



MÔNICA APARECIDA DA SILVA

**DIVERSIDADE DA MICROBIOTA DO AMBIENTE DE
MATURAÇÃO DE QUEIJOS MINAS ARTESANAIS DO
CAMPO DAS VERTENTES**

**LAVRAS-MG
2024**

MÔNICA APARECIDA DA SILVA

**DIVERSIDADE DA MICROBIOTA DO AMBIENTE DE MATURAÇÃO DE
QUEIJOS MINAS ARTESANAIS DO CAMPO DAS VERTENTES**

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.

Profa Dra. Roberta Hilsdorf Piccoli
Orientadora

**LAVRAS-MG
2024**

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

da Silva, Mônica Aparecida.

Diversidade da microbiota do ambiente de maturação de
Queijos Minas Artesanais do Campo das Vertentes / Mônica
Aparecida da Silva. - 2024.

113 p.

Orientador(a): Roberta Hilsdorf Piccoli.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2024.

Bibliografia.

1. Caracterização microbiológica. 2. Microbiologia dos
Alimentos. 3. Queijos Artesanais. I. Piccoli, Roberta Hilsdorf. II.
Título.

MÔNICA APARECIDA DA SILVA

**DIVERSIDADE DA MICROBIOTA DO AMBIENTE DE MATURAÇÃO DE
QUEIJOS MINAS ARTESANAIS DO CAMPO DAS VERTENTES**

**DIVERSITY OF THE MICROBIOTA OF THE MATURATION ENVIRONMENT OF
ARTISANAL MINAS CHEESES FROM CAMPO DAS VERTENTES**

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 22 de fevereiro de 2024.

Dra. Monique Suela Silva UFLA

Dr. Danel Pereira Arantes EPAMIG

Profa. Dra. Roberta Hilsdorf Piccoli
Orientadora

**LAVRAS-MG
2024**

À minha mãe, Tida, que sempre soube que a educação era a forma mais segura de se alçar voos e que quando teve seus sonhos limitados na infância, quebrou ciclos e nos inspirou a buscar estas conquistas. Mesmo que não esteja mais aqui fisicamente, te sinto a cada minuto vivido, a cada palavra digitada e principalmente, te sinto como autora desse trabalho, já que foi por você que prossegui.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todo apoio a mim dispensado, ao longo desses anos de jornada acadêmica, por minha família, amigos e companheiros de laboratório.

A decisão de seguir este caminho se deu como forma de atender o pedido de minha mãe e a partir disso, construí um sonho, o qual foi partilhado com meu pai, Marcos e minhas irmãs, Marcia e Marilane. Sou grata aos amigos inspiradores que viam em minha persistência, algo a se incentivar e sempre estiveram comigo.

Gratidão aos meus sobrinhos, Maria Teresa, João Marcos e Ana Luiza, pois sempre penso em cada pequena conquista como uma forma de oferecer algo melhor para cada um de vocês, vocês são minha inspiração.

Agradeço aos meus familiares, sobretudo os do coração, porque tem sido muito boa a vivência que me proporcionam e como fazem eu me sentir acolhida e sempre com um lar para ir e me aconchegar.

Agradeço a cada um do laboratório de microbiologia de alimentos e aos colegas da UFLA que estiveram comigo na execução deste trabalho, pois ele só se concretizou porque diferentes pessoas colaboraram desde o advento da ideia, à coloca-las em prática e como fazer que contratempos não se tornassem um empecilho.

Agradeço ao professor Luiz Ronaldo de Abreu e Sandra Maria Pinto, mas especialmente a Creuza da planta de Laticínios que colaborou de forma fundamental na execução deste trabalho.

Agradeço a Professora Roberta Hilsdorf Piccoli, pelos anos de orientação e amizade e a Monique, pois trilharam integralmente este caminho comigo, me auxiliando e apoiando.

Agradeço a receptividade dos produtores do Campo das vertentes e ao apoio do Daniel da EPAMIG na intermediação de contatos e suporte oferecido.

Agradeço a Universidade Federal de Lavras pelo espaço e todas oportunidades.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos.

Agradeço a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo apoio financeiro.

Muito obrigada!

RESUMO

A produção queijeira no Brasil teve início visando atender as necessidades dos colonizadores europeus, mas as particularidades climáticas, bem como a raça dos animais e a vegetação destinada à sua nutrição deu ao produto características únicas, gerando um novo tipo de queijo. O Queijo Minas Artesanal (QMA), historicamente, veio sendo produzido a partir do leite de vaca cru e costuma seguir processos tradicionais de confecção, em pequenas propriedades rurais, havendo atualmente destaque para a região do Campos das Vertentes, em virtude da aprovação sensorial do produto e dos prêmios conquistados, nacionais e internacionalmente. Os critérios de segurança e qualidade dos QMA são identificados por legislação e para que estes sejam atendidos, é necessário que o processo de produção seja estabelecido com Boas Práticas de Fabricação, até mesmo para as propriedades rurais, sendo importante identificar e caracterizar a microbiota predominante do local de produção, seja ela típica e desejada ou atípica e indesejada. Uma contribuição para a microbiota diversa do QMA é a tábua de maturação de madeira. O material é higroscópico, rugoso, e propicia trocas de umidade entre o queijo e sua estrutura, colaborando na aquisição das características do produto. Portanto, o objetivo deste trabalho foi caracterizar a diversidade bacteriana das tábuas utilizadas para a maturação dos QMA da microrregião do Campo das Vertentes, de duas propriedades cadastradas pelo Instituto Mineiro de Agropecuária, bem como a influência da ambiência e estrutura de maturação sobre a microbiota típica e atípica do QMA. Foi determinado perfil microbiológico dos produtores com identificação de 373 isolados e 61 espécies de microrganismos diversos. As tábuas de maturação refletiram parte dos microrganismos contaminantes identificados nos queijos, quando se tratou do gênero estafilococos, bem como houve maior correlação com os queijos, de isolados identificados das tábuas pertencentes à classe das leveduras e de alguns fungos. A maturação se mostrou eficiente em reduzir contagem de microrganismos, como os aeróbios mesófilos, assim como os parâmetros da análise centesimal demonstraram-se, principalmente, sob sua influência. A qualidade do ar ambiental, tendeu a se refletir na contagem microbiana do queijo, sendo que nestas análises, a microbiota ambiental sofreu maior influência da estação chuvosa do que do período de seca.

Palavras-chave: maturação; tábuas de madeira; caracterização microbiológica; bactérias lácticas.

ABSTRACT

Cheese production in Brazil began with the aim of meeting the needs of European colonizers, but the particular climate, as well as the breed of animals and the vegetation intended for their nutrition gave the product unique characteristics, generating a new type of cheese. Minas Artesanal Cheese (QMA), historically, has been produced from raw cow's milk and usually follows traditional manufacturing processes, on small rural properties, with emphasis currently on the Campos das Vertentes region, due to the sensory approval of the product and the awards won, nationally and internationally. The safety and quality criteria of QMA are identified by legislation and for these to be met, it is necessary that the production process is established with Good Manufacturing Practices, even for rural properties, and it is important to identify and characterize the predominant microbiota of the production site, whether typical and desired or atypical and unwanted. A contribution to QMA's diverse microbiota is the wooden maturation board. The material is hygroscopic, rough, and promotes moisture exchange between the cheese and its structure, helping to acquire the product's characteristics. Therefore, the objective of this work was to characterize the bacterial diversity of the boards used for the maturation of QMA in the Campo das Vertentes microregion, from two properties registered by the Instituto Mineiro de Agropecuária, as well as the influence of the ambience and structure of maturation on the typical microbiota and atypical of QMA. The microbiological profile of the products was determined, identifying 373 isolates and 61 species of different microorganisms. The maturation boards reflected part of the contaminating microorganisms identified in the cheeses, when it came to the genus staphylococci, as well as there was a greater correlation with the cheeses, of isolates identified from the boards belonging to the yeast class and some fungi. Maturation proved to be efficient in reducing the count of microorganisms, such as mesophilic aerobes, as well as influencing the parameters of the proximate analysis. The quality of the environmental air tended to be reflected in the microbial count of the cheese, and in these analyses, the environmental microbiota was more influenced by the rainy season than by the dry period.

