios Abadia dos Dourados, Arapuá, Carmo do Paranaíba, Coromandel, Cruzeiro da Fortaleza, Lagamar, Lagoa Formosa, Matutina, Patos de Minas, Patrocínio, Presidente Olegário, Rio Paranaíba, Guimarães, Santa Rosa da Serra, São Gonçalo do Abaeté, São Gotardo, Tiros, Varjão de Minas e Vazante como pertencentes ao Cerrado (EMATER, 2003).

A produção de queijo Minas Artesanal da microrregião ainda na época Alto Paranaíba, foi identificada oficialmente por meio da Portaria IMA nº 619 de 1º de dezembro de 2003 (IMA, 2003). Já em 2007, essa Portaria foi alterada, denominando a microrregião do Alto Paranaíba para microrregião do Cerrado através da Portaria IMA nº 874. Entre 2009 e 2014, houveram alterações em relação a inserção e retirada de municípios dessas microrregiões. O município de Vazante foi inserido na microrregião do Cerrado por meio da Portaria IMA nº 1021 em 2009, enquanto o município da Serra do Salitre foi excluída da Microrregião do Cerrado por meio da Portaria IMA nº 1428 em 2014 (EMATER, 2003). A figura 1 mostra o mapa da localização da região do Cerrado mineiro no mapa do Brasil.

Figura 1- Mapa da microrregião do Cerrado Mineiro-MG- Brasil



Fonte: Adaptada de BRASIL, (2022)

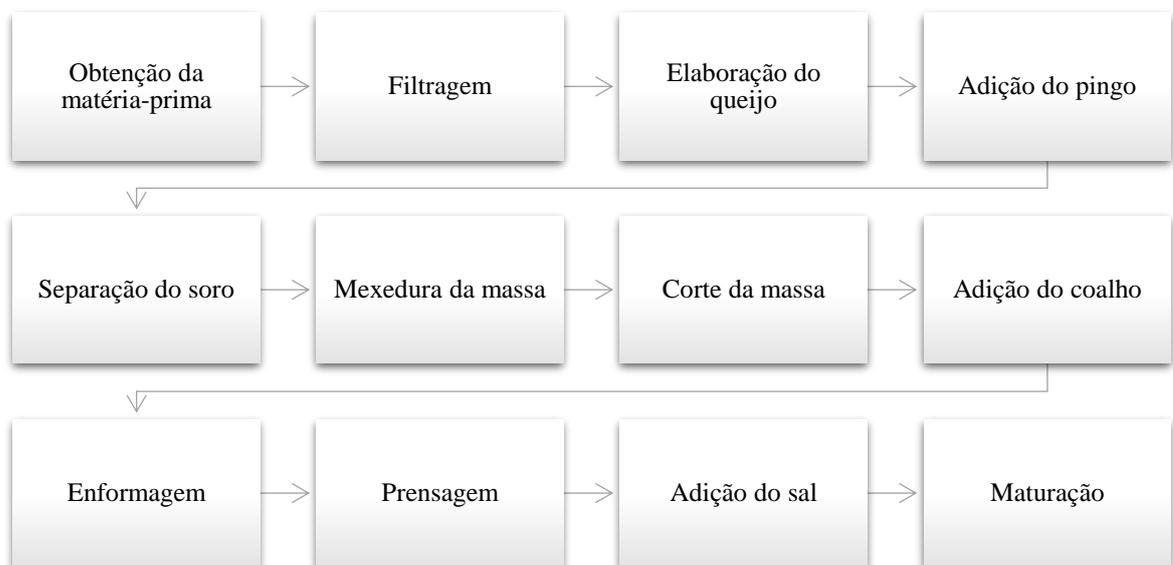
As condições climáticas típicas do cerrado de acordo com a Emater MG (2003), é classificada como tropical de altitude, verões úmidos e invernos secos, com temperaturas anuais oscilando entre 16,4 °C a 27,6 °C, possui uma pequena parte em sua vegetação de Mata Atlântica, com espécies forrageiras nativas como capim fino ou barba de bode.

A tradição de produção do QMA do Cerrado é semelhante ao da produção do Araxá, que tradicionalmente são feitos por mulheres, em geral as esposas dos fazendeiros, enquanto as atividades de gerencia da fazenda, rebanho, comercialização dos queijos são feitas pelos homens (IPHAN, 2014).

Os queijos são fabricados com formas cilíndricas de 15 a 17 cm de diâmetro interno, altura de 4 a 6 cm e peso entre 1,0 a 1,2 kg padronizando o diâmetro aproximado do queijo. A maturação ocorre em temperatura ambiente e 24 horas depois são retiradas das formas

maturadas em prateleiras de madeira durante no mínimo 22 dias (IMA, 2021), lavado e seco diariamente, durante 7 a 8 dias. Finalmente, é feito o acabamento com ralinho de inox para fins estéticos (CAIXETA, 2020; EMATER MG, 2003; IMA, 2021). A figura 2 mostra o fluxograma do processo de produção do QMA do Cerrado.

Figura 2- Fluxograma da produção do Queijo Minas Artesanal do Cerrado.



Fonte: Adaptado de ALMEIDA; SOUZA, (2003); MINAS GERAIS, (2020).

O pingo (soro fermento utilizado como inóculo) é um importante ingrediente, no sistema agroalimentar do queijo Minas Artesanal. Distingue em termos sensoriais, auxilia na segurança microbiológica (MARTINS, 2006). A diversidade e quantidade de microrganismos presentes na massa do queijo depende da composição do pingo, que é adicionado pelo produtor e essa quantidade varia de local para local. Esse modo de fazer proporcionará variação na intensidade e velocidade de fermentação, conseqüentemente na composição do queijo (MACHADO, et al., 2004).

Após a etapa de salga, é feito o processo de desenformagem do queijo, seguindo para sala de maturação, no qual o QMA passará por transformações importantes em que irá adquirir características sensoriais importantes e únicas, intrínsecas daquele local, como textura, cor, aroma e sabor. Nesse local, onde acontece a maturação, os queijos são armazenados em prateleiras de tábuas de madeira, sendo virados de tempos em tempos (MONTEIRO et al.,

2018). Na maturação é estabelecida além de atributos sensoriais específicos, garantia da segurança do alimento (CAMPOS et al., 2021).

Oliveira et al. (2013) caracterizaram alguns queijos do cerrado como semigordos, relacionando o teor de gordura do leite com fatores como a região e alimentação do gado. Quanto ao teor de umidade, esses mesmos autores classificaram como de alta umidade (46,5%), valores mais altos foram encontrados por Fernandes et al. (2011) equivalentes a 54,3% também classificando-os como de umidade elevada. A Emater (2003), cita as características sensoriais como, consistência semidura tendendo à maciez, com textura compacta e natureza manteigosa, crosta fina, amarelada e sem trinca, odor e sabor ligeiramente ácido, não picante e agradável e cor branca-amarelada. O IMA (2021) estipula por meio da Portaria n° 2.051, de 07 de abril de 2021 para maturação, tempo mínimo de 22 dias.

2.3 Fungos em Queijo Minas Artesanal

Segundo Calzada et al., (2014) o fenômeno de dinâmica populacional pode sofrer variação decorrente de condições de umidade, altitude, tempo de maturação, pH, tempo de maturação e pressão atmosférica enquanto o queijo é fabricado. Tudo dependerá da forma de produção, devido ao modo de fazer de cada local que possui sua própria assinatura geográfica e microbiana (SANT'ANNA et al., 2019).

Alguns microrganismos atuam diretamente no processo de proteólise e lipólise, influenciando em atributos como textura, sabor e qualidade nutricional (FOX, 2004). De acordo com Jonnala, (2018), é fundamental compreender a atuação desses microrganismos, se positivas ou negativas, afim de monitorar e auxiliar na promoção daqueles desejáveis. Borelli et.al., (2006) e Cosetta et.al., (2020), dizem que apesar de bem conhecida a capacidade de metabolização e produção de variados compostos orgânicos, ainda é desconhecido a interação entre esses microrganismos no ambiente do queijo.

No caso dos fungos filamentosos são muito estudados devido a sua ação deteriorante e são frequentemente relatados como contaminantes do leite e produtos lácteos, entretanto, a presença de muitos deles são essenciais quanto ao desenvolvimento e formação de características sensoriais de certos queijos maturados (LARSEN, 1999). Possuem capacidade de se manterem viáveis em condições inóspitas, sobrevivendo ao longo da maturação especialmente nas superfícies de queijos (FOX et al., 2000).

Segundo Sant'Anna (2019), cita que fatores com localização geográfica, condições de umidade e sazonalidade, influenciam na variação da comunidade microbiológica, assim como mudanças de pH e sal foram fatores de mudança estrutural com o passar do tempo de maturação.

De acordo com Banjara et al., (2015), os principais gêneros de fungos filamentosos encontrados em queijos são *Penicillium* e *Aspergillus*. Segundo Himery (2014) e Banjara (2015), uma espécie comum do gênero *Penicillium* em queijos é o *P. roqueforti*, muito conhecido e importante por atuar devido a suas lipases hidrossolúveis, no desenvolvimento da aparência, textura e sabor. Banjara, (2015) e Himery, (2014), reportam *Cladosporium cladosporioides*, como deteriorantes de queijos, assim como *P. commune* e *P. glabrum*, sendo este último relacionado também a perda de cor em superfície do queijo e alteração do sabor.

Enquanto as leveduras possuem boa capacidade em adaptar-se em ambientes como o queijo, por ser rico em substratos como proteínas, lipídios, açúcares e ácidos orgânicos, NÓBREGA (2008). Gordian et al., (2013), dizem que espécies do gênero *D. hansenii* são responsáveis por produzir compostos inibitórios de outros fungos, incluindo patógenos e deteriorantes. Segundo Silva (2020), há fortes interações entre os gêneros *Debaryomyces* e *Trichosporon* e *Diutina* e em uma disputa por nutrientes, *Diutina* não é favorecida.

Segundo Cardoso (2015), *C. catenulata*, *C. intermedia* e *C. parapsilosis*, mostraram eficiência de atividade de β -galactosidase e atividade proteolítica e lipolítica. Já *Debaryomyces hansenii* mostrou-se eficiente tanto para atividade de β -galactosidase quanto proteolítica e Van Den Tempel e Jakobsen (2000), observaram boa eficiência em assimilação de lactose e galactose, bem como produção de lipases e proteases. Enquanto *G. candidum* demonstrou boa atividade proteolítica e lipolítica (SACRISTÁN, GONZÁLEZ, CASTRO, et al., 2012).

As leveduras são consideradas importantes atuantes do desenvolvimento de características sensoriais desejáveis em queijos, como sabor e aroma, durante a maturação. São responsáveis pela produção por produzir compostos originados de suas enzimas lipase, protease e b-galactosidase em conjunto (CARDOSO et al., 2015; ANDRADE et al., 2017; LOPANDIC et al., 2006, BANJARA et al., 2015).

Em boa parte dos queijos estudados, as leveduras tem sido associadas à microbiota secundária, desempenhando papéis importantes durante a maturação desses alimentos. São geralmente encontradas espécies pertencentes aos gêneros, *Candida*, *Debaryomyces*, *Geotrichum*, *Kluyveromyces*, *Cryptococcus*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Kodamaea*, *Torulaspota* (BÜCHL & SEILER, 2011).

Em relação ao *Geotrichum sp.*, de acordo com Perkins, et. al., (2020), diversas discussões sobre suas variações morfológicas e genéticas ainda são geradas e estudadas. A espécie foi bastante isolada nas amostras de QMA do Cerrado, atuando além da contribuição na formação de características sensoriais, na inibição de fungos micotoxigênicos e espécies indesejáveis de *Penicillium* (MARCELLINO, 2014).

Segundo Prado, (2021), dos diversos compostos no desenvolvimento de sabor e aroma do queijo, *Geotrichum* é responsável por vários desses compostos. Já 3-metil-1-butanol, ácido octanóico e decanoato de etila são citados por Andrade et al. (2017). Destaca-se também sua habilidade de fermentação de lactose (FADDA et. al, 2004).

2.4 Maturação

Segundo Fox, (1989) durante a maturação em boa parte das variedades de queijos, uma das prováveis transformações bioquímicas mais importantes durante as modificações sofridas, é a proteólise. A proteólise é originada pela hidrólise de proteínas enquanto o queijo é maturado, no entanto, para obtenção de sabor e odor agradáveis, esse processo deve ser controlado, tendo em vista que o sabor amargo pode ocorrer quando a caseína é hidrolisada em peptídeos maiores e em seguida, eles são degradados em porções menores. Bemfeito et al. (2016) explica que o sabor amargo ocorre quando esses peptídeos são acumulados no queijo durante a maturação.

A maturação é um dos fatores de destaque que auxilia no controle da microbiota indesejável nos queijos, sendo importante para a segurança e consumo desse produto, além de ser diretamente ligada à formação sensorial do produto final (DORES, 2012). Segundo Wouters (2002), por meio da atividade de uma sucessão de microrganismo, um conjunto equilibrado de compostos forma o sabor do queijo maturado.

As propriedades físico-químicas e químicas do queijo são alteradas por eventos bioquímicos durante a maturação, dentre eles, o metabolismo da lactose residual, lactato e citrato. Além disso ocorre lipólise e metabolismo de ácidos graxos, e, catabolismo de aminoácidos e proteólise. Por meio de reações bioquímicas e provavelmente químicas, os produtos são modificados. As mudanças na textura e funcionalidade são decorrentes das principais reações, já as modificações dos produtos das reações primárias contribuem na formação do sabor (McSWEENEY, 2011).

Na maturação são produzidas enzimas proteolíticas, glicolíticas e lipolíticas, responsáveis por características sensoriais importantes. O açúcar do leite é fermentado, são

produzidos ácido láctico e substâncias inibitórias como bacteriocina (RAFAEL, 2017). Em relação a lactose presente no queijo, *G. candidum* quando cresce em ambiente hidrolisado, não consegue consumir lactose, no entanto, consegue metabolizar galactose e por consequente, o lactato (SOULIGNAC, 1995).

Segundo Fleet (2011), a ocorrência de *D. hansenii* em produtos lácteos é favorecida pela produção de proteases e/ou lipases extracelulares. Padilla et al., (2014), em relação a atividade enzimática, *D. hansenii* mostrou boa capacidade de hidrolisar ésteres de ácido palmítico, esteárico e oleico, respectivamente em queijos de ovelha e cabra.

De acordo com a Portaria do IMA de abril de 2013, foi estabelecido para tempo de maturação do QMA em Minas Gerais diretrizes que passaram a valer em todo o território nacional, em que oficializou para QMA do Serro 17 dias de maturação e 22 dias de maturação para as demais regiões (Brasil, 2013).