Keywords: maturation; wooden boards; microbiological characterization; lactic acid bacteria.

INDICADORES DE IMPACTO

A apresentação dos resultados atuará potencialmente na minimização dos preconceitos contra o queijo elaborado a partir do leite de vaca cru, culminando em ganhos econômicos futuros para os produtores da região envolvida na pesquisa. A pesquisa demonstrou as características de segurança do processo de produção do produto, onde os equipamentos de uso tradicional, em madeira, como tábuas de maturação, não apresentaram contaminação estatisticamente significativa, no que se refere a microrganismos patogênicos, bem como o período de maturação foi eficiente em reduzir os microrganismos contaminantes, quando presentes ($p < 0,05$). O trabalho teve critério extensionista, estando a pesquisa incluída entre os projetos coordenados pela EPAMIG, através da Rede Mineira de Pesquisa em Queijos Artesanais, cujo o objetivo é conectar pesquisadores, extensionistas e técnicos atuantes da cadeia produtiva de queijos Artesanais. A pesquisa envolveu dois dos cinco produtores de Queijos Minas Artesanais (QMA), com registro de permissão de produção do QMA, junto ao Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA), da microrregião mineira do Campo das Vertentes, dois técnicos, um docente e um discente de mestrado. Assim, dentro das áreas temáticas da Política Nacional de extensão, o trabalho classifica-se no segmento de tecnologia e produção, por afirmar sobre a segurança do processo e propiciar valorização e agregação de valor ao produto, estando alinhados aos 17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Organização das Nações Unidas (ONU), ao estabelecer Parcerias que possuem ações implementadas nas diferentes regiões de Minas Gerais.

IMPACT INDICATORS

The presentation of the results will potentially help minimize prejudice against cheese made from raw cow's milk, resulting in future economic gains for producers in the region involved in the research. The research demonstrated the safety characteristics of the product's production process, where equipment for traditional use, made of wood, such as maturation boards, did not present statistically significant contamination, with regard to pathogenic microorganisms, as well as the maturation period was efficient in reducing contaminating microorganisms, when present ($p < 0.05$). The work had extensionist criteria, with the research included among the projects coordinated by EPAMIG, through the Minas Gerais Research Network on Artisanal Cheeses, whose objective is to connect researchers, extensionists and technicians working in the Artisanal cheese production chain. The research involved two of the five producers of Cheese Minas Artesanais (QMA), with production permission registration from the QMA, with the Minas Gerais Agricultural Institute (IMA), in the Minas Gerais microregion of Campo das Vertentes, two technicians, a teacher and a student master's degree. Thus, within the thematic areas of the National Extension Policy, the work is classified in the technology and production segment, as it affirms the safety of the process and provides appreciation and added value to the product, being aligned with the 17 Sustainable Development Goals (SDG) of the United Nations (UN), by establishing Partnerships that have actions implemented in the different regions of Minas Gerais.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1	Histórico do queijo artesanal no Brasil	14
2.2	Região do Campo das Vertentes	16
2.3	Perspectivas Comerciais do Queijo Minas Artesanal	19
2.4	Identificação Geográfica e <i>Terroir</i>	20
2.5	Produção do QMA.....	22
2.6	Legislação para o Queijo Minas Artesanal	24
2.7	Aspectos iniciais da Legislação	25
2.8	Evolução da Legislação para QMA	27
2.9	Padrões Microbiológicos para o QMA	28
2.10	Controle de qualidade no processo de produção	30
2.11	Principais microrganismos contaminantes	32
2.12	Bactérias Láticas.....	34
2.13	Maturação	36
2.14	Particularidades da Maturação em Tábuas de Madeira	39
3	MATERIAL E MÉTODOS	43
3.1	Seleção das instalações de fabricação de queijo.....	43
3.2	Coleta das amostras.....	43
3.3	Determinação do teor de umidade das tábuas de maturação de madeira	44
3.4	Determinação do teor de umidade relativa do ar	44
3.5	Preparo de soluções para análise	45
3.6	Isolamento e caracterização morfológica das bactérias láticas	45
3.7	Aeróbios mesófilos	46
3.8	<i>Salmonella</i> spp.	46
3.9	Coliformes a 35°C e 45°C.....	46
3.10	<i>Staphylococcus</i> coagulase positivo.....	47
3.11	<i>Listeria Monocytogenes</i>	47
3.12	Fungos e leveduras	48
3.13	Identificação das bactérias por MALDI-TOF MS	48
3.14	Análises físico-químicas dos queijos	49
3.14.1	Umidade.....	49

3.14.2 Gordura	49
3.14.3 Frações nitrogenadas e índices de proteólise	49
3.14.4 pH.....	50
3.14.5 Atividade de água (Aw).....	50
3.14.6 Teor de resíduo mineral fixo (cinzas)	50
3.14.7 Teor de cloretos e sal na umidade	50
3.15 Análises estatísticas	51
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
4.1 Determinação da umidade das tábuas de maturação e da Umidade Relativa do ar.	52
4.2 Identificação das bactérias por MALDI-TOF MS	55
4.3 Análise Microbiológica e de Qualidade	64
4.4 Avaliação da qualidade do ar do ambiente de maturação.....	77
4.5 Análises físico-químicas dos queijos	78
5 CONCLUSÃO.....	87
REFERÊNCIAS	89
APÊNDICES	107

1 INTRODUÇÃO

O queijo artesanal de Minas Gerais é um produto muito consumido. É um bem com valor histórico e cultural, produzido por pequenos produtores rurais há vários séculos e conforme diversifica a região produtora, mais particular as peculiaridades sensoriais podem ser percebidas. As influências dos colonizadores portugueses, na receita inicial dos queijos produzidos em Minas Gerais, mantiveram algumas características do queijo da Ilha de Açores, lá produzido, como a fonte de coagulação de origem animal e o leite de vaca como matéria prima, mas adquiriu no processo características únicas.

As influências ambientais foram importantes em estabelecer sobre a produção do Queijo Minas Artesanal (QMA), especificidades que fazem do produto uma iguaria mundialmente reconhecida e no caminho de alcançar a correta valorização em território nacional, uma vez que as normativas brasileiras progrediram para garantir a comercialização legal do produto em todo país, abrindo boas perspectivas para o comércio internacional.

Por ser produzido, exclusivamente, a partir do leite de vaca cru, é possível observar que não somente de uma microbiota desejada, o queijo de produção artesanal, poderá ser formado. Sendo assim, microrganismos não desejáveis que habitam as pastagens, o solo, a água, o ambiente, a estrutura e utensílios envolvidos no processo produtivo, se tornam fontes potenciais de contaminação e influenciam o desenvolvimento das características que a microbiota típica e desejada estabelece sobre o produto. A fim de garantir que as formas de interferência do microbioma da produção do queijo sejam positivas e tecnologicamente desejadas, é necessário identificar sua composição e características individuais.

A avaliação de fatores intrínsecos, permite correlacionar a dinâmica ocorrida na matriz alimentar ao longo da maturação, que favorece a ação antimicrobiana da microbiota autóctone, bem como entender os mecanismos metabólicos que dão ao queijo minas artesanal a textura, sabor e aroma característico e único a cada unidade produtora, independentemente de estarem localizados em uma mesma microrregião. Porém os fatores extrínsecos são de suma importância, alguns muito explorados, como temperatura ambiental e umidade relativa do ar, mas outros pouco estudados, como a diversidade microbiológica das tábuas de madeira onde os queijos permanecem ao longo do seu período de maturação.