O IMA define tempo de maturação para as regiões produtoras de QMA Diamantina, Entre Serras da Piedade ao Caraça, Campo das Vertentes, Cerrado, Serras da Ibitipoca, e Triângulo Mineiro 22 dias, Serro, 17 dias, Araxá, Canastra e Serra do Salitre, 14 dias (IMA, 2021).

2.5 MALDI TOF: generalidades

Uma opção muito utilizada na quantificação de compostos conhecidos, identificação de compostos desconhecidos e conhecimento estrutural de moléculas e propriedade químicas, é a espectrometria de massas. A sigla MALDI significa Matrix Assisted Laser Desorption Ionization e TOF que quer dizer Time of flight em inglês e funciona como detecção em um analisador do tipo tempo de voo e possibilita a identificação e quantificação de átomos ou moléculas em função da sua relação massa/carga (m/z) devido a ionização de átomos ou moléculas de uma amostra (GOULART, 2013).

Atualmente técnicas de identificação fenotípica e molecular mais confiáveis, rápidas e baratas que auxiliem na identificação de microrganismos são necessárias para obtenção de resultados mais eficientes. De acordo com Chakrabarti, (2016), essa técnica tem sido empregada por muitos laboratórios devido a sua eficiência e menor custo das análises. Para uma identificação mais precisa, é ideal que seja utilizado culturas puras, além de ser necessário também atualização do banco de dados, afim de garantir identificação com scores altos e confiáveis.

Para a obtenção de proteínas ribossômicas das leveduras, faz-se extração por meio de ácido fórmico em que alçadas de células cultivadas (de uma colônia única 10 µl), são transferidas para tubos contendo 300 µl de água deionizada, agita-se em vórtex durante 30 segundos. Adiciona-se 900µl de etanol puro e agita-se novamente em vórtex durante 30 segundos. Centrifuga-se as células por 2 minutos a 13.000 rpm, e remove-se o sobrenadante com ponteira de forma que não haja contato entre ponteira e biomassa (recomenda-se trocar sempre de ponteira para evitar contaminação cruzada). Após descarte do sobrenadante, adiciona-se ao precipitado, 50µl de ácido fórmico 70% e 50µl de acetonitrila, agita-se em vórtex e centrifugados por 2 489 minutos a 13000 rpm (esse processo deve ser repetido pelo menos 5 vezes até remoção da solução etanólica).

Para proceder identificação, os precipitados são inseridos com ponteira (triplicata) em placas de 96 poços MALDI flex (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha) contendo matriz polimérica, aguarda-se completa evaporação do líquido e em seguida as placas são inseridas no equipamento para análise. O equipamento é calibrado com uma espécie em que se conheça seu padrão confiável. O equipamento ao fazer a leitura, oferece por meio de um programa específico o dendrograma em que são agrupadas linhagens similares entre eles, espectros presentes no banco de dados e score para detecção de confiabilidade da identificação.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, R. P. et al. Yeasts from Canastra cheese production process: Isolation and evaluation of their potential for cheese whey fermentation. **Food research international**, v. 91, p. 72-79, 2017.
- BANJARA, N.; SUHR, M.J.; HALLEN-ADAMS, H.E. Diversity of yeast and mold species from a variety of cheese types. **Current microbiology**, 70(6), 792-800. 2015.
- BEMFEITO, R. M. et al. Temporal dominance of sensations sensory profile and drivers of liking of artisanal Minas cheese produced in the region of Serra da Canastra, Brazil. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 10, p. 1-12, 2016.
- BORELLI, B. M. et al. Yeast populations associated with the artisanal cheese produced in the 892 region of Serra da Canastra, Brazil. **World Journal Microbiol Biotechnol**, Belo Horizonte, v. 893 22, p. 1115-1119, fev. 2006.
- BRASIL. **Cerrado Mineiro. PNG**. 2022. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inovacao/agrohub-brasil/ecossistemas/rede-de-inovacao-do-cerrado-mineiro-mg-1/cerrado_mineiro_.png/view
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 57 de 15 de dezembro de 2011**. Brasília, DF.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 30 de 07 de agosto de 2013**. Brasília, DF.
- BÜCHL, N. R., & SEILER, H. (2011). Yeast and molds: yeasts in milk and dairy products. In H. Roginski, J. W. Fuquay, P. F. Fox, eds. *Encyclopedia of dairy sciences* (2nd ed., pp. 744-753). New York: Elsevier. [http:// dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00498-2](http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00498-2).
- CAIXETA, L. P. **Comunicação rural em narrativas multimídia: uma proposta de divulgação do trabalho dos integrantes da Associação dos Produtores de Queijo Minas Artesanal do Cerrado**. 168 f. [Dissertação, Mestrado Profissional em Tecnologias, Comunicação e Educação, Universidade Federal de Uberlândia]. 2020.
- CALZADA, J.; DEL OLMO, A.; PICON, A.; GAYA, P.; NUÑEZ, M. Effect of high-pressure processing on the microbiology, proteolysis, texture and flavour of Brie cheese during ripening and refrigerated storage. *International Dairy Journal*. v. 37, p. 64-73, 2014.
- CARDOSO, V. M. et al. The influence of seasons and ripening time on yeast communities of a traditional Brazilian cheese. *Food Research International*, v. 69, p. 331-340, 2015
- CHAKRABARTI, A. The Future of Infectious Diseases Diagnostics: MALDI-TOF. *International Journal of Infectious Diseases*. 45S: 1-477. 2016.
- CORREIA, V. T. V., ASSIS, I. C. L. (2017) Queijos artesanais: revisão de Literatura. **Nutri Time**, 14(6), 8001-8008.
- COSETTA, C. M. et al. Fungal volatiles mediate cheese rind microbiome

assembly. **Environmental Microbiology**, v. 22, n. 11, p. 4745-4760, 2020.

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.

DORES, M. T.; NÓBREGA, J. E.; FERREIRA, C. L. L. F. Room temperature aging to guarantee microbiological safety of Brazilian artisan Canastra cheese. **Food Science and Technology**, v. 33, n. 1, p. 180- 185, 2013.

DORES, M. T.; NÓBREGA, J. E.; FERREIRA, C. L. L. F. Room temperature aging to guarantee microbiological safety of Brazilian artisan Canastra cheese. **Food Science and Technology**, v. 33, n. 1, p. 180- 185, 2013.

EMATER MG - Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Minas Gerais. **Catálogo do Queijo Minas Artesanal**. 2023.

EMATER MG. Caracterização da microrregião do Alto Paranaíba como produtora do Queijo Minas Artesanal. 2003. Disponível em:
[https://www.emater.mg.gov.br/doc/intranet/upload/QUEIJO_HISTORICO/caracteriza%C3%A7ao%20altoparanaiba%20\(1\).pdf](https://www.emater.mg.gov.br/doc/intranet/upload/QUEIJO_HISTORICO/caracteriza%C3%A7ao%20altoparanaiba%20(1).pdf).

EMATER MG. **Caracterização Integrada de municípios na região do Vale do Jequitinhonha como produtores de Queijo Cabacinha**. 2021. 127p. Belo Horizonte: Emater MG.

FADDA, M.E., MOSSA, V., PISANO, M.B., DEPLANO, M., COSENTINO, S., 2004. Occurrence and 668 characterization of yeasts isolated from artisanal Fiore Sardo cheese. *Int. J. Food Microbiol.* 95, 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.02.001>

FERNANDES, R. V. B., BOTREL, D. A., ROCHA, V. V., et al. Avaliação Físico-Química, Microbiológica E Microscópica Do Queijo Artesanal Comercializado Em Rio Paranaíba-MG. (2011) **Revista Instituto Laticínios Cândido Tostes**, 382 (66) 21-26.

FLEET, G. H. Yeast spoilage of foods and beverages. In: **The yeasts**. Elsevier, p. 53-63, 2011.

FOX, P. F. et al. Biochemistry of Cheese Ripening. In: **Fundamentals of cheese science**. **Gaithersburg**: Aspen Publication, 2000. cap. 11, p. 236-281.

FOX, P. F. Proteolysis during cheese manufacture and ripening. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 6, p. 1379-1400, 1989.

FOX, Patrick F. et al. (Ed.). **Cheese: chemistry, physics and microbiology**, volume 2: major cheese groups. Elsevier, 2004.

GORDIAN, V.; SERRANO, Y.; ARROYO, N. **Characterization of Debaryomyces hansenii strains as a potential treatment against superficial mycoses**. Federation of American Societies for Experimental Biology. 2013.

GOULART, V.A.M. **MALDI-TOF**: uma ferramenta revolucionária para as análises clínicas e pesquisa do câncer. *Nanocell News*. Vol. 1, N. 3, 21 de novembro de 2013.

HYMERY, N., VASSEUR, V., COTON, M., MOUNIER, J., JANY, J.L., BARBIER, G., COTON, E., 2014. 694 **Filamentous fungi and mycotoxins in Cheese**: A review. Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. 695 13, 437–456. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12069>

IMA - Instituto Mineiro de Agropecuária. **Portaria IMA nº 1969, de 26 de março de 2020**. 2020.

IMA- Instituto Mineiro de Agropecuária. **Portaria nº 619, de 1º de dezembro de 2003**. Identifica a microrregião do Alto Paranaíba como produtora do queijo Minas Artesanal.

IMA. Instituto Mineiro de Agropecuária. **Portaria nº 2033, de 23 de janeiro de 2021**. Dispõe sobre os parâmetros e padrões físico-químicos e microbiológicos de alimentos de origem animal e água de abastecimento.

IPHAN - Castro, M. L. V. et al. **Patrimônio imaterial no Brasil**. Brasília: UNESCO, Educarte, 2008. 199 p. ISBN: 978-85-7652-085-6.

IPHAN - Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional. **Modo Artesanal de Fazer Queijo de Minas: Serro, Serra da Canastra e Serra do Salitre (Alto Paranaíba)**. (2014) Recuperado de:

http://portal.iphan.gov.br/uploads/publicacao/Dossie_Queijo_de_Minis_web.pdf.

IPHAN - Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional. Queijo Artesanal de Minas, Patrimônio cultural do Brasil – **Dossiê interpretativo**. (2006) Recuperado de: http://portal.iphan.gov.br/uploads/ckfinder/arquivos/Dossie_modofazerqueijominas.pdf.

IPHAN - Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional. Registro dos Queijos Artesanais de Minas, a ser inscrito no Livro dos Saberes. 2008.

JONALLA, B. R. Y.; MCSWEENEY, P. L. H.; SHEEHAN, J. J.; COTTER, P. D. Sequencing of the Cheese Microbiome and Its Relevance to Industry. *Frontiers in Microbiology*. v. 9, 2018.

KAMIMURA, B.A., MAGNANI, M., LUCIANO, W.A., CAMPAGNOLLO, F.B., PIMENTEL, T.C., et. Al. (2019), Brazilian Artisanal Cheeses: An Overview of their Characteristics, Main Types and Regulatory Aspects. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18: 1636-1657. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12486>. Acesso em: 27 jan. 2022.

LOPANDIC, K. et al. Identification of yeasts associated with milk products using traditional and molecular techniques. *Food Microbiology*, v. 23, p. 341-350, 2006.

MACHADO, E. C. et al. Características físico-químicas e sensoriais do queijo Minas artesanal produzido na região do Serro, Minas Gerais. *Food Science and Technology*, v. 24, p. 516-521, 2004.

MARCELLINO, N.; BENSON, D. R. The good, the bad, and the ugly: tales of mold-ripened cheese. In: *Cheese and Microbes*. American Society of Microbiology, p. 95-131, 2014.

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

MCSWEENEY, Paul LH. Biochemistry of cheese ripening. **International journal of dairy technology**, v. 57, n. 2-3, p. 127-144, 2004.

MENESES, J. N. C. Queijo artesanal de Minas: Patrimônio Cultural do Brasil. Dossiê Interpretativo, v.1, Belo Horizonte, 2006

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 do Estado de Minas Gerais: caderno 1, Belo Horizonte, MG, n. 236,19 dez. 2012.

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 do Estado de Minas Gerais: caderno 1, Belo Horizonte, MG, n. 236,19 dez. 2012.

MONTEIRO, R. P.; MATTA, V. M. DA (ED.). **Queijo Minas Artesanal: valorizando a agricultura familiar**. Brasília: Embrapa, 2018. 102 p. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/199625/1/Livro-Queijo-Minas-Artesanal-Ainfo.pdf>.

MONTEIRO, R. P.; MATTA, V. M. DA (ED.). **Queijo Minas Artesanal: valorizando a agricultura familiar**. Brasília: Embrapa, 2018. 102 p. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/199625/1/Livro-Queijo-Minas-Artesanal-Ainfo.pdf>.

NÓBREGA, J; E; FERREIRA, C; DORES, M; FERREIRA, E; DOMINGO, E; SANTOS, J. **Variações na microbiota leveduriforme do fermento endógeno utilizado na produção do queijo Canastra**. Revista do Instituto de Laticínio Candido Tostes, 364. 2008, pp.14-18.

OLIVEIRA, D. F., PORTO, M. A. C., BRAVO, C. E. C., & TONIAL, I. B. (2013). Caracterização Físico-Química De Queijos Minas Artesanal Produzidos Em Diferentes Microrregiões De Minas Gerais. **Revista Brasileira de Economia Doméstica**, 24(2), 185–196.

PADILLA, B., BELLOCH, C., LÓPEZ-DÍEZ, J. J., FLORES, M., & MANZANARES, P. (2014). Potential impact of dairy yeasts on the typical flavour of traditional ewes' and goats' cheeses. **International Dairy Journal**, 35(2), 122-129. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.11.002>

PENLAND, M. et al. Linking Pélardon artisanal goat cheese microbial communities to aroma compounds during cheese-making and ripening. **International Journal of Food Microbiology**, v. 345, n. November 2020, 2021.

PERKINS, V. et al. Phenotypic and genetic characterization of the cheese ripening yeast *Geotrichum candidum*. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 737, 2020.

RAFAEL, V. C. **Fenótipos da microbiota predominante do fermento endógeno (pingo) relevantes para as características e segurança microbiológica do queijo Minas Artesanal da Serra da Canastra**. Tese de doutorado em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2017.

SACRISTÁN, N. et. al. Technological characterization of *Geotrichum candidum* strains isolated from a traditional Spanish goats' milk cheese. **Food Microbiology**. 2012.

SANT'ANNA, -. M. D. **Microbioma do Queijo Minas Artesanal da Serra do Salitre ao longo do período de maturação.** Tese de doutorado em Ciência Animal, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2019.