No Campo das Vertentes, umas das microrregiões produtoras de QMA reconhecida pelos órgãos legislativos nacionais e estaduais, 15 cidades foram identificadas como produtoras e 5 produtores, até o momento, encontram-se registrados e certificados pelo Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) como produtores de QMA. A região é uma representativa produtora de

leite e possui relevância turística, contribuindo para a perpetuação dos aspectos culturais e valorização do QMA produzido (IMA, 2009).

Embora a legislação estabeleça critérios de identidade para os QMA, bem como padrões de segurança e qualidade, é necessário um detalhamento mais individualizado, já que, há uma legislação específica para cada região produtora de QMA. A maturação se baseia em transformações bioquímicas, ocorrendo no produto, dentro do que se é esperado por sua composição, mas contaminantes microbiológicos, podem interferir ou prejudicar o processo e resultar em um produto inadequado para o consumo, sendo a melhor forma de controle, a avaliação de todas as formas de influência do processo. Inclusive das tábuas de madeira utilizadas para a maturação dos queijos.

As tábuas de madeira são usadas há muitos anos no processo de maturação devido sua porosidade favorecer a retenção de umidade. Estas características, influenciam fortemente na formação de comunidades microbianas, na interface de contato entre superfícies do queijo e da tábua, assim, o biofilme ali formado pode ser capaz de influenciar na produção, características físico-químicas e sensoriais que o queijo terá, já que a maturação é um processo sensível a ação de bactérias contaminantes.

Deste modo, o objetivo deste trabalho é caracterizar a diversidade bacteriana das tábuas de madeira utilizadas para a maturação dos queijos artesanais da microrregião do Campo das Vertentes, de propriedades cadastradas pelo Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA), avaliando a influência da diversidade microbiana do ambiente e da estrutura de maturação sobre a microbiota Queijo Minas Artesanal produzido na região.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Histórico do queijo artesanal no Brasil

O queijo é um alimento com história muito antiga, com fabricação anterior a 2.800 a.c e descrição de sua presença ainda no Antigo Egito (Lima, 2014). É definido como:

produto fresco ou maturado que se obtém por separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado), ou de soros lácteos, coagulados pela ação física do coalho, de enzimas específicas, de bactéria específica, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e/ou especiarias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes (Brasil, 1996).

A América Latina teve no desenvolvimento dos queijos e demais produtos fermentados, a influência cultural dos indígenas nativos, aliados à cultura Europeia, em especial as tradições portuguesas, espanholas e italianas, após colonização das Américas do Sul e Central (Penna *et al.*, 2021).

Diversos países produzem de modo artesanal seus queijos, com critérios pertinentes a cada região específica e a sua classificação tem bases em diferentes parâmetros, como o tipo do leite, forma de coagulação, tempo de maturação, quantidade de gordura, entre outros fatores. No Brasil, o principal produtor de queijos e detentor do título de estado mais atuante na legitimação deste produto de origem artesanal, é o estado de Minas Gerais (Cangussu, 2018; Perry, 2004).

Indo além destes relatos históricos, o queijo artesanal mineiro possui sua história documentada desde o século XVIII, sendo a origem dos queijos controversa, uma vez que os queijos produzidos pelos colonizadores portugueses, não se assemelham com o produto atual, pois os originais eram feitos, em sua maioria, de leite de cabra e usavam um coagulante vegetal, proveniente da flor do cardo. No entanto, o QMA tem semelhanças com o queijo de São Jorge, que é produzido na ilha de São Jorge nos Açores a partir do leite de vaca, utilizando coalho animal para coagulação, sendo posteriormente maturado (Kamimura *et al.*, 2019).

Da produção queijeira do Brasil, o Queijo Minas Artesanal destaca-se como um dos melhores e mais tradicionais (Harbutt, 2010). Talvez, por isso, a grande relevância na produção de queijos artesanais a partir do leite cru que o estado possui, combinadas às medidas governamentais implementadas. No entanto, mesmo com grande demanda por seu consumo, o QMA em sua história pregressa podia ser fabricado sem a adoção de boas práticas de fabricação,

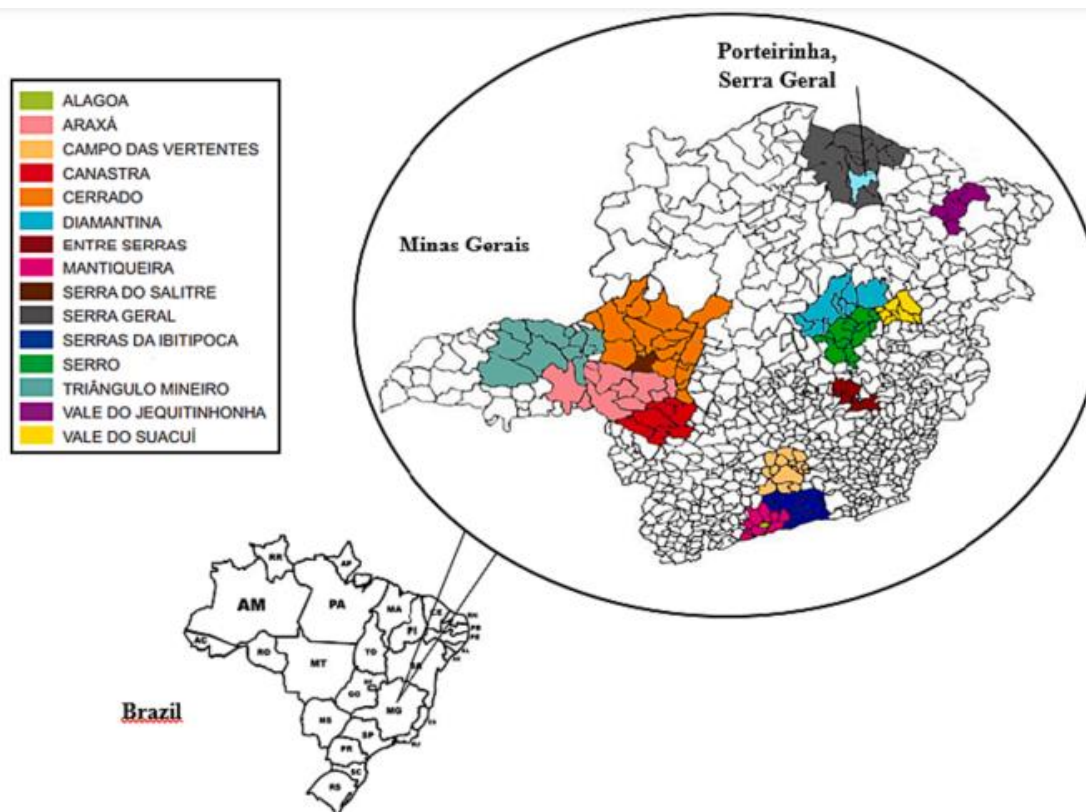
culminando em riscos à saúde, sendo o seu comércio limitado à informalidade (Monteiro; Chaves, 2018).

Buscando remediar esse cenário, a Assembleia Legislativa mineira se empenhou na criação de um regulamento que valorizasse o alimento em seu contexto histórico e o incluíssem entre os mais apreciados queijos do mundo. Assim, foi criado o Programa Queijo Minas Artesanal em uma parceria do governo estadual e a Emater, buscando alcançar o desenvolvimento econômico das microrregiões produtoras e preservando o tradicionalismo. Ainda nos primórdios, a produção de queijo era adotada como forma de conservação do leite que passou a ser obtido a partir da inserção da prática pecuária no decorrer das expedições do ciclo do ouro no estado (Lima, 2014; Macedo Junior; Almeida, 2019; Monteiro; Chaves, 2018).