SILVA, J. M. **Micobiota core de queijos de leite cru produzidos na região da Serra da Canastra.** 2020. 63 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2020.

SOULIGNAC, L. **Propriétés des levures fromagères. Influence des sources de carbone utilisées sur leurs aptitudes à déacidifier les caillés et à former des composés d'arôme.** 1995. PhD thesis INAParis-Grignon.

WOUTERS, J.T.M, AYAD, E.H., HUGENHOLTZ, J.; te al., Microbes from raw milk for fermented Dairy products. **International Dairy Journal**, v.12, p. 91-109, 2002.

SEGUNDA PARTE

ARTIGO – MICROBIOTA EM QUEIJO MINAS ARTESANAL “CASCA FLORIDA” EM DIFERENTES TEMPOS DE MATURAÇÃO

MYCOBIOTA IN ARTISANAL MINAS CHEESE “FLOWERY RIND” AT DIFFERENT MATURATION TIMES

Lucy Mara Nascimento Rocha¹, Luís Roberto Batista^{1*}, Fabiana Passamani¹, Fabiana Regina Lima¹

¹Departamento de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, Minas Gerais, Brasil.

*Autor correspondente:

Luís Roberto Batista, Departamento de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras (UFLA), CEP 37200-900, Lavras, Minas Gerais, Brasil

Tel.: (+55) (35) 3829 1401 Ramal 18

E-mail: luisrb@dca.ufla.br

RESUMO GERAL

O Queijo Minas Artesanal (QMA) é um produto genuíno do estado de Minas Gerais, produzido com técnicas tradicionais. Seu “modo de fazer” foi reconhecido como Patrimônio Cultural Imaterial em 2008 (IPHAN). Minas Gerais contém dez regiões reconhecidas como produtoras do queijo Minas artesanal, dentre elas, Araxá, Campos das Vertentes, Cerrado, Serra da Canastra, Serra do Salitre, Serro, Triângulo Mineiro, Serras da Ibitipoca, Diamantina e Entre Serras de Piedade ao Caraça. Fatores como a produção artesanal, a composição microbiana da matéria-prima, manipulação, produção, exposição na sala de maturação, são elementos fundamentais que podem influenciar na qualidade do produto final. Recentemente, foi reconhecido a variedade de QMA de “casca florida”, com visual predominância de fungos filamentosos na superfície, despertando mais ainda a necessidade de conhecimento da diversidade micológica existente nesses queijos. Na Microrregião do Cerrado mineiro, existem poucos estudos sobre a microbiota dos QMA's, e como essa comunidade se modifica durante a maturação. Nesse sentido, o objetivo desta pesquisa foi analisar Queijo Minas Artesanal de casca florida da Microrregião do Cerrado mineiro, identificando a microbiota predominante e variações nos aspectos físico-químicos, considerando diferentes tempos de maturação. Foram 11 amostras de QMA coletadas no período seco com maturação de 18, 23, 33 e 60 dias. Realizou-se análises micológicas e físico-químicas, considerando casca e massa. O isolamento dos fungos ocorreu por método dependente de cultivo pela técnica de diluição seriada. A identificação dos fungos filamentosos foi feita com manuais de identificação e as leveduras em MALDI-TOF. Nas análises físico-químicas, foram analisados pH, umidade, teor de gordura no extrato seco, proteínas e sal na umidade. As diferenças estatísticas foram analisadas ao nível de 5% de variância pelo teste Tukey com o software SISVAR. Como resultado, isolou-se mais fungos nas superfícies ($81,65 \times 10^6$ UFC/g) que na massa ($19,25 \times 10^4$ UFC/g), onde foram identificadas *D. catenulata*, *K. lactis*, *T. delbrueckii*, *D. hansenii*, *C. intermedia*, *W. pararugosa* e os fungos filamentosos *G. candidum*, *Geotrichum sp.*, *Cladosporium sp.*, *T. variabili*, *Penicillium sp.*, *P. corylophilum*, *P. decubens*, *P. brevicompactum*. Os resultados físico-químicos mostraram diferença estatisticamente na casca e massa para pH e umidade, para proteína não houve distinção estatística, para gordura e sal na umidade houve diferença estatística nas análises de massa. Os valores percentuais médios da massa variaram entre 18 a 60 dias para pH: 5.6 ± 0.2 ab - 5.7 ± 0.1 ab); umidade: (50.9 ± 1.7 a - 37.2 ± 0.5 b); proteína (17.8 ± 4.4 a - 27.8 ± 0.9 a); gordura no extrato seco: (28.3 ± 0.2 a - 20.3 ± 0.0 b); sal na umidade: (3.3 ± 0.2 a - 4.0 ± 0.0 ab). Na casca obteve-se para pH: (6.0 ± 0.3 a - 7.1 ± 0.2 b); umidade: (50.3 ± 2.8 a - 30.6 ± 1.2 b); proteína (19.1 ± 2.7 a - 16.4 ± 4.8 a); gordura no extrato seco: (27.3 ± 0.0 a - 26.0 ± 0.0 a); sal na umidade: (2.8 ± 0.9 a, - 2.6 ± 0.0 a). Esses resultados contribuíram para quantificar e identificar a diversidade micológica presente nos queijos analisados. Os parâmetros físico-químicos podem ser influenciados pela microbiota presente. A presença e altas contagens de leveduras benéficas e do *G. Candidum* tanto na massa, quanto na casca, é positiva, pois representa qualidade sanitária e sensorial, demonstrado segurança para consumo.

Palavra-chave: Modo de fazer. Diversidade fúngica. Maturação.

ABSTRACT

Artisanal Minas Cheese (QMA), is a genuine product from the state of Minas Gerais, produced with traditional techniques. The “way of production” has been recognized as an Immaterial Cultural Heritage in 2008 (IPHAN). Minas Gerais contains ten regions recognized as producers of Artisanal Minas Cheese, including Araxá, Campos das Vertentes, Cerrado, Serra da Canastra, Serra do Salitre, Serro, Triângulo Mineiro, Serras da Ibitipoca, Diamantina and Entre Serras de Piedade ao Caraça. Factors such as artisanal production, the microbial composition of the raw material, handling, production, maturation, are fundamental elements that can influence the quality of the final product. Recently, the “flowery rind” variety of QMA was recognized, with a visual predominance of filamentous fungi on the surface, further awakening the need for knowledge of the mycological diversity existing in these cheeses. In the Cerrado Microregion of Minas Gerais, there are few studies on the mycobiota of QMA’s, and how this community changes during maturation. The objective of this research was to analyze QMA with flowery rind from the Cerrado Microregion of Minas Gerais, identifying the predominant mycobiota and variations in physical-chemical aspects, considering different maturation times. There were 11 QMA samples collected in the dry period with maturation of 18, 23, 33 and 60 days. Mycological and physicochemical analyzes were carried out, considering shell and mass. The fungi were isolated using a cultivation-dependent method (serial dilution technique). The identification of filamentous fungi was done using identification manuals and yeasts using MALDI-TOF. In the physical-chemical analyses, pH, humidity, fat content in the dry extract and proteins were analyzed. Statistical differences were analyzed at the level of 5% of variance using the Tukey test with the SISVAR software. As a result, more fungi were isolated on the rind (81.65×10^6 CFU/g) than in the mass (19.25×10^4 CFU/g), where *D. catenulata*, *K. lactis*, *T. delbrueckii*, *D. hansenii*, *C. intermedia*, *W. pararugosa* and the filamentous fungi *G. candidum*, *Geotrichum sp.*, *Cladosporium sp.*, *T. variabili*, *Penicillium sp.*, *P. corylophilum*, *P. decubens*, *P. brevicompactum*. The physicochemical results showed a statistically difference in the skin and mass for pH and humidity, for protein there was no statistical distinction, for fat and salt in humidity there was a statistical difference in the mass analyses. The average mass percentage values varied between 18 and 60 days for pH: $5.6 \pm 0.2ab$ - $5.7 \pm 0.1ab$); humidity: ($50.9 \pm 1.7a$ - $37.2 \pm 0.5b$); protein ($17.8 \pm 4.4a$ - $27.8 \pm 0.9a$); fat in the dry extract: ($28.3 \pm 0.2a$ - $20.3 \pm 0.0b$); salt in humidity: ($3.3 \pm 0.2a$, - $4.0 \pm 0.0ab$). In the rind, pH was obtained: ($6.0 \pm 0.3a$ - $7.1 \pm 0.2b$); humidity: ($50.3 \pm 2.8a$ - $30.6 \pm 1.2b$); protein ($19.1 \pm 2.7a$ - $16.4 \pm 4.8a$); fat in dry extract: ($27.3 \pm 0.0a$, - $26.0 \pm 0.0a$); salt in humidity: ($2.8 \pm 0.9a$, - $2.6 \pm 0.0a$). These results contributed to identifying the mycological diversity present in the cheeses analyzed. Physicochemical parameters can be influenced by the microbiota. The high counts of beneficial yeasts and *G. Candidum* in both the dough and the rind are positive, representing sanitary and sensorial quality for consumption.

Keyword: Way of production. Mycological diversity. Maturation.

1 INTRODUÇÃO

O Queijo Minas Artesanal é alimento genuíno do estado de Minas Gerais, que vem se destacando ao longo do tempo, por suas técnicas simples, artesanais e tradicionais que carregam consigo histórias, legados e identidade cultural. O “modo de fazer”, ganhou espaço no Livro dos Saberes e título de Patrimônio Cultural Imaterial em 2008 pelo Instituto de Patrimônio Histórico Artístico Nacional (IPHAN), além de Identidade Geográfica (IG).

A Portaria do IMA, nº 1969, de 26 de março de 2020, determina Queijo Minas Artesanal (QMA), o queijo produzido com leite cru, integral, recém ordenhado, sadio, produzido na mesma propriedade. Deve ser firme, consistente, com cor e sabor próprio, de massa uniforme. Não é permitido uso de corantes e conservantes. Seu tempo de maturação deve atestar segurança e ser estipulado por meio normativas, bem como, estudos científicos (IMA, 2020). Segundo a EMATER (2023), atualmente, o estado de Minas Gerais possui dez regiões reconhecidas como produtoras do Queijo Minas Artesanal, dentre elas, Araxá, Campos das Vertentes, Cerrado, Serra da Canastra, Serra do Salitre, Serro, Triângulo Mineiro, Serras da Ibitipoca, Diamantina e Entre Serras de Piedade ao Caraça.

Devido ao modo de fazer de cada local, cada queijo Minas Artesanal tem individualmente características sensoriais intrínsecas, mesmo passando por etapas de produção parecidas, além dos toques artesanais, fatores externos como a composição microbiana da matéria-prima, a manipulação durante a produção, a exposição ao ambiente da sala de maturação, são elementos fundamentais que determinarão a qualidade do produto final, que apresenta sua própria assinatura geográfica e microbiana.

Segundo Calzada et al., (2014), o fenômeno de dinâmica populacional pode sofrer variação decorrente de condições de umidade, altitude, tempo de maturação, pH, tempo de maturação e pressão atmosférica enquanto o queijo é fabricado. Nesse sentido, considerando que são produzidos e maturados artesanalmente e sob condições não controladas, é fundamental entender sobre os aspectos físico-químicos e sensoriais desses queijos, no entanto, também é fundamental compreender sobre a diversidade microbiana contida nesses queijos.

Dentre essa biodiversidade, os fungos em especial, geralmente são relatados como contaminantes e deteriorantes, no entanto, atuam em todas as etapas de produção do queijo e alguns deles destacam-se como produtores de compostos importantes que influenciam em características sensoriais desejáveis. Além disso, no caso dos queijos de “casca florida”, a

prevalência visualmente dominante de fungos filamentosos na casca é um diferencial em que muitos produtores aderem. Recentemente foi publicada uma normativa, a Resolução N° 42 de 27 de dezembro de 2022 (SEAPA), que identifica como “casca florida” o queijo com aparência visível e dominante de fungos filamentosos e estabelece *G. candidum* como um fungo pertencente e predominante nas superfícies do QMA, sendo necessários estudos que atestem a presença do fungo e sua inocuidade.

Na região do Cerrado mineiro em particular, existem poucos estudos sobre aspectos físico-químicos e também sobre a micobiota dos queijos Minas Artesanais de “casca florida”, sendo importante traçar um estudo sobre esses fungos, afim de observar se essa comunidade se modifica ao longo do tempo, como se comportam e como se apresentam a medida em que são maturados. Isso poderá auxiliar futuramente na identificação de uma micobiota core dos queijos Minas Artesanais produzidos no Cerrado mineiro.

Considerando-se o exposto, esta pesquisa foi conduzida com o objetivo de analisar Queijo Minas Artesanal de ‘casca florida’ da microrregião do Cerrado mineiro, em diferentes tempos de maturação, identificando a micobiota predominante, bem como variações nos aspectos físico-químicos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem

As coletas aconteceram em julho de 2022, no período de seca (maio a outubro) em uma queijaria (Fazenda Santa Clara) na cidade de Abadia dos Dourados-Minas Gerais, Microrregião do Cerrado, com coordenadas geográficas 18° 31'06.6''S 47°21'11.4W. Os queijos analisados possuem certificação de Registro de Inspeção e Selo Arte.

Ao todo, foram coletadas 11 amostras de Queijo Minas Artesanal de Casca Florida produzidos e maturados na própria fazenda com diferentes tempos de maturação, conforme explica a tabela 1.

Tabela 1- Intervalo de tempo (dias) de maturação dos queijos analisados e quantidade de amostras coletadas, respectivamente.

Tempo de maturação dos queijos	
Tempo de maturação	Quant. de amostras de queijos
18 dias	3
23 dias	3
33 dias	3
60 dias	2

Fonte: Da autora (2023)

A aparência das superfícies dos queijos em cada tempo de maturação foi de cremosa à rígida e quase que completamente coberta com fungos brancos, conforme pode ser observada na figura 3.

Figura 3- Aparência dos queijos coletados na Fazenda Santa Clara em Abadia dos Dourados – Microrregião do Cerrado – MG em seus respectivos tempos de coleta.



Fonte: Da autora (2023)

Os queijos coletados e analisados foram embalados na queijaria utilizando embalagem de papel antigordura própria do estabelecimento, conforme figura 4.

Figura 4- Embalagem dos queijos coletados.



Fonte: Da autora (2023)

As amostras foram acondicionadas e transportadas sob refrigeração e levadas imediatamente à Unidade de Recursos Microbiológicos (URMICRO), na Coleção de Culturas da Universidade Federal de Lavras (UFLA)-MG, foram armazenadas em congelamento rápido em ultrafreezer com temperatura de -80°C até início das análises.

Preparo das amostras

Para obtenção de uma visão mais ampla e detalhada dos queijos, as cascas e massas de cada queijo foram pesadas e analisadas separadamente. Para diferenciar cascas de massa, foi aferido com auxílio de paquímetro a espessura de casca de cada queijo de acordo com a maturação, conforme a tabela 2.

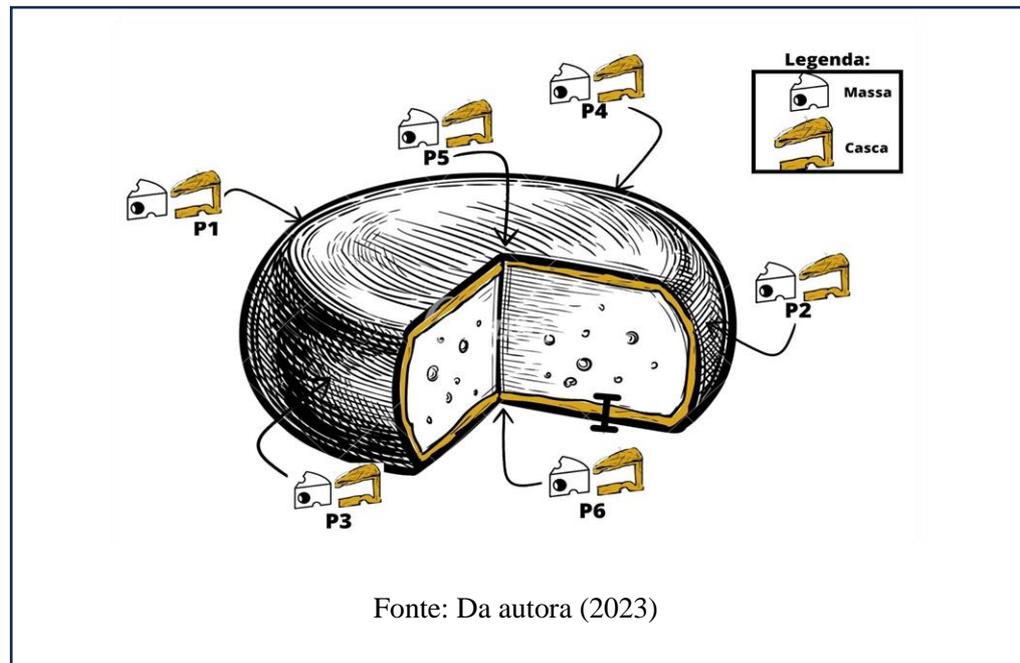
Tabela 2- Espessuras das cascas dos queijos conforme cada maturação.

Maturação	Espessura da casca
18 dias	2-4 mm
23 dias	3-6 mm
33 dias	5-8 mm
60 dias	7-11 mm

Fonte: Da autora

Para as análises microbiológicas foram retirados em ambiente estéril 25 g (em triplicata) e 100g para análises físico-químicas. Essas amostras retiradas foram de partes equidistantes do queijo, obtidas de 4 pontos das laterais (P1, P2, P3 e P4) e 2 pontos centrais, base e superfície, (P5 e P6) conforme mostra a figura 5.

Figura 5- Pontos equidistantes utilizados para retirar a amostragem das análises.



Análises Microbiológicas

O isolamento de fungos filamentosos e leveduras das amostras de QMA ocorreu por método dependente de cultivo através da técnica de diluição seriada. Para a diluição, utilizou-se 25 g, em triplicata, de partes do queijo (casca e miolo) retirados com auxílio de um trado, separou-se massa e casca em sacos plásticos estéreis, adicionou-se 225 ml de água peptonada com concentração de 0,1% e levada ao Stomacker para homogeneização a 490 golpes/3 minutos.

Em seguida foi realizada a diluição seriada em que foram retiradas alíquotas de 0,1 ml das diluições e foi utilizada a técnica *spread plate*, isolamento em superfície de meios de cultura e incubadas em BOD a 25°C durante 5 dias (padronizou-se esse tempo devido ao viabilidade das leveduras e crescimento dos fungos). Os meios de cultura utilizados foram: Ágar Dichloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC) (Aw: 0,99) e Dichloran Glicerol Medium Base (DG18) (Aw 0,96) adicionada de glicerol.

Os dois meios de cultura foram utilizados a fim de ampliar o crescimento da diversidade fúngica dos queijos. Silva et al. (2017), que esses meios de cultura auxiliam na redução do tamanho das colônias, obtendo assim colônias separadas, possibilitando uma melhor identificação. Após crescidas as colônias, foram selecionadas para contagem e caracterização

aquelas placas que continham entre 15 a 150 colônias.

Caracterização morfológica dos fungos, purificação e preservação

Inicialmente fez-se caracterização morfológica macroscópica dos diferentes morfotipos agrupando-os conforme características como cor, borda, forma, superfície, tamanho de acordo com procedimento descrito por Kurtz et al (2011) para leveduras. A mesma metodologia foi adaptada para caracterização dos fungos filamentosos. Em seguida, após agrupá-los foi utilizada técnica de raiz quadrada afim de isolar quantidade necessária e representativa (SENGUN, NIELSEN, KARAPINAR et al, 2009).

Após determinada raiz quadrada, os morfotipos foram repicados para outros meios de cultura com finalidade de obter colônias puras. As leveduras foram isoladas em YEPG (Yeast Extract Peptona Glicose) e os fungos filamentosos MA (Malte Extract), em seguida foram incubados em BOD a 25°C/ durante 48 horas (leveduras) e 7 dias (fungos filamentosos). As colônias foram repicadas até purificação.

Atendidos esses critérios, as leveduras foram preservadas em solução de YEPG caldo (0,5 mL) e Glicerol 40% e os fungos filamentosos em Glicerol 20%, (o glicerol atua como crioprotetor), em criotubos tipo eppendorff®, em seguida, foram submetidos a congelamento rápido para serem reativados posteriormente.

Identificação dos fungos filamentosos

Para identificação dos fungos filamentosos, foram reativados aqueles que estavam preservados em meio de cultura MA e incubados em BOD 25°C / 7 dias. Em seguida, foram repicados para os meios de culturas CYA (Czapec meio de cultura Dox agar) em 2 repetições sendo 1 incubada em 25°C/ 7 dias e outra incubada em 37°C/ 7 dias e MEA (Malt Extrato Agar) a 25° C por 7 dias.

Após o período de incubação, as características macro e microscópicas foram observadas de acordo com manuais de identificação utilizados, *Penicillium* (PITT, 1988), para outros gêneros (Samson, Hoekstra e Frisvad ,2004).

As leveduras preservadas foram reativadas em caldo YEPG e incubados a 28° C por 48h e posteriormente fez-se estrias em meio YEPG para identificação em MALDI-TOF.

Identificação das leveduras em MALDI-TOF

As leveduras após reativadas em placas contendo meio YEPG, incubadas em BOD a 25°C/48 horas, foram repicadas novamente e incubadas em BOD 25°C entre 18-20 horas, para proceder com extração da proteína em solução etanólica para análise de proteína ribossômica por meio de espectrometria de massa de tempo de voo (MALDI-TOF), a solução etanólica foi congelada e enviada à uma empresa terceirizada para identificação das espécies. O procedimento de preparo e identificação em MALDI-TOF, foi feito conforme protocolo da empresa responsável (Bruker Biotyper 2.2).

Depósito das espécies

Após identificadas, 3 cepas de cada espécie foram depositadas na Coleção de Cultura de Microrganismos na Unidade de Recursos Microbiológicos -URMICRO, da Universidade Federal de Lavras -UFLA, contribuindo com a expansão do acervo existente e futuros estudos.

Análises Físico-químicas

As análises físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Leite e Derivados do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras (UFLA), as amostras da massa e casca dos queijos foram analisadas em triplicata, segundo os protocolos da Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2006) e do Instituto Adolfo Lutz (2008).

Foram avaliados parâmetros de pH, umidade, teor de gordura pelo método butirométrico (método Van Gulik), proteínas pelo método Kjeldahl e sal na umidade, conforme descrição:

- pH: Homogeneiza-se 10 g de amostra em 40 mL de água destilada em seguida foi aferido após estabilização com medidor de pH. O resultado é dado direto em unidades de pH.
- Umidade: Pesa-se de 2 a 10 g da amostra em cápsula de porcelana, aquece durante 3 horas, resfria-se em dessecador até a temperatura ambiente, pesa-se até peso constante.
- Gordura: Com o auxílio de um butirômetro específico para queijos fez-se a digestão da matéria orgânica com 10 mL de ácido sulfúrico ($d_{20}=1.825$ g/L), fez-se a separação das fases utilizando 1 mL de álcool isoamílico ($d_{20}=0.811$ g/L) e água destilada quente.

Centrifugado por 4-5 min a 1200-1400 rpm, em seguida em banho-maria (65-66 °C) por 2-3 minutos. Faz-se leitura com escala do próprio equipamento.

- Proteínas: A determinação do Nitrogênio Total (NT) foi determinada pelo método de Kjeldhal. O Cálculo do teor de proteínas totais: $NT \times 6,38$
- Sal na umidade: calculou-se o sal na umidade de acordo com a seguinte equação de acordo com PAULA et al., (2009) em que:

$$\% \text{ de sal na umidade} = (\% \text{ Cloretos} \times 100) / (\% \text{ Cloretos} + \%U)$$

Em que:

% de sal na umidade do queijo (m/m);

% Cloretos = teor de cloreto de sódio no queijo (m/m);

% U = teor de umidade do queijo (m/m).

Análise estatística

Os dados analisados foram submetidos à análise de variância e em seguida submetidos ao teste de Tukey, com probabilidade de 5%, utilizando-se o programa SISVAR Versão 5.8 (BUILD 92) (FERREIRA, 2018).

3 RESULTADOS

Análises micológica

No isolamento e identificação dos fungos foram identificadas 11 espécies, classificados em 3 gêneros e outros não foram possíveis de serem identificadas. Dentre as leveduras, foram encontradas, *D. catenulata*, *K.lactis*, *T. delbrueckii*, *D. hansenii*, *C. intermedia*, *W. pararugosa* e os fungos filamentosos *G. candidum*, *Geotrichum sp.*, *Cladosporium sp.*, *T. variabili*, *Penicillium sp.*, *P. corylophilum*, *P. decubens*, *P. brevicompactum*.

As médias da contagem da população fúngica representada em log/ Unidade Formadora de Colônia por grama (UFC/g), que foram isoladas da casca e massa dos queijos em dois meios de cultura DRBC e DG18, encontram-se na tabela 3.

Tabela 3- Média da população fúngica (Log UFC/g) isoladas nos meios DRBC e DG18 presentes na massa e casca dos queijos nos diferentes tempos de maturação.

Médias dos fungos isolados nos queijos em DRBC e DG 18 em cada tempo de maturação			
Tempo	Fungos isolados	Massa (log - UFC/g)	Casca (Log UFC/g)
18 dias	<i>Diutina catenulata</i>	4,1	6,3
	<i>Kluyveromyces lactis</i>	3,9	6,0
	<i>Torulaspora delbrueckii</i>	3,6	6,4
	<i>Debaromyces. hansenii</i>	5,4	6,1
	<i>Geotrichum candidum</i>	4,7	6,6
	<i>Geotrichum sp.</i>	3,7	-
	Não identificado	4,0	38,3
	Total isolado	29,6	38,3
23 dias	<i>Kluyveromyces lactis</i>	3,9	7,5
	<i>Torulaspora delbrueckii</i>	3,4	6,0
	<i>Candida intermedia</i>	4,4	-
	<i>Geotrichum candidum</i>	3,3	8,0
	<i>Geotrichum sp.</i>	4,2	-
	<i>Talaromyces variabili</i>	3,0	-
	<i>Penicillium sp.</i>	-	6,3
	Não identificado	-	7,2
Total isolado	22,4	35,1	
33 dias	<i>Torulaspora delbrueckii</i>	4,3	6,4
	<i>Diutina catenulata</i>	3,0	5,6

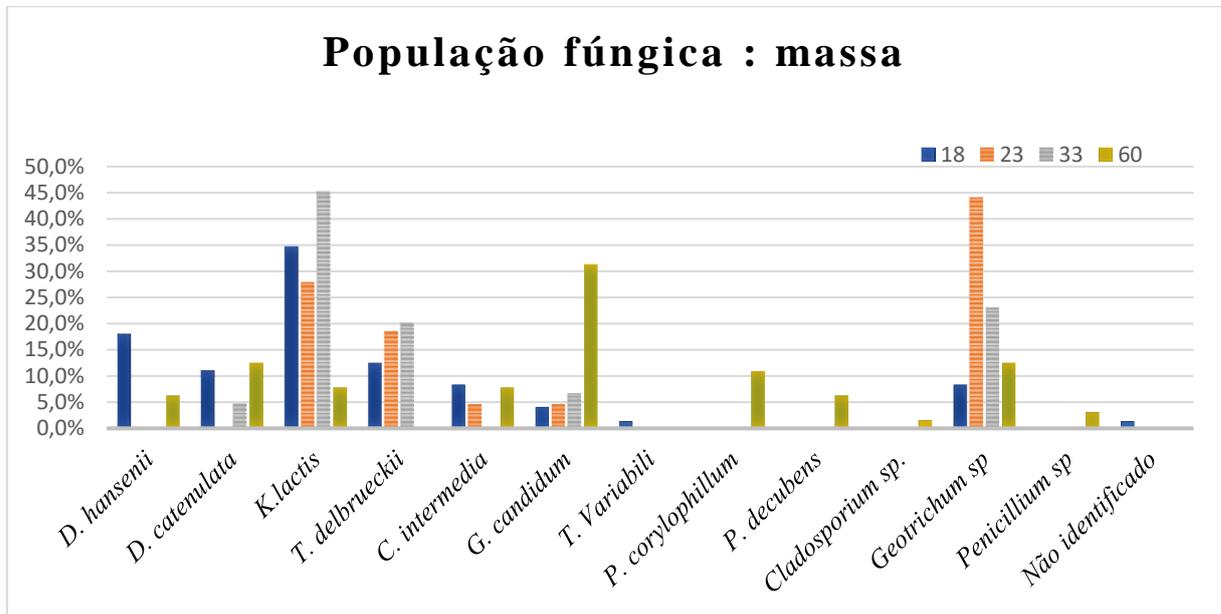
	<i>Kluyveromyces lactis</i>	4,5	5,9
	<i>Wickerhamiella pararugosa</i>	-	5,0
	<i>Geotrichum candidum</i>	3,8	6,4
	<i>Geotrichum sp.</i>	4,3	-
	<i>Cladosporium sp.</i>	-	5,0
	Não identificado	-	-
	Total isolado	20,0	34,3
60 dias	<i>Kluyveromyces lactis</i>	3,3	6,0
	<i>Debaromyces. hansenii</i>	3,3	5,0
	<i>Diutina catenulata</i>	3,9	5,3
	<i>Candida intermedia</i>	3,7	5,3
	<i>Torulaspora delbrueckii</i>	3,7	6,3
	<i>Penicillium sp.</i>	3,4	5,0
	<i>Penicillium corillophilum</i>	3,8	5,0
	<i>Geotrichum candidum</i>	4,3	-
	<i>Geotrichum sp.</i>	3,9	6,9
	<i>Penicillium decubens</i>	3,6	-
	<i>Penicillium brevicompactum</i>	-	5,3
	<i>Penicillium corylophilum</i>	-	5,0
	Não identificado	4,4	5,3
Total isolado	41,4	55,4	

Fonte: Da autora (2023)

Da população fúngica isolada nos queijos Minas Artesanais do Cerrado, a espécie *Kluyveromyces lactis* destacou-se, sendo isolada tanto na casca quanto na massa dos QMA's em todos os intervalos de coleta analisados.