Ainda no tanger do estado de Minas Gerais, o QMA é considerado um patrimônio cultural imaterial brasileiro pelo Instituto Estadual do Patrimônio Histórico e Artístico de Minas Gerais (IEPHA/MG). É um produto que sobreviveu às pressões da modernização dos processos produtivos, não só pelo apego às tradições, mas também pelo distanciamento das propriedades rurais que o produziam em relação às cidades, estando dispersas entre vales e montanhas do estado (EMATER, 2022; Meneses, 2006).

É também reconhecido como iguaria pelo Instituto de Patrimônio Histórico e Artístico Nacional (IPHAN) como Patrimônio Cultural Imaterial Brasileiro. Em Minas Gerais, conforme indica a Figura 1, há atualmente 15 regiões reconhecidas como produtoras de queijos artesanais, sendo 10 produtoras do Queijo Minas Artesanal (QMA): Araxá, Campo das Vertentes, Canastra, Cerrado, Diamantina, Entre Serras da Piedade ao Caraça, Serras da Ibitipoca, Serra do Salitre, Serro e Triângulo Mineiro; e 5 reconhecidas como produtoras de queijos artesanais específicos de cada área: Alagoa, Mantiqueira de Minas, Serra Geral, Vale do Suaçuí e Vale do Jequitinhonha (Meneses, 2006; Santos, 2022a).

Figura 1 - Mapa das regiões produtoras de queijos artesanais em Minas Gerais.



Fonte: Caldeira *et al.* (2024).

Estas são divididas com base em fatores abióticos como vegetação predominante, altitude, temperatura média, umidade relativa do ar e individualidades do processo de manufatura do queijo. De acordo com a legislação atual, o período de maturação do queijo Minas Artesanal ficou estabelecido com o mínimo de 14 dias para a microrregião de Araxá, Canastra e Serra do Salitre, mínimo de 17 dias para a microrregião do Serro e para as demais regiões do Estado, caracterizadas ou não como produtora de QMA, o período mínimo de maturação será de 22 dias ou pelo maior período indicado por pesquisas científicas (IMA, 2021b; Meneses, 2006; Santos, 2022a).

2.2 Região do Campo das Vertentes

Por mais que produção queijeira no Brasil, tenha sido iniciada no século XVIII, visando atender as necessidades dos colonizadores europeus, as particularidades climáticas, bem como a raça dos animais e a vegetação destinada à sua nutrição, além das especificidades do leite cru, microbiota selvagem e de estrutura da América Latina, inviabilizava a fidelidade à produção dos queijos de origem europeia, deflagrando assim a produção de novos tipos de queijos

(Bogsan; Todor, 2017). Deste modo, os queijos artesanais brasileiros possuem identidades únicas e refletem características e particularidades das distintas regiões brasileiras (Penna *et al.*, 2021).

Dentre essas regiões produtoras encontra-se a região do Campos das Vertentes. O Campo das Vertentes é uma das doze mesorregiões do Estado de Minas Gerais (IBGE, 2010), e através da Portaria nº 1.022, de 03 de novembro, de 2009, recebeu do IMA a identificação de microrregião produtora de QMA (IMA, 2022). Atualmente, a região possui cinco produtores registrados, estando alocados, um em Carrancas, dois em Coronel Xavier Chaves, um em São João Del Rei¹ e um em Tiradentes. Para a produção e a comercialização dos queijos artesanais de Minas Gerais, o estabelecimento produtor de queijo artesanal deve ser registrado no Instituto Mineiro de Agropecuária-IMA ou no Serviço de Inspeção Municipal-SIM. Além disso, a região deve possuir uma área de 6254 km² e altitude de 400 a 1300 m (EMATER, 2009; IMA, 2009; Minas Gerais, 2020).

Conforme os estudos elaborados pela Comissão Técnica Interinstitucional, referente à caracterização da região do Campos das Vertentes, dos seus 35 municípios (EMATER, 2009), 15 municípios foram identificados como produtores, conforme indicado pela Figura 2, sendo eles: Barroso, Conceição da Barra de Minas, Coronel Xavier Chaves, Carrancas, Lagoa Dourada, Madre de Deus de Minas, Nazareno, Prados, Piedade do Rio Grande, Resende Costa, Ritópolis, Santa Cruz de Minas, São João Del Rei, São Tiago e Tiradentes. Devidamente reconhecido, um dos produtores de queijo da cidade de Coronel Xavier Chaves, foi o vencedor no ano de 2021 do Concurso Estadual do Queijo Minas Artesanal, sendo o seu queijo considerado pelo júri o melhor Queijo Minas Artesanal do Estado (IMA, 2009; SEAPA, 2022).

Figura 2 - Mapa do Queijo Minas Artesanal do Campo das Vertentes.



Fonte: Emater (2009).

A região possui o histórico expressivo na produção leiteira e de queijos, já que este foi agregado como um subproduto desta matéria prima. A economia local foi estruturada pelas atividades de pecuária e agricultura, favorecidos pela riqueza hidrográfica, pela fertilidade do solo, além de localização geográfica privilegiada que favoreceu as relações comerciais para a produção e seu rebanho leiteiro tão significativo. Em 2020, primeiro ano da pandemia, a região produziu 321,93 milhões de litros de leite, com crescimento real de 1,1% em sua produção para o ano anterior (Castro, 2015; IBGE, 2021).

Trata-se de uma região do estado de Minas Gerais cuja composição dos queijos nas estações secas e chuvosas alcança, respectivamente: Umidade 55,97 e 49,35%; Sólidos totais 44,03% e 50,65%; Proteína 17,54% e 19,86%; Gordura 28,28% e 29,06%; Acidez titulável 0,15% e 0,08%; pH 5,53 e 5,44; 2,4-2,83% de sal. O queijo é produzido a partir do leite cru com adição de culturas iniciadoras endógenas e agentes de coagulação. A cultura inicial indígena vem do soro drenado dos queijos previamente elaborados (pingo), que é recolhido e utilizado para a fabricação de queijos no dia seguinte. O processo de prensagem manual pode contar com o auxílio de tecido. O período de maturação recomendado para o queijo desta região é de 22 dias, sua microbiota se compõe predominantemente de bactérias do gênero *Lactococcus* (*Lactococcus lactis* e *Lactococcus garvieae*), seguido por *Lactobacillus acidipiscis*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, além de ter a presença de *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* e, *Pediococcus acidilacticis* (Castro, 2015; Kamimura *et al.*, 2019; Penna *et al.*, 2021).

Em concordância com o início da produção queijeira no país, o queijo artesanal da região do Campos das Vertentes, teve o início da sua produção no século XVIII pelos imigrantes portugueses, “cristãos novos” da região do Minho, que habitaram a região. Fisicamente, o queijo da região se caracteriza por sua forma cilíndrica, de cerca de 10 a 17 cm de diâmetro; 3,5 a 5,0 cm de altura e peso de 0,75 a 0,9 kg. As suas etapas de produção seguem a dos demais QMA, sendo fermentado pelo fermento natural e com uso de coalho para coagulação. Apesar do tempo mínimo de maturação ser os 22 dias, aos 90 dias passa a ser considerado com um palato aperfeiçoado. O reconhecimento da região, permitiu a entrada no mercado de novos produtores, no entanto, ainda necessitam de assistência técnica dos órgãos competentes, para estabelecerem o êxito que as outras microrregiões, como a da Canastra, obtiveram (Penna *et al.*, 2021).

2.3 Perspectivas Comerciais do Queijo Minas Artesanal

Segundo o Sindicato da Indústria de Laticínios de Minas Gerais (Silemg), do volume de 1,2 milhão de toneladas de queijo produzidas no Brasil, em 2020, cerca de 40% do total tem Minas Gerais como origem. As exportações brasileiras do produto, no mesmo ano, alcançaram a receita de US\$ 76 milhões. O levantamento feito pelo Sistema Safra Agroindústria, da Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado Minas Gerais (Emater-MG), demonstra a importância da atividade para o estado. Segundo dados de 2021, do total de estabelecimentos agroindustriais de leite e derivados no estado, 92,6% pertencem à agricultura familiar artesanal, gerando renda para pelo menos 30 mil famílias em todas as regiões produtoras do estado. Juntas, essas famílias produzem cerca de 85 mil toneladas do produto ao ano. Mais de 9 mil famílias são produtoras somente do queijo minas artesanal (Santos, 2022a).

Vislumbrando as necessidades e os desejos de um enorme mercado consumidor internacional, ávido por ter acesso a produtos que, além de qualidade, agregam valores únicos, os diversos produtos com reconhecida Indicação Geográfica (IG) se destacam. São produtos com tradição, cultura e peculiaridades socioambientais pertinentes as localidades de onde são produzidos. Ao redor do mundo, existem exemplos já consagrados, como os espumantes produzidos na região de Champagne, que se tornaram sinônimo de qualidade e sofisticação (FAEMG, 2018). As Indicações Geográficas levam a valorização da reputação dos produtos pelos consumidores, protegendo o produto e reduzindo as falsificações (MAPA, 2022).

No Brasil, a cultura é recente, mas já produziu grandes referências, como o queijo canastra, o café da Mantiqueira, a cachaça de Salinas ou a cajuína do Piauí; em se tratando de

queijos, exemplos internacionais de renome são os queijos *Roquefort* (França), o *Gorgonzola* (Itália) e o *Grana Padano* (Itália). A região do Campo das Vertentes possui um registro concedido para café em grão verde e café industrializado, torrado e moído com Indicação de Procedência, considerando os registros históricos e a caracterização e delimitação da área produtora (FAEMG, 2018; IMA, 2019).

Apesar de não possuir regulamentação para ser exportado, o QMA tem se destacado na preferência entre mestres queijeiros tradicionalmente produtores de países como a França e Suíça e vista a agilidade legislativa do governo mineiro em critérios regulatórios para este produto, a Secretaria de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento de Minas Gerais (SEAPA-MG), tem buscado a colaboração para implementação das normativas pertinentes que permitirá a aceleração segura da regulamentação às normas internacionais, o que poderá garantir a adequação às normas para a exportação (Minas Gerais, 2022; Rodrigues, 2022; SEAPA, 2022; Valverde, 2019).

O Queijo Minas Artesanal já é reconhecido como patrimônio imaterial do Estado de Minas Gerais pelo IPHAN desde de 2008 e o queijo Canastra em saga internacional recebeu 24 medalhas no ano de 2019, em um conceituado evento francês que reconhece a qualidade de queijos tradicionais e à consagrar-se, em junho de 2022, o Queijo da Canastra foi considerado o melhor do mundo no *ranking* dos 50 melhores do planeta pelo site norte-americano Taste Atlas, especializado em culinária (Rodrigues, 2022; Valverde, 2019).

2.4 Identificação Geográfica e *Terroir*

O fermento que dá as características específicas ao Queijo Minas Artesanal é denominado de “pingo”. O pingo é obtido com o soro drenado dos queijos recém produzidos, no período entre a tarde e a noite do primeiro dia de maturação e esse acervo de microrganismos é que exercerá o padrão de ambiência de um determinado território (Meneses, 2006). Sua composição abrange bactérias lacto-fermentativas e estas são específicas para cada região do Estado, pois são influenciados por características físicas e inerentes a cada região. As individualidades regionais são formadas em razão das pastagens típicas, das bactérias específicas que ali se desenvolveram e multiplicaram e por influência do clima local sobre a matéria prima e o processo produtivo. Mesmo que não haja tradução formal, a junção desses caracteres pode ser expressa pela terminologia “*terroir*” (Matos; Rovere, 2020). Assim, cada queijo, conforme sua região de origem, possui aparência e características sensoriais específicas (Meneses, 2006).

Além de especificidades do solo e do clima, particularidades históricas e de saberes compõem o enredo de valorização dos QMA. Esses elementos foram especificamente protegidos e reconhecidos como qualitativos, por oferecerem um *terroir* marcante, capaz de valorizar esses produtos. Legalmente, uma forma de garantir este reconhecimento foi por meio da Lei n.º 9.279, de 14 de maio de 1996, contendo um capítulo específico para as Indicações Geográficas (IG), sendo essa uma das formas de propriedade intelectual atribuída na forma de registro de produtos ou serviços para uma determinada região tradicional do Brasil (Brasil, 1996; Matos; Rovere, 2020).

Os países Europeus, apresentam uma demanda específica por produtos e pagam mais por itens especiais, com alguma caracterização de origem a produtos que, além de qualidade, agregam valores imensuráveis como a tradição, a cultura e as especificidades socioambientais das regiões produtoras. Isso infere diretamente no potencial da ampliação das exportações tanto para Brasil, como para Minas Gerais. Mas para o Estado, destaca-se o potencial específico dos QMA, havendo sido realizado um trabalho ostensivo entre FAEMG, SEBRAE, entre outras instituições, para fortalecer e organizar as regiões produtoras para a conquista de denominações de origem e de indicações de procedência através do registro da indicação geográfica (FAEMG, 2018; Valverde, 2019).

O registro das indicações geográficas é realizado junto ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI) e é deferido mediante a realização de estudos, com o levantamento histórico e geográfico que atestam a relação de vínculo inequívoco entre a região e determinado produto. Para favorecer a efetivação desta política pública para os produtores de QMA, o Sebrae promoveu a discussão do tema entre INPI, o Instituto de Propriedade Industrial da França e o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, buscando contribuir com a economia do país através da sustentabilidade econômica do produto (FAEMG, 2018).

A Lei da Propriedade Industrial garantiu, nesses mais de vinte anos, que os produtores brasileiros fossem introduzidos na conquista de importantes novos mercados, havendo atualmente o desafio da adequação da legislação para permitir a exportação de alguns itens, como o Queijo Minas Artesanal, assim os produtos artesanais do Brasil seriam incluídos em um reconhecimento mútuo que vem sendo otimizado por acordos internacionais, os quais visam igualar as chances de reconhecimento e consagração já obtido pelos produtos da União Europeia, a exemplo, o Champagne (FAEMG, 2018).

Tais transações comerciais foram favorecidas pelo acordo finalmente fechado em 28 de junho de 2022, após 20 anos de negociações, estabelecendo tratativas comerciais entre o bloco econômico do Mercosul, do qual o Brasil faz parte e a União Europeia, acordo este que prevê,

dentre outras coisas, que em 10 anos as tarifas de exportação da América do Sul a Europa, seja zerada e em contrapartida, a Europa precisa realizar a retirada de 91% das tarifas de exportação que ela faz ao Mercosul. No acordo alguns produtos brasileiros foram tratados com distinção, entre eles estão os vinhos, a cachaça, o café e os produtos lácteos, que incluem os queijos (Bueno, 2022; FAEMG, 2018; Valverde, 2019). Desta forma, a certificação de uma indicação geográfica para os queijos artesanais brasileiros, sinalizam eventos importantes e podem ser essenciais para agregar valor a esses produtos (Kamimura *et al.*, 2019).