As médias da população de leveduras e fungos filamentos isolados na massa dos queijos foram expressos em porcentagem, conforme a figura 6.

Figura 6 - Percentual médio da frequência da microbiota presente no QMA do Cerrado isolados do interior (massa), em DRBC e DG 18 nos tempos 18, 23, 33, e 60 dias de maturação.



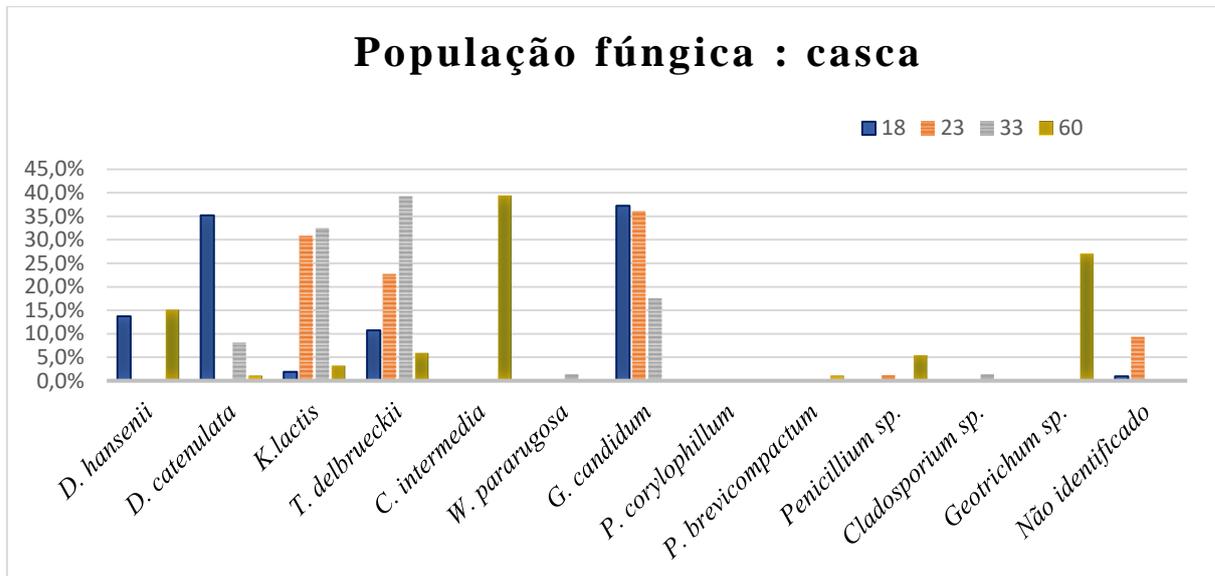
Fonte: Da autora (2023)

Além de *K. Lactis*, o gênero *Geotrichum sp.*, dentre eles a espécie *G. Candidum* destacaram-se em todos os tempos analisados da massa dos QMA's.

Os demais fungos encontrados com 18 dias foram *K.lactis*, *D. Hansenii*, *D. catenulata*, *T. delbrueckii*, *G. Candidum*, *Geotrichum sp.*, *T. variabili*. Com 23 dias identificou-se *K. Lactis*, *C. intermedia*, *T. delbrueckii*, *G. Candidum*, *Geotrichum sp.* Com 33 dias *K.lactis*, *D. Catenulata*, *T. delbrueckii*, *G. Candidum* e *Geotrichum sp.* Com 60 dias foram identificadas *K.lactis*, *D. hansenii*, *D. catenulata*, *C. intermedia*, *G. candidum*, *Geotrichum sp.*, *Penicillium sp.*, *P. corylophilum*, *P. decubens*, *Cladosporium sp.*

As médias da população de leveduras e fungos filamentos da casca dos QMA's também foram calculados e os resultados foram expressos em porcentagem, de acordo com a figura 7.

Figura 7- Percentual médio da frequência da microbiota presente no QMA do Cerrado isolados da superfície (casca), em DRBC e DG 18 nos tempos 18, 23, 33, e 60 dias de maturação.



Fonte: Da autora (2023)

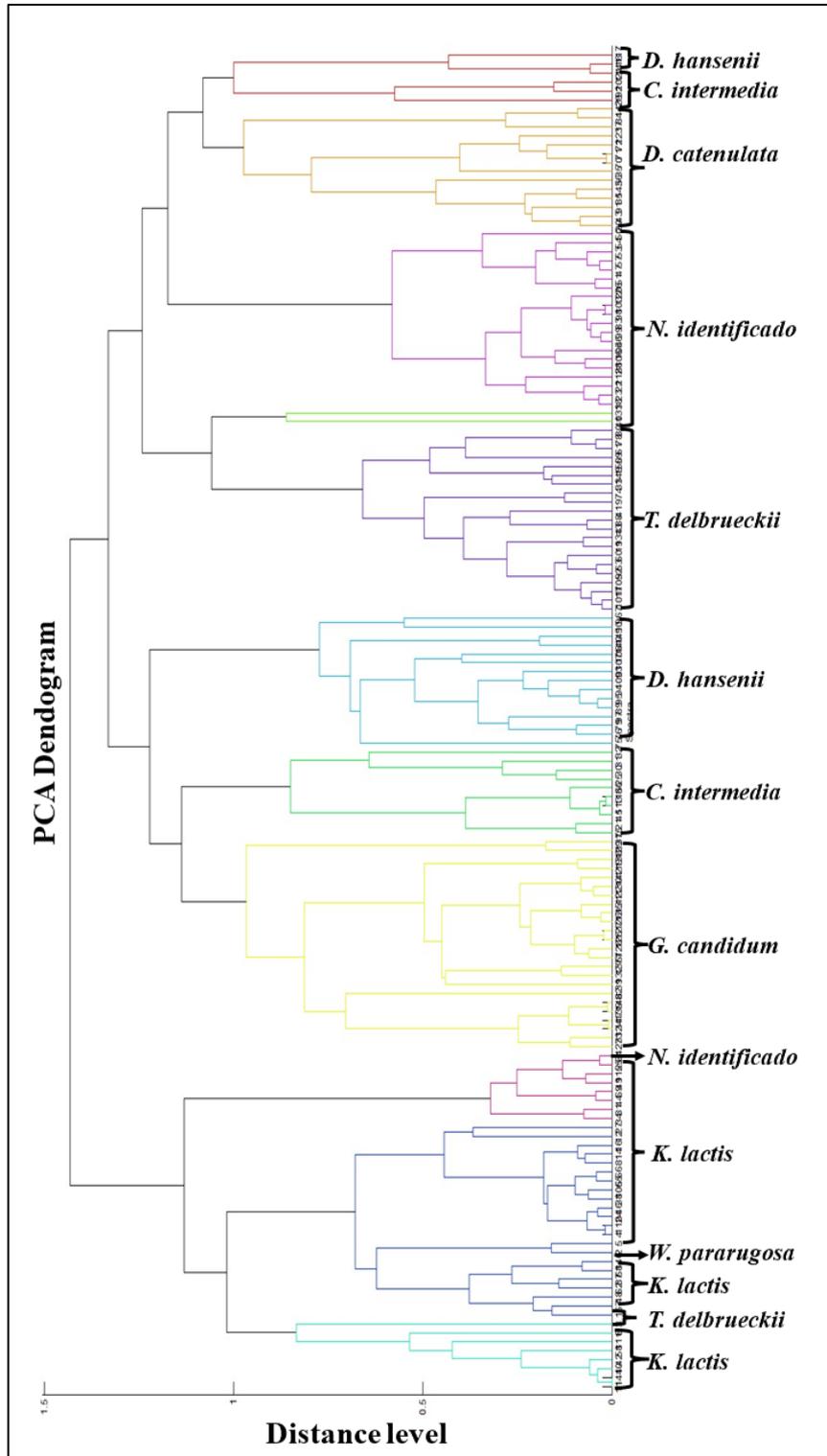
Na casca dos QMA's do Cerrado, destacou-se em todos os tempos analisados, a espécie *T. delbrueckii* com maiores contagens. A população fúngica encontrada durante a maturação com 18 dias de maturação foram *D. hansenii*, *D. catenulata*, *K. lactis*, *T. delbrueckii*, *G. candidum*. Com 23 dias de maturação foram isoladas *T. delbrueckii*, *K. lactis*, *G. candidum*, *Penicillium sp.* Os queijos analisados com 33 dias foram isolados *D. catenulata*, *K. lactis*, *T. delbrueckii*, *W. pararugosa*, *G. candidum*, *Cladosporium sp.* e com 60 dias foram isoladas *D. hansenii*, *D. catenulata*, *K. lactis*, *T. delbrueckii*, *C. intermedia*, *P. brevicompactum*, *Penicillium sp.*, *Geotrichum sp.*

K. lactis e *T. delbrueckii* foram predominantes tanto nas massas quanto nas cascas, com contagens muito próximas, no entanto um pouco mais altas na superfície dos queijos aos 23 dias e aos 33 dias. *D. hansenii* foi isolada somente aos 18 e 60 dias tanto na massa quanto nas cascas dos QMA's. Enquanto a espécie *Diutina catenulata* foi identificada com 18 dias nas cascas e massas, sendo observada baixas contagens em 33 e 60 dias. Enquanto a espécie *W. pararugosa* foi contada aos 33 dias de maturação.

Após as análises em MALDI-TOF Biotyper 3.1, foi gerado um dendrograma com as identificações das espécies de leveduras encontradas, bem como um agrupamento, afim de ilustrar semelhança filogenética (Figura 8). Foi identificado também junto as leveduras, a

espécie *Geotrichum candidum*, considerado um fungo filamentososo, mas que possui variações genéticas e morfológicas ainda estudadas segundo Perkins (2020).

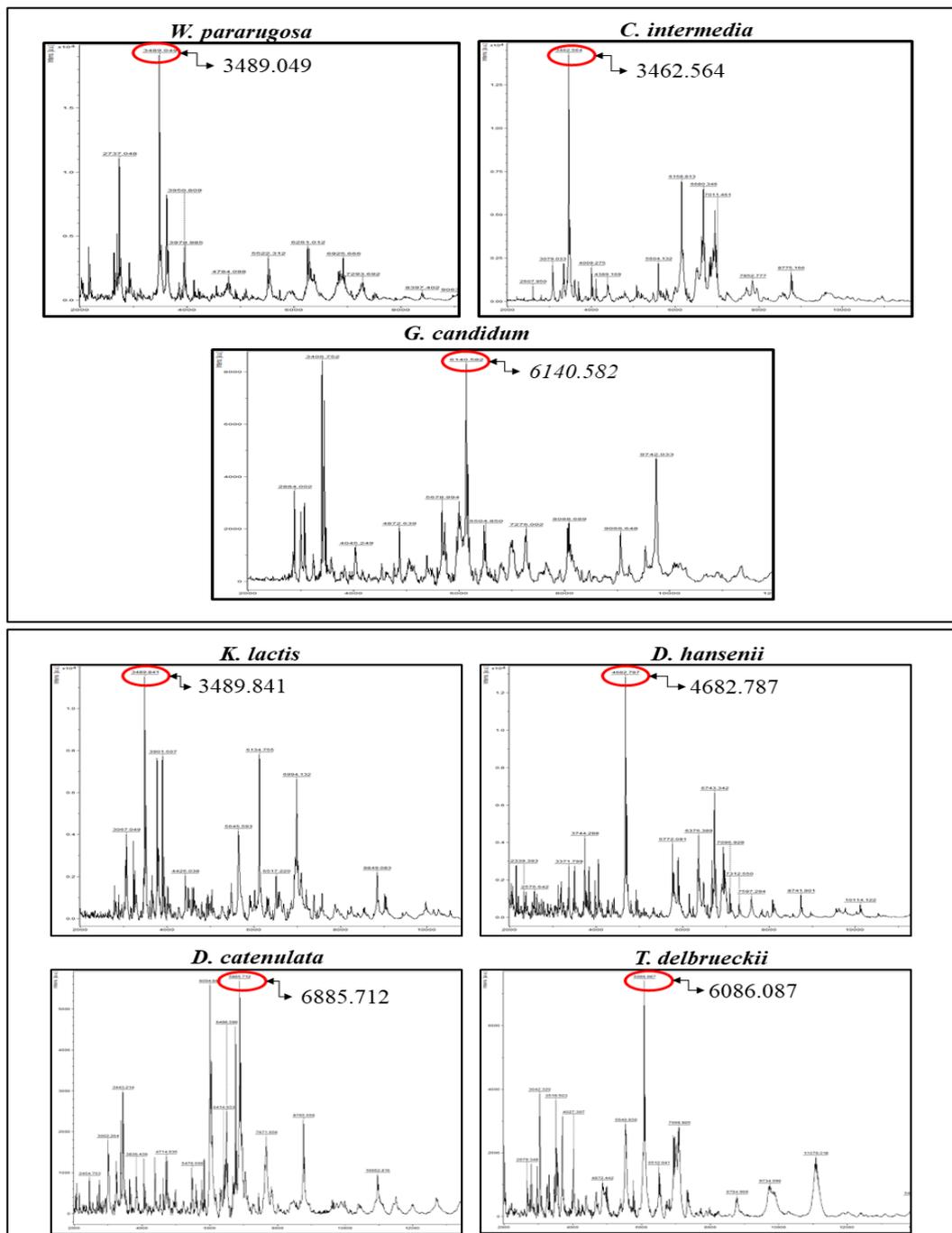
Figura 8- Dendograma das espécies agrupadas por perfil proteico.