2.5 Produção do QMA

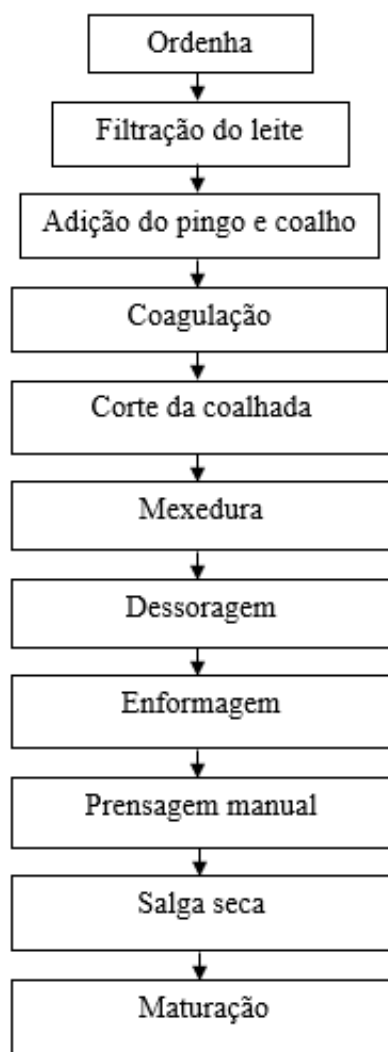
O Queijo Minas Artesanal é o queijo caracterizado por ser produzido a partir do leite cru e com a utilização do fermento láctico natural, popularmente conhecido como pingão, em propriedades com atividade de pecuária leiteira. As etapas de fabricação dos queijos artesanais oficialmente reconhecidos no Estado de Minas Gerais encontram-se demonstrada na Figura 3.

O leite utilizado na fabricação dos queijos artesanais deve ser oriundo unicamente da propriedade rural onde a queijaria está localizada. Há permissão, no entanto, para os casos de assentamento familiar ou agrupamento de produtores, compartilhar a queijaria para processamento de leite produzido em outras propriedades. Em ocorrências como essa, a queijaria deve ser diretamente responsabilizada pela qualidade do leite processado e do queijo artesanal produzido (Minas Gerais, 2012).

A fabricação do Queijo Minas Artesanal deverá ter início em até 90 minutos após o começo da ordenha, sendo vedado ao produtor realizar o tratamento térmico do leite destinado à matéria-prima. Como meio de fermentação é permitido apenas a utilização de culturas lácticas naturais, como o pingão, o soro fermentado ou soro fermento e, conforme informa o regulamento específico, a rala que é a porção ralada do próprio queijo artesanal (Minas Gerais, 2012).

As técnicas industriais não são permitidas no fabrico dos queijos, ficando assim vedadas atividades como a ultrafiltração do leite, prensagem mecânica, emprego de leite concentrado ou em pó e proteínas lácticas, enzimas coagulantes de origem fúngica ou microbiana, utilização de leite sem lactose ou qualquer outro componente normal do leite e quaisquer outras técnicas industriais que venham a ser desenvolvidas (Minas Gerais, 2002a).

Figura 3 - Etapas da produção do Queijo Minas Artesanal.



Fonte: Minas Gerais (2012).

Após ser ordenhado, o leite cru passa por processo de filtração e deve ser levado para o interior da queijaria para iniciar a produção do QMA, sendo armazenados em tanques até que se inicie a fabricação. O leite é adicionado de coalho e do soro fermento, seguindo para a etapa de coagulação, que dura cerca de 30 a 40 minutos. Após esse tempo faz-se o corte da coalhada com o auxílio de uma pá, régua ou lira rústica. Para facilitar o processo de dessoragem, é realizada uma mexedura cuidadosa na massa (Minas Gerais, 2012).

A massa é transferida para formas plásticas e prensada manualmente pelo queijeiro, com ou sem a ajuda de pano, para que o soro residual seja descartado e o queijo seja moldado. Ainda na forma, a massa recebe a primeira salga, seja de sal fino ou grosso, em apenas uma das superfícies. Após 12 horas o queijo é virado e a nova superfície recebe sal. Durante essa etapa o pingo é coletado e após 24 horas o queijo é retirado da forma e o sal em excesso é descartado.

O queijo então é levado para as prateleiras de maturação, em sala anexa, onde permanecerá até concluir o período de para maturação (Castro, 2015).

O fato de ser produzido com leite cru, ou seja, não ser pasteurizado, gerou desconfianças até o final da década de 1990. A ciência demonstra que, embora exista um risco adicional quando se trabalha com leite cru, este tipo de queijo é sim apropriado para a alimentação humana. Porém, mesmo havendo o reconhecimento do *terroir* do QMA, e da tradicionalidade das regiões produtoras, a segurança não pode ser negligenciada e os riscos microbiológicos dos produtos lácteos crus devem ser previstos, e tanto o rebanho, quanto o processo de fabricação devem passar por controle rigoroso para que seja produzido um produto inócuo, uma vez que não contam com a pasteurização como meio de contenção inicial dos patógenos zoonóticos e microbiológicos (Silva *et al.*, 2018; Valverde, 2019).

Após o término da fabricação, todos os utensílios utilizados deverão ser cuidadosamente limpos com solução detergente, segundo a orientação do fabricante, seguido de higienização com solução desinfetante, recomendando-se solução de hipoclorito de sódio, com 100 a 200 mg/L de cloro livre, com 30 minutos de exposição, porém sem especificações para as tábuas de madeira destinadas a maturação (IMA, 2002a). Segundo a Portaria nº 518, de 14 de junho de 2002, regulamentada pelo IMA, as prateleiras para maturação dos Queijos Minas Artesanais, poderão ser constituídas de madeira, plástico ou outro material aprovado pelo IMA, contando que o QMA seja armazenado em condições que garantam a proteção contra contaminação e reduzam ao mínimo os danos e deteriorações. Tais especificações visam manter as tradições dos fazeres e a identidade cultural e culinária das regiões reconhecida como produtoras do produto.

2.6 Legislação para o Queijo Minas Artesanal

A produção de queijos no Brasil é liderada pelo estado de Minas Gerais com cerca de 25% da produção nacional (Soares; Rodrigues, 2019) e este certamente é um dos fatores que motivou o desenvolvimento de uma legislação específica e própria para a produção de queijos com leite cru (Minas Gerais, 2002a). O estado seguia a regulamentação dos Queijos Artesanais (QA) no Brasil, instituído através do Regulamento nº7, de 28 de novembro de 2000, pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, que estabelecia a produção e a comercialização de QA por meio da regulamentação exercida pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF), através do Regulamento e Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal

(RIISPOA), desde que os queijos fossem produzidos com leite tratado termicamente, e com maturação mínima de 21 dias (Brasil, 2000).

2.7 Aspectos iniciais da Legislação

A legislação mineira, de forma inédita, descreveu uma normatização para a produção de queijos a partir do leite cru, o que era uma exceção necessária a tradição centenária dos QA, mas a exigência de no mínimo 60 dias de maturação para a sua comercialização, dificultava o comércio do queijo em meio aos requisitos burocráticos, até então descritos pela Portaria nº 146, de 07 de março de 1996 (Brasil, 1996; Macedo Junior; Almeida., 2019; Minas Gerais, 2002a; Severino, 2012).

Ainda em 2002, o MAPA em conjunto com a Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural de Minas Gerais - EMATER-MG, lançou o “Programa de apoio aos queijos tradicionais de fabricação artesanal”, reconhecendo, normatizando e padronizando a produção dos queijos, conferindo a eles uma certificação de origem e qualidade. O programa se apoiava na Lei Estadual 14.185, de 31 de janeiro de 2002, que permitia a comercialização, dentro do estado de Minas Gerais, do queijo produzido a partir do leite cru, porém a comercialização interestadual continuou negligenciada (EMATER, 2022; Minas Gerais, 2002a).