Fonte: Da autora (2023)

Além do dendrograma, gerou-se também no MALDI-TOF, espectros de massa das proteínas pertencentes a cada espécie identificada. Esses espectros de massa gerados, referem-se à relação massa/carga das proteínas (eixo X) e a intensidade relativa (eixo Y), em que por meio dessa relação, formam-se picos e acima deles a massa das proteínas é apresentada, conforme mostra a figura 8.

Figura 8 – Espectro de massas das espécies *K. lactis*, *D. hansenii*, *D. catenulata*, *T. delbrueckii*, *W. pararugosa*, *C. intermedia* e *G. candidum*, gerados pelo MALDI TOF Biotyper 3.1.



Fonte: Da autora (2023).

Análises físico-químicas

A composição físico-química dos queijos com diferentes tempos de maturação foi determinada através da análise dos seguintes parâmetros: pH, umidade, proteína, gordura e sal na umidade, na massa e casca dos queijos Minas Artesanal. Os valores médios e desvio padrão desses parâmetros na massa e na casca dos queijos analisados são apresentados na tabela 4.

Tabela 4 - Valores médios e desvio padrão da composição físico-química dos queijos – Massa e Casca

Parâmetros	Parâmetros Físico-químicos da massa e casca dos queijos							
	18 dias		23 dias		33 dias		60 dias	
	Massa	Casca	Massa	Casca	Massa	Casca	Massa	Casca
pH	5.6±0.2 ab	6.0±0.3 ^a	5.2±0.0a	6.6±0.2a b	5.8±0.1b	6.9±0.3a b	5.7±0.1a b	7.1±0.2b
Umidade (%)	50.9±1.7 a	50.3±2.8 a	50.6±1.1 a	48.7±8.1 ^a	41.2±2.9 b	38.6±1.2 ab	37.2±0.5 b	30.6±1.2 b
PTN* (%)	17.8±4.4 a	19.1±2.7 ^a	20.1±6.1 a	17.7±5.4 ^a	15.2±2.6 ^a	18.0±6.9 ^a	27.8±0.9 a	16.4±4.8 a
GES* (%)	28.3±0.2 a	27.3±0.0 a	23.3±0.0 b	27.0±0.0 a	27,1±0.3 a	26.0±0.2 ^a	20.3±0.0 b	26.0±0.0 a
Sal na umidade (%)	3.3±0.2a	2.8±0.9 ^a	3.4±0.2a b	3.4±0.6a	4.2±0.2b	3.6±0.8a	4.0±0.0a b	2.6±0.0a

*Médias seguidas de letras distintas diferem entre si, pelo Teste Tukey (<0,05).

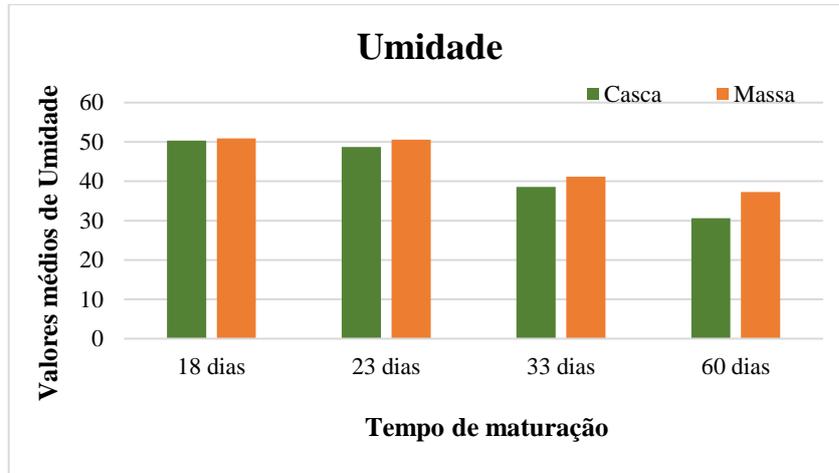
* PTN: Proteína; GES: Gordura no extrato seco.

Fonte: Da autora (2023)

Conforme os resultados demonstrados na tabela, os valores dos parâmetros analisados diferiram-se estatisticamente em casca e massa para pH e umidade. O inverso aconteceu para o parâmetro proteína, ou seja, não houve distinção estatística (<0,05). Para os parâmetros gordura e sal na umidade houve diferença estatística somente nas análises de massa dos queijos, pelo Teste Tukey (<0,05).

Os valores médios foram calculados e comparados entre casca e massa dos queijos durante os intervalos analisados, conforme apresentados na figura 9.

Figura 9- Média da umidade encontrada na massa e casca dos queijos nos diferentes tempos de maturação.

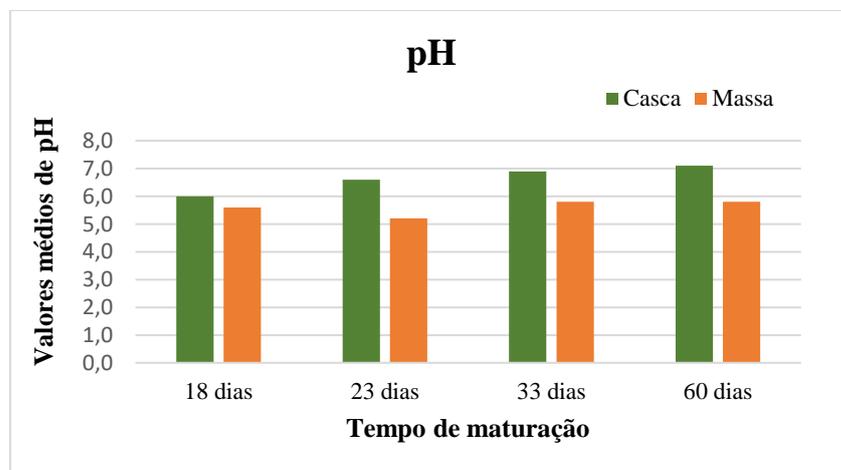


Fonte: Da autora (2023)

Em relação ao parâmetro umidade, observou-se diminuição tanto na casca quanto na massa dos queijos. Na casca foi observado variação de 50,3 para 30,6 enquanto na massa essa variação foi de 50,9 para 37,3 de 18 para 60 dias, respectivamente. Foi observado perda de umidade maior para a casca em relação a massa. A maior diferença de perda de umidade foi no intervalo entre 23 a 33 dias, tanto na massa quanto na casca.

Em relação ao parâmetro pH, houveram oscilações tanto nos valores obtidos na massa quanto na casca dos queijos, conforme mostra a figura 10.

Figura 10- Média do pH encontrado na massa e casca dos queijos nos diferentes tempos de maturação.



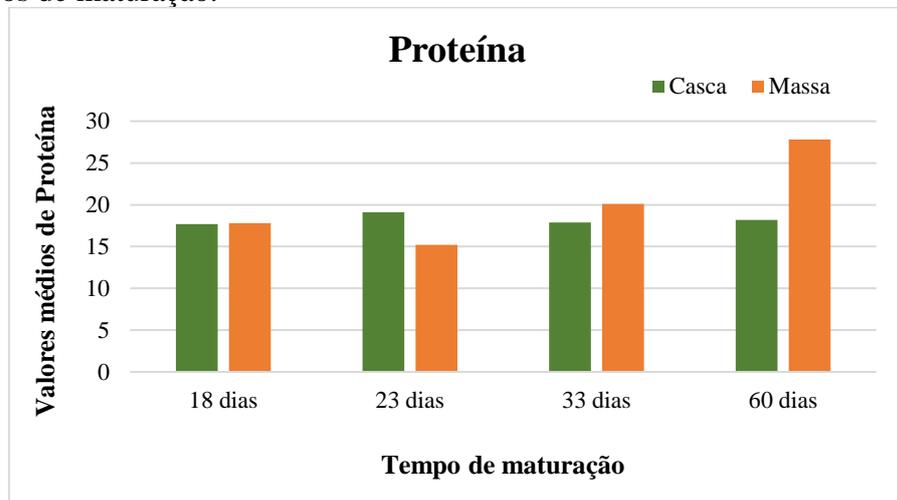
Fonte: Da autora (2023)

Os resultados de pH apresentados das análises da casca demonstraram um aumento de 6.0 para 7.1 de 18 a 60 dias, respectivamente, enquanto os resultados obtidos na massa dos queijos mantiveram-se praticamente estáveis permanecendo na faixa de pH 5.

Quanto ao teor de proteína, os valores médios apresentados oscilaram tanto na casca quanto na massa, conforme demonstrado na figura 11.

O teor médio de proteína da massa e casca foram muito semelhantes no início das análises, sendo que no interior dos queijos foram alcançados valores maiores ao longo da maturação.

Figura 11- Médias dos valores de proteína encontrados na massa e casca dos queijos nos diferentes tempos de maturação.

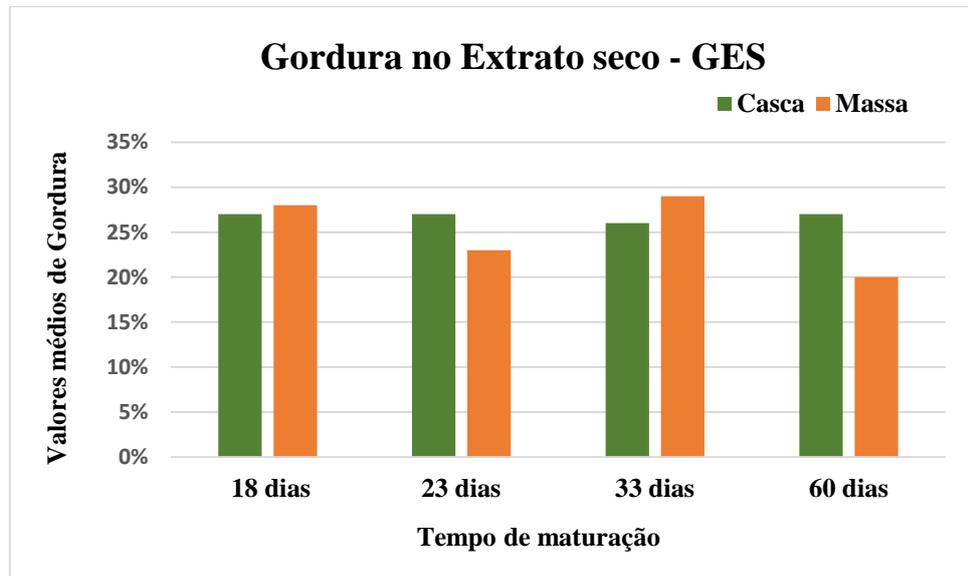


Fonte: Da autora (2023)

A proteína dos queijos Minas artesanal analisados se apresentou em 18 dias de maturação com resultados quase semelhantes comparando casca e massa, esses valores se mantiveram próximos aos longos dos dias de maturação analisados, tendo uma diferença mais destacada aos 60 dias de maturação. No entanto, ao observar separadamente casca e massa, esses valores apresentaram-se com comportamentos diferentes. Na casca, houve pouca oscilação entre os valores, 17,7; 19,1; 17,9 e 18,2 nos dias 18, 23, 33 e 60 dias, respectivamente. Já os valores médios encontrados na massa variaram muito de 17,8 diminuindo para 15,2 e aumentando para 20,1 e 27,8 em 18, 23, 33 e 60 dias de maturação.

Os resultados obtidos de gordura no extrato seco (GES) da casca e massa dos queijos Minas Artesanais do Cerrado, foram apresentados em médias percentuais e apresentados na figura 12.

Figura 12- Média da Gordura no extrato seco-GES (%), analisadas na casca e massa dos queijos nos diferentes tempos de maturação.

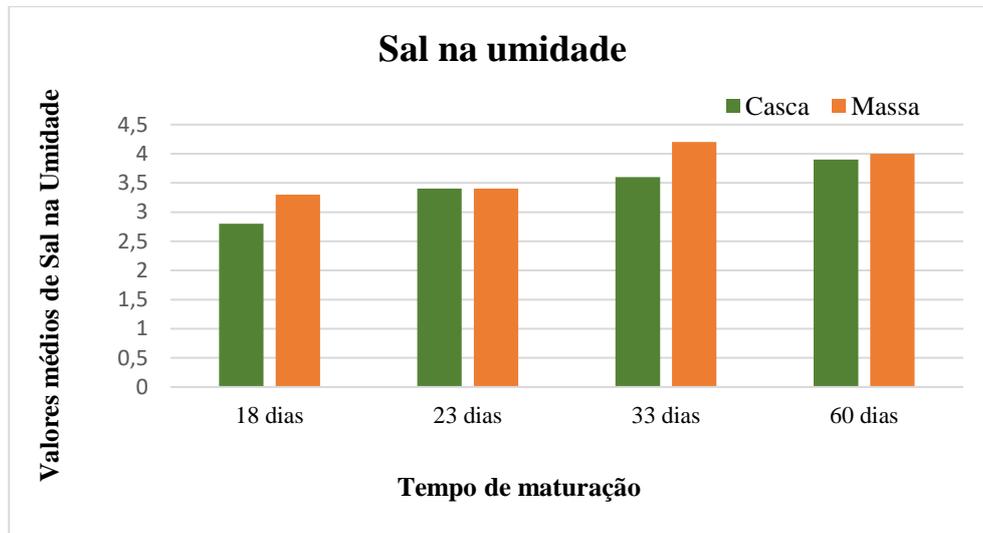


Fonte: Da autora (2023)

Os resultados obtidos em relação à gordura foram próximo para massa e casca, com resultados quase estáveis ao longo da maturação para a casca, 27%, 27%, 26 e 27% aos 18, 23, 33 e 60 dias, respectivamente. Enquanto na massa os valores oscilaram mostrando diminuição entre 18 dias (28%) e 23 dias (23%), aumento entre 23 e 33 (23% e 28%), respectivamente, e diminuição para 20% com 60 dias de maturação.

Quanto ao parâmetro sal na umidade, percebeu-se que tanto na casca quanto na massa houve uma concentração maior de sal aos 60 dias de maturação, sendo teores maiores na massa em relação à casca dos queijos analisados, conforme mostra a figura 13.

Figura 13- Média do sal na umidade encontrada na massa e casca dos queijos nos diferentes tempos de maturação.



Fonte: A autora (2023)

Na casca esse o sal na umidade variou de 2,8 aos 18 dias para 3,9 aos 60 dias, enquanto na massa esse parâmetro também apresentou elevação, no entanto mais alta, iniciando de 3,3 para 4,0 de 18 dias para 60 dias, respectivamente.

4 DISCUSSÃO

O ambiente de produção, a forma tradicional de preparo, a matéria-prima utilizada, bem como as salas de maturações, são fatores que influenciam no desenvolvimento de uma comunidade microbiana diversificada, afetando na determinação da qualidade final do Queijo Minas Artesanal. Segundo Andrade et. al., (2017), as leveduras são comumente associadas a soro-fermento, leite, salmoura e ambiente. Dias et. al., (2019) e Saraiva et. al., (2012), comentam que esporos fúngicos e estruturas vegetativas visíveis nas superfícies dos queijos podem ser proporcionados pela exposição desses produtos nas camaras de maturação.

Na microbiota presente nas cascas e interior dos QMA's do Cerrado, foram isolados e identificados *D. catenulata*, *K.lactis*, *T. delbrueckii*, *D. hansenii*, *C. intermedia*, *W. pararugosa* e os fungos filamentosos *G. candidum*, *Geotrichum sp.*, *Cladosporium sp.*, *T. variabili*, *Penicillium sp.*, *P. corylophilum*, *P. decubens*, *P. brevicompactum*. Foram observadas maiores contagens na casca em comparação com a massa, e pode ser explicada devido a maior exposição ao ambiente durante o processo de maturação na câmara.

Das espécies identificadas, a levedura *Kluyveromyces lactis* foi a mais isolada, tanto na casca quanto na massa, em todos os intervalos analisados, e destacando-se no interior dos queijos, nos tempos 18, 23 e 33 dias. Em seus estudos com queijos do Serro, Souza et al., (2021), também encontraram *K. lactis* como uma das espécies predominantes. Andrade et. al., (2017), comenta que além de *Debaryomyces hansenii*, *Torulapozzia delbrueckii* a espécie *K. lactis* também é comum e abundante em QMA's. Delavenne, et al., (2011), relata sobre sua presença em leites de vaca, justificando as altas contagens na massa ainda aos 18 dias nos QMA's do Cerrado analisados. Furtado (2013), cita essa espécie como atuante na etapa de desacidificação do queijo. O que indica *K. Lactis* como uma levedura iniciadora e resistente a longas maturações.

A levedura *Debaryomyces hansenii* foi isolada somente aos 18 e 60 dias tanto na massa quanto nas cascas dos QMA's. GORI et al., (2012), cita esse gênero como uma levedura comumente observada em cascas de queijos maturados e a caracteriza como tolerante a altas concentrações de sal e baixo pH, além disso, ela tem capacidade de utilizar como principal fonte de carbono, o lactato, obtendo portanto, vantagem sobre outros microrganismos. O fato de esta levedura também estar presente em um queijo extra maturado (60 dias), mostra boa adaptação e preferência por ambientes mais extremos, e provável aliada à segurança alimentar, tendo em vista que Gordian et al., (2013), dizem que espécies desse gênero são responsáveis por produzir

compostos inibitórios de outros fungos, incluindo patógenos e deteriorantes.

Debaryomyces hansenii e *Kluyveromyces lactis* foram isoladas em queijo, pingo, leite e coalhada na Serra do Salitre por Lima (2009). Outros trabalhos que isolaram essas espécies foram BORELLI et al., (2006); LOPANDIC (2006); BANJARA (2015); ANDRADE (2017); SOUZA, et al., (2019). Essas espécies são de extrema relevância por serem produtoras de enzimas como proteases, lipases e β -galactosidase que produzem compostos que influenciam no desenvolvimento do sabor e aroma durante a maturação dos queijos (ANDRADE et al., 2017). A espécie *T. delbrueckii* também foi observada com altas contagens no presente estudo, não sendo identificada apenas, aos 60 dias nas análises da massa. Cardoso et al., (2015), observou a presença dessa espécie em diferentes períodos de maturação em períodos chuvoso e seco. Também encontraram essa levedura ao acompanhar maturações de queijos (FADDA, MOSSA, PISANO et al. 2004; BORELLI et al. 2006; GOLIÉ et al. 2013).

Rampanti, (2023), encontrou em lotes de leite cru presença de *Wickerhamiella pararugosa* (sinônimo de *Candida paraugosa*). Cardinali (2022), a encontrou em vários produtos lácteos, porém, minoritariamente, justificando a baixa contagem nesse estudo bem como nos poucos trabalhos que a relatam. Quanto ao gênero *Candida*, Mounier et al., (2006) comentam que já foram encontradas em baixas quantidades, espécies como *C. catenulata* (*D. catenulata*) e *C. intermedia*, isoladas em queijo de casca florida, advindas da pele de produtores e ar das camaras de maturação. Tilocca et al. (2020) sugerem que esse gênero não seja tão importante no processo de maturação, e sim no equilíbrio entre a microbiota presente no queijo.

Apesar de serem considerados contaminantes, *Candida sp.* são comumente encontrados em queijos, sendo considerados fundamentais na maturação (Garnier et al., 2017). Algumas espécies destacam-se por seu potencial fermentativo, assimilação da glicose, lactato, galactose e citrato. O potencial de boa fermentadora é fundamental, pois tem influência no aroma do queijo pela formação de álcool e também na textura devido ao aproveitamento do ácido láctico (TEMPEL; JAKOBSEN, 1998; WELTHAGEN; VILJOEN, 1998).

A espécie *Diutina catenulata* também foi identificada nas análises tanto nas cascas, quanto nas massas, porém com baixas contagens. No entanto, mesmo o leite sendo um ambiente onde comumente essa levedura pode ser encontrada, Silva (2020) justifica que quando há presença de espécies do gênero *Debaryomyces* e *Trichosporon*, em uma disputa por nutrientes, *Diutina* não leva vantagem.

As amostras de QMA's desse estudo, apresentaram baixo índice de diversidade de fungos filamentosos. Foram encontrados *Cladosporium* sp., *T. variabili*, *Penicillium* sp., *P. corylophilum*, *P. decubens*, *P. brevicompactum* *Geotrichum* sp., e a espécie *G. candidum*. Espécies como *Cladosporium cladosporioides*, foram observadas em outros estudos sobre deterioração de queijos e contaminantes de outros ambientes (HOCKING et al., 1992; SURANSKÁ et al., 2016). A contaminação do ar ou do ambiente de maturação pode justificar a presença do gênero *Penicillium* (KURE, et al., 2019).

Fungos como *Penicillium* sp., *Cladosporium* sp. e a levedura *Diutina catenulata*, são comumente observados em queijos e são provavelmente advindos de contaminação do ar ou do ambiente de maturação. Contudo, nesse estudo foram encontradas quantidade pequenas desses fungos. Mesmo que os fungos sejam comuns em diversos alimentos, sua presença não necessariamente indica presença de toxina ou que estes, sejam capazes de produzi-la. Somente apenas em condições ambientais favoráveis é que a ocorrência desses metabólitos secundários é favorecida (IAMANAKA; OLIVEIRA; TANIWAKI, 2010).

Dentre os fungos filamentosos foram isolados uma grande diversidade de *Geotrichum* sp., e identificado dentre o gênero a espécies *G. Candidum* em todos os intervalos de maturação analisados, bem como nas superfícies e interior dos QMA's do Cerrado. De acordo com Perkins, et. al., (2020) ainda são estudadas diversas discussões sobre as variações morfológicas e genéticas do *G. Candidum*. Marcellino (2014), relata que a espécie foi bastante isolada em amostras de QMA do Cerrado e que beneficia a formação de características sensoriais, bem como inibe a presença de fungos micotoxigênicos e espécies indesejáveis como *Penicillium*. Justificando as baixas contagens de *Penicillium* sp. no presente trabalho.

O *Geotrichum candidum* é uma espécie fundamental na produção de queijos com características especiais, por auxiliar na produção de compostos voláteis aromáticos (Furtado 2013). Boutrou e Guéguen (2005) atribuíram a essa espécie atributos sensoriais aos queijos como, esbranquiçado, aspecto de veludo e pouco úmido, com sabor e aroma “levedado”, “fermentado” e “frutado”.

O Queijo Minas Artesanal da variedade Casca Florida produzido em municípios de Minas Gerais, ganhou em 2022 da Secretaria de estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (SEAPA) a Resolução N° 42 de 27 de dezembro de 2022, a primeira legislação relacionada a fungos no QMA. Considera “casca florida” a casca do queijo Minas Artesanal com presença e dominância de fungos filamentosos constatado visualmente. Além disso deve

predominar no Queijo Minas Artesanal de Casca Florida (QMACF) a presença da espécie fúngica *Galactomyces geotricum* (sinônimos *Geotricum candidum* e *Geotrichum silvicola*). Sendo que outras espécies poderão ser incluídas mediante estudos e pesquisas científicas obtidas por meio de órgãos especializados que possam atestar a segurança alimentar (MINAS GERAIS, 2022). Nesse sentido, além da aparência visual nas superfícies dos QMA's analisados, a presença de *G. candidum* confirma os queijos como “casca florida”.

De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos – RTIQ, os queijos foram classificados quanto ao teor de umidade como queijo de alta umidade (18 e 23 dias de maturação) e são conhecidos como massa branda ou “macios”; quanto aos queijos analisados com 33 dias, foram classificados como média umidade (massa semidura), enquanto que os queijos com tempo de maturação de 60 dias, como queijo de baixa umidade ou queijo de massa dura (BRASIL, 1996). *Geotrichum candidum* tem papel fundamental na maturação de queijos macios e semiduros influenciando positivamente no sabor e aroma (Furtado, 2013).

Hosken & Furtado (1983) e Oliveira et al., (2013), relatam que a textura e sabor do queijo é influenciado dentre outras coisas, pela umidade, sendo que não há facilidade de controle, por se tratar de um produto artesanal. Sales (2015), analisou queijos de Araxá, relacionou a concentração microbiana com a umidade, e concluiu que à medida que umidade cai, a microbiota tende a diminuir também, prevalecendo as espécies mais resistentes a baixas umidades.

As leveduras, parte da microbiota do queijo podem contribuir no aumento do pH da massa, devido ao consumo de ácido presente (LEMPK, 2018; LAVASANI et al., 2011; MARTINS et al., 2015). Variações no pH podem ser decorrentes de ação enzimática (plasmína), enzimas que degradam a proteína, podem estar naturalmente presentes no leite, através de bactérias lácticas não iniciadoras ou do pingo, resultando em formação de compostos alcalinos e nitrogenados, proporcionando variações (DORES et al. 2013; MARTINS et al., 2015; FOX, 1989; UPADHYAY, et al., 2004).

O crescimento de leveduras e fungos filamentosos nos queijos pode influenciar na produção de compostos aminados e desacidificação inteferindo consequentemente no aumento de pH. Jensen et al., (1995) e Pinto et al., (2011), explicam que os fungos filamentosos e leveduras, utilizam o ácido láctico para ganho energético, proporcionando essa variação do pH.

Quanto as variações dos teores de sal na umidade dos QMA's do Cerrado, os resultados foram progressivos, tanto na massa quanto na casca ao longo da maturação, fazendo sentido se

comparado aos valores de umidade, considerando a afirmação de Oliveira, et al., (2017), que afirma que quando a umidade diminui, os teores de sólidos totais aumentam.

É comum variações de sal em queijos artesanais, mesmo que elaborados no mesmo local, por conta da falta de padronização no processo de salga, sendo feita sem medida exata, gerando queijos mais salgados que outros de acordo com estudos feitos em queijos artesanais mineiros (FERRAZ et al., 2016; SOBRAL, 2012; TEODORO, 2012).

Uma boa maturação pode ser influenciada pela quantidade de sal dos queijos pois seleciona e influencia no crescimento de determinados microrganismos (COSTA, 2004; LIMA et. al., 2021). *Debaryomyces hansenii*, *Torulaspota delbruekii* e *K.lactis* são relatadas como resistentes a concentrações altas de cloreto de sódio (Aguiar e Lucas, 2000). Ferreira e Viljoen (2003), citam *Debaryomyces hansenii*, dentre outras espécies de leveduras como resistentes a altas concentrações de sal, além de baixas condições pH e atividade de água.

Em relação ao teor de gordura, por meio do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos, foi possível caracterizar o QMA's do Cerrado analisados, como "semigordo" os queijos de 18 dias e 60 dias, e os queijos com 23 e 33 dias foram classificados como "gordos". Oliveira et al. (2013), por meio de suas análises com queijos artesanais na região do Cerrado, caracterizou-os como semigordos, relacionando tal parâmetro com a região e alimentação bovina.

Naturalmente, a gordura é o componente mais variável por influência da estação do ano, da alimentação, estágio de lactação bem com da raça animal (FERRAZ, 2016). A lipólise contribui para a diminuição do percentual de gordura do QMA enquanto matura. No entanto, é comum perceber uma elevação do percentual desse parâmetro, devido a diminuição do percentual de umidade, que conseqüentemente eleva os teores de extrato seco e gordura (SALES, 2015).

O teor médio de proteína da massa e casca foram muito semelhantes no início das análises, sendo que no interior dos queijos foram alcançados valores maiores ao longo da maturação. Valores parecidos foram encontrados por Oliveira et al., (2013) e Neves, et al., (2021), enquanto Dargère, et al., (2023), encontraram variações maiores de proteína.

Considera-se a proteólise a via mais complexa durante a maturação (FOX, 1998). Pode ser catalisada por enzimas produzidas pela microbiota natural do leite ou de microrganismos adicionados (McSweeney, 2004 ; Bachmann et al., 2011). Nesse processo, estão envolvidas as bactérias ácido-láticas iniciadoras, o leite, bactérias lácticas não oriundas do fermento láctico, do coagulante, que dão origem a proteinases e peptidases que quebram a caseína e proteína e

são metabolizadas. Compostos de sabor podem ser formados por meio de reações bioquímicas sofridas pelos aminoácidos livres produzidos por cadeias polipeptídicas clivadas que são catalisadas por peptidases e proteinases. Enquanto a textura é modificada por meio da metabolização da caseína (McSWEENEY, 2011; KHATTAB et al., 2019).

5 CONCLUSÃO

Conforme o objetivo do presente estudo, foi possível quantificar e identificar a diversidade micológica presente nos QMA's da microrregião do Cerrado nos períodos de maturação coletados. Dentre essa microbiota, destacaram-se *K. lactis*, *T. delbruech* e *G. candidum*, como predominantes.

Os QMA's analisados foram confirmados como queijos “casca florida”, considerando os critérios estipulados por meio da Resolução N° 42 de 27 de dezembro de 2022 da SEAPA.

A presença de leveduras benéficas e altas contagens de *G. candidum* que destaca-se como inibidor de fungos contaminantes ou com potencial toxigênico, possibilitou constatar os QMA's como apropriados para consumo.

Em relação aos parâmetros físico-químicos, foi possível caracterizar os queijos quanto a umidade e teor de gordura. Foi constatado também que a carga microbiana pode interferir em parâmetros físico-químicos, assim como os processos de produção e maturação podem interferir na diversidade microbiana, determinando a qualidade final do Queijo Minas Artesanal.