Segundo a Lei Estadual 14.185/02, Queijo Minas Artesanal (QMA) é definido como o queijo que apresenta consistência firme, cor e sabor próprios, massa uniforme, isenta de corantes e conservantes e com o principal diferencial aos demais queijos, até então regulamentados, ser confeccionado a partir do leite integral de vaca fresco e cru, retirado e beneficiado na propriedade de origem, no entanto, não detalhava sobre o período de maturação do queijo. Em sequência, decretos foram publicados visando a complementação dos padrões de produção do QMA, instruindo sobre critérios sanitários do rebanho, das instalações, da água utilizada, adoção de boas práticas higiênico-sanitárias, os padrões microbiológicos, padronização do fluxograma de produção, além do mapeamento das microrregiões produtoras de QMA e o seu transporte e rotulagem (Minas Gerais, 2002b, 2008, 2011).

No ano de 2011 o MAPA publicou a Instrução Normativa (IN) de nº 57, de 15 de dezembro de 2011, estabelecendo flexibilidade no período de maturação dos queijos artesanais tradicionalmente elaborados a partir de leite cru, permitindo um período de maturação inferior aos 60 dias anteriormente exigido, desde que houvesse o fundamento de estudos técnico-científicos comprovando que a redução do período de maturação não comprometeria a qualidade e a inocuidade do produto (Brasil, 2011).

A comercialização dos produtos de origem animal, mesmo os originados da agricultura familiar, passou a ser regulamentado, inicialmente, através do Decreto 5.741, de 31 março de 2006, que descrevia as atribuições e organizava o Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária – SUASA, sendo necessário aos produtores de QMA estarem de acordo com os requisitos estabelecidos, para tornarem-se aptos a receber o selo de inspeção sanitária, autorizando a comercialização de seus produtos (Brasil, 2006a). Os critérios estabeleciam padrões higiênico-sanitários e a coordenação de ações por meio de Sistema Brasileiro de Inspeção de Produtos de Origem Animal – Sisbi-POA. Posteriormente o Decreto passou por alterações, mas manteve o objetivo de regulamentação dos artigos da Lei 8.171, de 17 de janeiro, de 1991 (Brasil, 2010, 2015; Castro, 2019).

Paralelamente em Minas Gerais, a Lei 20.549 de 18 de dezembro de 2012, posteriormente revogada pela Lei 23.157, de 18 de dezembro de 2018, era decretada com o propósito de valorizar a produção do QMA. A Lei expõe regras que regem a expansão do agronegócio familiar e contempla também os padrões higiênico-sanitários relativos à produção dos queijos. O QMA foi reconhecido como um produto artesanal obtido a partir do leite cru, estimulando desta forma a impulsão comercial do produto (Minas Gerais, 2018b).

Estabelecendo viabilidade ao produtor, uma vez que ele fosse definido como agricultor familiar e aderisse ao Sisbi-POA, a inserção de seus produtos no mercado legalizado seria viabilizada, porém, buscando prover um meio adicional para a regularização da produção de queijo, o governo de Minas Gerais publicou a Lei 19.476, regulamentada pelo Decreto 45.821, de 19 de dezembro de 2011, estabelecendo regras para o registro e certificação sanitária dos pequenos produtores agrícolas, estendendo-se de forma especial às queijarias de QMA. Posteriormente, essa lei foi alterada pela lei 22.920, de 12 de janeiro de 2018 (Castro, 2019; Minas Gerais, 2018a; Pissolato; Elesbão, 2018).

No ano de 2015, um Decreto Federal de n.º 8.471 foi promulgado, permitindo aos produtores com propriedades fora da zona rural, não classificados como agricultor familiar, serem habilitados como um estabelecimento agroindustrial de pequeno porte. Neste mesmo ano a IN n.º 16, de 23 de junho de 2015, era publicada contendo normas direcionadas a inspeção e a fiscalização sanitária de produtos de origem animal oriundos das agroindústrias de pequeno porte, como os QMA (Brasil, 2015; Minas Gerais, 2018a).

Todavia, o ato complementar da legislação tardou em ser publicado e a comercialização interestadual dos QMA restringiu-se ao controle exercido pelo Serviço de Inspeção Municipal (SIM) e as legislações com padrões de classificação que não beneficiavam os pequenos

produtores agroindustriais, por razão da sua estrutura e equipamentos limitados (Brasil, 2015; Minas Gerais, 2018a; Santos; Bevilacqua, 2019).

2.8 Evolução da Legislação para QMA

Em meio a muitos decretos, portarias e Leis, a Legislação sobre QMA começa a alcançar a possibilidade da comercialização nacional dos produtos em 2013, por meio da IN nº 30, de 7 de agosto, de 2013 e a portaria nº1305, de 30 de abril, de 2013. Através destas normas o governo federal concedia competência aos órgãos municipais e estaduais de ratificar os estudos científicos que confirmem a exigência de maturação dos queijos por período menor que 60 dias (Brasil, 2013; IMA, 2013).

Neste íterim os órgãos legisladores mantiveram as atividades buscando a regularização do processo e comercialização dos QMA, desenvolvendo o Decreto nº 11.099 de 21 de junho de 2022, regulamentador do novo selo Queijo Artesanal e do Selo Arte, também regulamentando a Lei federal nº 13.860 de 18 de julho de 2019, instituída para dispor sobre a elaboração e a comercialização de queijos artesanais e dar outras providências, conhecida como a “Lei dos Queijos Artesanais”, além da promulgação da Lei do “Selo arte” de nº 13.680, de 14 de junho de 2018. Com as adaptações legislativas decorrentes do ano de 2022, ficou estabelecido que os queijos artesanais elaborados por métodos tradicionais, serão identificados por um selo único com a indicação “Queijo Artesanal” (Brasil, 2018, 2019, 2022; Cislighi; Badaró, 2021).

Os produtores que já possuíam o selo arte poderão usar os dois, ou migrar para o uso do selo único de Queijo Artesanal (Figura 4). Ficou determinado aos órgãos de agricultura e pecuária estaduais, municipais e distrital a função de conceder o selo único, fiscalizar os produtores artesanais que possuírem o selo, elaborar as normas sanitárias para a produção artesanal, inserir e manter as informações no Cadastro do Sistema Nacional de Produtores Artesanais, sendo um maior respaldo para os produtos, a inclusão do MAPA como órgão concessor dos Selos (Brasil, 2022; FPA, 2022). Atualmente 188 produtores de QMA estão regularmente cadastrados no sistema (MAPA, 2022).

Dentre alterações de normas já criadas e o desenvolvimento de novas, o estado de Minas Gerais elaborou o Decreto 48.024, de 19 de agosto de 2020, regulamentando a Lei 23.157/2018, que dispõe de modo detalhado sobre a produção e comercialização dos queijos artesanais de Minas Gerais, estabelecendo as condições a serem fiscalizadas pelo IMA e reforçando os preceitos das práticas higienico-sanitárias, adequação das instalações e produtores,

equipamentos mínimos necessários, além dos documentos a serem apresentados ao órgão responsável para credenciamento e registro, mas de modo favorável, a legislação admitiu também a produção de variações do QA, uma vez que respeite os critérios qualidade, podendo haver alterações pontuais no processo de fabricação ou nas etapas de maturação (Minas Gerais, 2020).

Figura 4 - Selo Queijo Artesanal.



Fonte: MAPA (2022).

Colaborando com as perspectivas comerciais dos QMA, o Governo Federal, através do Decreto nº 11.099, de 21 de junho de 2022, buscou, dentre suas descrições, beneficiar o produtor rural, por afirmar que a obtenção do registro no Serviço de Inspeção Municipal (SIM) é condição suficiente para a comercialização dos queijos artesanais em todo o território nacional e estimular a formalização de mais produtores, uma vez que conta agora com maior abrangência de definições, sendo o Selo Arte um certificado que assegura que o produto alimentício de origem animal foi elaborado de forma artesanal, com receita e processo que apresentem características próprias, tradicionais, regionais ou culturais, podendo ser concedido a produtos lácteos, cárneos, pescados e seus derivados e produtos de abelhas. Já o selo “Queijo Artesanal” certifica que os queijos artesanais foram elaborados por métodos tradicionais com vinculação e valorização territorial, regional ou cultural (Brasil, 2022; FPA, 2022).