Sugere-se que sejam estudados outros queijos de produtores da região, bem como em diferentes estações do ano e tempo de maturação, afim de obter maior abrangência e variações dessa microbiota, afim de estabelecer uma assinatura microbiana da região.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, C.; LUCAS, C. Yeasts killer/sensitivity phenotypes and halotolerance. **Food Technology Biothchnology**. 2000.
- ANDRADE, R. P. et al. Yeasts from Canastra cheese production process: Isolation and evaluation of their potential for cheese whey fermentation. **Food research international**, v. 91, p. 72-79, 2017.
- AOAC - Official Methods of Analysis. 2008. 17th Edition, The Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD, USA. Methods 925.10, 65.17, 974.24, 992.16.
- BACHMANN, H. P., FRÖHLICH-WYDER, M. T., JAKOB, E., et al.. Cheese| Raw Milk Cheeses. 2011.
- BANJARA, N.; SUHR, M.J.; HALLEN-ADAMS, H.E. Diversity of yeast and mold species from a variety of cheese types. **Current microbiology**, 70(6), 792-800. 2015.
- BORELLI, B. M. et al. Yeast populations associated with the artisanal cheese produced in the 892 region of Serra da Canastra, Brazil. **World Journal Microbiol Biotechnol**, Belo Horizonte, v. 893 22, p. 1115-1119, fev. 2006.
- BORELLI, B. M., FERREIRA, E. G., LACERDA, I. C. A., FRANCO, G. R., ROSA, C. A. Yeast populations associated with the artisanal cheese produced in the region of Serra da Canastra, Brazil. **World Journal Microbiology Biotechnology**, v. 22, p. 1115-1119, 2006
- BOUTROU, R. et. al. Interests in *Geotrichum candidum* for cheese technology. **International Journal of Food Microbiology**. 102 (2005) 1–20.
- BRASIL. **Portaria nº 146, de 7 de março de 1996**. Aprovar os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. Brasília, 1996.
- CALZADA, J.; DEL OLMO, A.; PICON, A.; GAYA, P.; NUÑEZ, M. Effect of high-pressureprocessing on the microbiology, proteolysis, texture and flavour of Brie cheese during ripening and refrigerated storage. **International Dairy Journal**. v. 37, p. 64-73, 2014.
- CARDINALI, F.; FOLIGNI, R.; FERROCINO, I.; HARASYM, J. et al. Microbiological, Morpho-Textural, and Volatile Characterization of Portuguese Queijo de Nisa PDO Cheese. **Food Res. Int.** 2022, 162, 112011.
- COSTA, R. G. B.; LOBATO, V. ABREU, L. R. MAGALHÃES, F. A. R. Salga de queijos em salmoura: uma revisão. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora**, v.59, n. 336, p. 41-49, 2004.
- DARGÈRE, A.F.; PINTO, S.M.; ABREU L.R. Artisanal Minas cheese parameters associated with regions of origin in Minas Gerais, Brazil. 2023. Arq. Bras. **Med. Vet. Zootec.**, v.75, n.3, p.395-406. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/KD5Q3ZQXMKGjYGV5Jn7GpQK/?format=pdf&lang=en>

- DE SOUZA, T. P., EVANGELISTA, S. R., PASSAMANI, F. R. F., et al. (2021). Mycobiota of Minas artisanal cheese: **Safety and quality. International Dairy Journal**, 120, 105085. doi:10.1016/j.idairyj.2021.105085
- DELAVENNE E, MOUNIER J, ASMANI K, JANY JL, et al. Fungal diversity in cow, goat and ewe milk. **Int J Food Microbiol**. 2011 Dec 2;151(2):247-51. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.08.029. Epub 2011 Sep 8. PMID: 21944758.
- DIAS, A. K. C. et. al. Assessment of Potential Antifungal of new Synthetic Compounds Organotin on Penicillium Fungi Growing on Cheese Ripening Chambers. **International Journal of Advanced Engineering Research and Science**. v. 6, n. 4, 2019.
- DORES, M. T.; NÓBREGA, J. E.; FERREIRA, C. L. L. F. Room temperature aging to guarantee microbiological safety of Brazilian artisan Canastra cheese. **Food Science and Technology**, v. 33, n. 1, p. 180- 185, 2013.
- EMATER MG - Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Minas Gerais. **Catálogo do Queijo Minas Artesanal**. 2023. Disponível em: < <https://www.emater.mg.gov.br/download.do?id=87229>
- FADDA, M.E., MOSSA, V., PISANO, M.B., DEPLANO, M., COSENTINO, S., 2004. Occurrence and 668 characterization of yeasts isolated from artisanal Fiore Sardo cheese. **Int. J. Food Microbiol**. 95, 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.02.001>
- FERRAZ, W. M. **Queijo Minas artesanal da Serra da Canastra: influência do ambiente sobre a maturação**. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais , Rio Pomba, 2016.
- FERREIRA, A, VILJOEN, B, C. **Yeasts as adjunct starters in matured Cheddar cheese. International Journal of Food Microbiology**, [s.l.], v. 86, n. 1-2, p. 131-140, 1 set. 2003. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0168-1605\(03\)00252-6](http://dx.doi.org/10.1016/s0168-1605(03)00252-6).
- FOX, P. F. Proteolysis during cheese manufacture and ripening. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 6, p. 1379-1400, 1989.
- FURTADO, M. M. **Queijos Especiais**. 1ª edição. São Paulo. Ed. Setembro 2013. 276p.
- GARNIER, L. et.al. Diversity and control of spoilage fungi in dairy products: Na update. **Microorganisms**, v. 5, n. 3, p. 42, 2017.
- GORDIAN, V.; SERRANO, Y.; ARROYO, N. Characterization of Debaryomyces hansenii strains as a potential treatment against superficial mycoses. Federation of American Societies for Experimental Biology. 2013.
- GORI, K.; SORENSEN, L. M.; PETERSEN, M. A.; JESPERSEN, L.; ARNEBORG, N. Debaryomyces hansenii strains differ in their production of flavor compounds in a cheesesurface model. **Microbiology Open**. v. 1, n. 2, 2012.
- HOCKING, A. D. et. al. Fungi causing thread mould spoilage of cacuum packaged Cheddar cheese during maturation. **International J. of Food Microbiology**. 16: 123- 130. 1992.
- HOSKEN, F. S.; FURTADO, M. M. **Tecnologia de fabricação de queijos**. 3.ed. Juiz de Fora: EPAMIG, 1983. 215 p.

<https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/5637/ANDREIARROCHA.pdf?sequence=1&isAllowed=yIBGE>. Áreas territoriais. 2022.

IAMANAKA, B. T.; OLIVEIRA, I. S.; TANIWAKI, M. H. Micotoxinas em alimentos. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, v. 7, p. 138-161, 2010.

IMA - Instituto Mineiro de Agropecuária. Portaria IMA nº 1969, de 26 de março de 2020. 2020.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ -IAL. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 2008. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz. Disponível em:
<https://wp.ufpel.edu.br/nutricaoobromatologia/files/2013/07/NormasADOLFOLUTZ.pdf>

IPHAN - Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional. **Registro dos Queijos Artesanais de Minas**, a ser inscrito no Livro dos Saberes. 2008.

JENSEN, R. G. **Handbook of Milk Composition**. San Diego: Academic Press, 1995.

KHATTAB, A. R. et al. Cheese ripening: A review on modern technologies towards flavor enhancement, process acceleration and improved quality assessment. **Trends in Food Science e Technology**, v. 88, p. 343–360. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.03.009>

KURE, C.F.; SKAAR, I. The Fungal Problem in Cheese Industry. *Curr. Opin. Food Sci.* **2019**, 29, 14–19

KURTZMAN, C.P., FELL, J.W., BOEKHOUT, T. AND ROBERT, V. (2011) **Methods for Isolation, Phenotypic Characterization and Maintenance of Yeast**. In: Kurtzman, C.P., Fell, J.W and Teun, B., Eds., *The Yeasts, a Taxonomy*, 5th Edition, Elsevier Publishers, Amsterdam, 87-110. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52149-1.00007-0>

LAVASANI, A. R. S. et. al. Changes in physicochemical and organoleptic properties of traditional Iranian cheese Lighvan during ripening. **International Journal of Dairy Technology**, v.65, n.1, p.64-70, 2011.

LEMPK, M. W. **Influência do inóculo rala sobre as características físico-químicas, microbiológicas e reológicas do Queijo Minas Artesanal do Serro MG**. 2018. 86p. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2018.

LIMA, C. D. L. C. et al. Bactérias do ácido láctico e leveduras associadas com o Queijo Minas Artesanal produzido na região da Serra do Salitre, Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, n.1, p. 266-272, nov. 2009.

LIMA, C. F. et al. **Estudo do tempo de maturação do Queijo Minas Artesanal do Triângulo Mineiro: análises microbiológicas e físico-químicas**. 2021.114p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, 2021.

LOPANDIC, K. et al. Identification of yeasts associated with milk products using traditional and molecular techniques. **Food Microbiology**, v. 23, p. 341-350, 2006.

MARCELLINO, N.; BENSON, D. R. The good, the bad, and the ugly: tales of mold-ripened cheese. In: Cheese and Microbes. **American Society of Microbiology**, p. 95-131, 2014.

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

MCSWEENEY, Paul LH. Biochemistry of cheese ripening. **International journal of dairy technology**, v. 57, n. 2-3, p. 127-144, 2004.

MINAS GERAIS. Secretaria de estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento – SEAPA. **Resolução N° 42, 27 de dezembro 2022**. Reconhece e define sobre Queijo Minas Artesanal de Casca Florida (QMACF). Belo Horizonte, 27 de dezembro 2022. Diário do executivo, p 7. Disponível em: <http://jornal.iof.mg.gov.br/xmlui/handle/123456789/276763>.

MOUNIER, J et al. “Sources of the adventitious microflora of a smear-ripened cheese.” **Journal of applied microbiology**. vol. 101,3 (2006): 668-81. doi:10.1111/j.1365-2672.2006.02922.

NEVES, L. F.; FONSECA, H. C.; OLIVEIRA, M. L. P. et al. Perfil físico-químico de queijos artesanais do norte de Minas Gerais. **Unimontes Científica**, Montes Claros (MG), Brasil, v. 23, n. 1, p. 1-10, jan./jun. 2021. eISSN 2236-5257. Doi: 10.46551/ruc.v23n1a04.

OLIVEIRA, D. F., PORTO, M. A. C., BRAVO, C. E. C., & TONIAL, I. B. (2013). Caracterização Físico-Química De Queijos Minas Artesanal Produzidos Em Diferentes Microrregiões De Minas Gerais. **Revista Brasileira de Economia Doméstica**, 24(2), 185–196.

OLIVEIRA, et al. Caracterização do queijo minas artesanal do cerrado mineiro da região do alto paranaíba .2017. **The Journal of Engineering and Exact Sciences - JCEC** ISSN: 2527-1075. Vol. 03 N. 06 (2017) 0824-0828

PERKINS, V. et al. Phenotypic and genetic characterization of the cheese ripening yeast *Geotrichum candidum*. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 737, 2020.

PINTO, FGS; SOUZA, M; SALING, S; MOURA, AC. Qualidade microbiológica de queijo Minas frescal comercializado no município de Santa Helena, PR, Brasil. **Arq Inst de Biologia**, v.78, n.2, 2011, 191-198.

PITT, J.I.; **A Laboratory guide to common Penicillium species**. North Ryde, 1988. p. 187.

RAMPANTI, G.; BELLEGGIA, L.; CARDINALI, F.; MILANOVIĆ, et al. Microbial Dynamics of a Specialty Italian Raw Ewe’s Milk Cheese Curdled with Extracts from Spontaneous and Cultivated *Onopordum tauricum* Willd. **Microorganisms** 2023, 11 , 219. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11010219>

SALES, G.A. **Caracterização microbiológica e físico-química de queijo Minas Artesanal da microrregião de Araxá - MG durante a maturação em diferentes épocas do ano**. 107 p. 2015 Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.

SAMSON.R.A. **Introduction to food-and air borne fungi**. 7. ed. The Netherlands: CBS, 2004. 389 p.

SARAIVA, C. B.; MAGALHÃES, F. A. R.; MOREIRA, V. E.; BARROS, S. O. Aspectos ambientais da produção do queijo minas artesanal. **Rev. Inst. Latic. Cândido Tostes**. v. 388, n. 67, 2012.

SILVA, J. M. M. **Micobiota core de queijos de leite cru produzidos na região da serra da Canastra**. 2020. Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa. <https://www.locus.ufv.br/bitstream/123456789/27934/1/texto%20completo.pdf>

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 5.ed., São Paulo: Varela; 560p., 2017

SOBRAL, D. **Efeito da nisina na contagem de Staphylococcus aureus e nas características do queijo Minas artesanal da região de Araxá**. 2012. 116 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2012.

SOUZA, H. F. DE.; PEREIRA, G. S. L.; GUIMARÃES, F. LÍLIAN. Características físico-químicas do queijo Minas Frescal comercializados em feiras livres da cidade de Montes Claros, Minas Gerais. 2019. **Cad. Ciênc. Agrá.**, v. 11, p. 01–05, 2019. e-ISSN: 2447-6218 / ISSN: 1984-6738.

ŠURANSKÁ, H.; RASPOR, P.; UROIĆ, K.; GOLIĆ, N.; KOS, B.; MIHAJLOVIĆ, S.; B-GOVIĆ, J.; ŠUŠKOVIĆ, J.; TOPISIROVIĆ, L.; ČAD-Ž, N. Characterization of the Yeast and Mould Biota in Traditional White Pickled Cheeses by Culture-Dependent and Independent Molecular Techniques. **Folia Microbiologica**. v. 64, 2016.

TEMPEL, T. V. D.; JAKOBSEN, M. Yeasts associated with Danablu. **International Dairy Journal**, v. 8, n. 1, p. 25-31, 1998.

TEODORO, V. A. M. **Efeito da Nisina na multiplicação de Staphylococcus aureus e nas características físico químicas, reológicas e microbiológicas do queijo Minas artesanal da Serra da Canastra**. 2012. 122 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de alimentos)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2012.

UPADHYAY, V. K. et al. Proteolysis in cheese during ripening. In: FOX, P. F. et al. **Cheese: chemistry, physics and microbiology**. 3 ed. London: Elsevier. 2004. v. 1, p. 391-433.

WELTHAGEN, J.J. Viljoen, B.C. Yeast profile in Gouda cheese during processing and ripening. 1998. **International Journal of Food Microbiology**, v. 41, p. 185-194.