2.9 Padrões Microbiológicos para o QMA

O QMA possui um histórico legislativo também no que diz respeito a determinação de suas características físico-químicas e microbiológicas. O Decreto nº 42.645, de 5 de junho de 2002 (Minas Gerais, 2002b) estabeleceu inicialmente os padrões físico-químicos e microbiológicos para o Queijo Minas Artesanal, padrões esses que inicialmente eram idênticos

aos da legislação federal para queijos de alta umidade, mas estes dados foram modificados em 2008 pelo Decreto no 44.864, de 1 de agosto de 2008 (Minas Gerais, 2008), ficando assim estabelecidos para a época, e atualmente, critérios compatíveis aos de queijos de média umidade.

Tabela 1 - Parâmetros físico-químicos de Queijo Minas Artesanal.

Físico-químico	
Parâmetro	Padrão
Umidade (g/100g)	máximo de 45,9
Amido (g/100g)	negativo
Fosfatase residual	positivo
Nitrato	Negativo*

* Para queijo Minas Artesanal não é permitido a presença de nitrato. Os resultados obtidos por meio de métodos quantitativos apropriados que forem menores do que o limite de quantificação podem ser considerados negativos e/ou ausentes.

Fonte: IMA (2021).

Tabela 2 - Parâmetros Microbiológicos de Queijo Minas Artesanal.

Microbiológico	
Parâmetro	Padrão
Coliformes a 35 °C (UFC /g)	n=5; c=2; m=1.000; M=5.000
Coliformes a 45 °C (UFC /g)	n=5; c=2; m=100; M=500
<i>Staphylococcus</i> coagulase positivo (UFC /g)	n=5; c=2; m=100; M=1.000
<i>Salmonella</i> spp. (/25 g)	n=5; c=0; m=0; M=
<i>Listeria monocytogenes</i> (/25 g)	n=5; c=0; m=0; M=

Fonte: IMA (2021).

Atualmente o governo de Minas Gerais através do IMA, estabeleceu a portaria de nº 2033, de 23 de janeiro de 2021, que dispõe sobre os parâmetros e padrões físico-químicos e microbiológicos de alimentos de origem animal e água de abastecimento, estabelecendo os parâmetros a serem seguidos conforme indicado nas Tabelas 1 e 2 (IMA, 2021a).

São aceitáveis variações no processo de fabricação, mesmo que envolva uma mesma região, em função de se reconhecer que não há padronização na produção desses queijos, porém há em conjunto, falhas instauradas no processo pelo simples subentendimento da legislação vigente, e de forma rotineira, o Queijo Minas Artesanal apresenta divergências quanto aos

aspectos físico-químicos e os parâmetros microbiológicos pertinentes a sua característica de identidade (Teodoro *et al.*, 2013).

2.10 Controle de qualidade no processo de produção

As fontes principais, relacionadas a contaminações dos queijos artesanais, podem relacionar-se a erros no processo de higiene durante a obtenção do leite, como falhas sanitárias na ordenha, nas condições de saúde dos animais e manipuladores, limpeza insuficiente dos equipamentos, além do incorreto manuseio e armazenamento. A omissão das etapas que configuram as Boas Práticas de Fabricação (BPF), durante a produção do queijo também caracterizam as fragilidades do processo produtivo (Penna *et al.*, 2021).

Alguns dos aspectos passíveis de serem fontes de contaminação microbiológica, possuem descrição quanto ao tipo e periodicidade de análises físico-químicas e microbiológicas a serem adotadas, estando estabelecidas pela Legislação vigente, a fim de servirem como medida de controle. Em relação a matéria prima, a Legislação mineira determina que o leite cru oriundo da fazenda em que o QMA é produzido, seja analisado trimestralmente em laboratório credenciado vinculado à Rede Brasileira de Qualidade do Leite (RBQL), caso este seja advindo de produtor externo à queijaria, com vínculo de relacionamento comprovado, a periodicidade das análises passa a ser mensal (Minas Gerais, 2018b, 2020).

Já a água utilizada na ordenha e na produção do queijo artesanal, deve ser submetida à análise físico-química e microbiológica semestralmente, bem como, o atestado de saúde dos manipuladores deve ser atualizado anualmente ou conforme a necessidade, além de serem instruídos a adotarem as Boas Práticas de Fabricação (BPF) (Minas Gerais, 2018b, 2020).

O leite em propriedades de pequeno porte do Brasil, em grande parte, tende a ser obtido de forma anti-higiênica e o controle zoonótico e sanitário das matrizes é descontínuo (Matsubara *et al.*, 2011). Assim, a utilização do leite cru para a produção de queijos, faz desta matéria-prima um meio rico para a proliferação bacteriana, em razão da sua riqueza nutricional, inclusive microrganismos causadores de patologias humanas, havendo destaque para *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* e *Listeria monocytogenes* (Dalmina, 2018).

A predominância de um ambiente anaeróbico no interior do queijo, ao decorrer do período de maturação, impõe que microrganismos exclusivamente aeróbicos, como *Pseudomonas*, *Brevibacterium*, *Bacillus* e *Micrococcus*, limitem seu desenvolvimento a superfície dos queijos. No que diz respeito a temperatura, os microrganismos mais relevantes

para a produção de produtos lácteos são os Mesófilos, microrganismos cuja temperatura ótima de crescimento é entre 30°C e 40°C, mas que podem crescer entre 20°C e 45°C. Este grupo inclui a maioria dos contaminantes do leite e podem estar nos alimentos refrigerados, mas normalmente não apresentam crescimento. Os Psicotróficos, capazes de crescer sob refrigeração, a 7°C ou menos, também representam um grupo de risco de contaminação para laticínios; sua temperatura ótima de crescimento é entre 20°C e 30°C. Os Termófilos crescem a 45°C ou mais e apresentam temperatura ótima entre 55°C e 65°C, sendo capazes de sobreviver às condições de pasteurização (Jay, 2005; Perry, 2004).

A maturação dos queijos artesanais fica autorizada a ocorrer em temperatura ambiente ou em ambiente climatizado, sendo que os ambientes necessários para a queijaria são: área para recepção e armazenagem do leite; área de fabricação; área de maturação, se necessário, ou seja, pode ser junto de algum outro ambiente e suas influências microbiológicas; área de embalagem e expedição; área de almoxarifado; área de vestiário/sanitário e barreira sanitária. As prateleiras para maturação dos queijos devem ser de material aprovado pelo IMA, podendo ser constituídos de plástico ou madeira, mas como forma de prover maior segurança, o material dos utensílios e equipamentos empregados na maturação/afinação do queijo, devem permitir fácil higienização (IMA, 2002b; Minas Gerais, 2018b, 2020).

Os critérios de cuidados para manipuladores ao longo processo de ordenha e produção e o detalhamento das instalações e equipamentos, são informados de modo sucinto na Portaria do IMA, nº 523 de 3 de julho de 2002, firmando os padrões higiênico-sanitário de BPF. No entanto, a forma de higienização das prateleiras de maturação e uma periodicidade não é informada nos documentos regulatórios pertinentes (IMA, 2002a; Minas Gerais, 2018b, 2020). Os processos pertinentes as Boas Práticas de Fabricação, devem envolver as etapas de da produção, envolvendo uma sistemática que garanta os padrões mínimos de qualidade, prezando pela boa qualidade e higiene da matéria prima, através da adoção de critérios sanitários, baseado em normas voltadas desde as instalações e infraestrutura, ao armazenamento e transporte do produto, evitando a contaminação iminente do leite e consequentemente do queijo (Bezerra, 2008).

Em específico para a região do Campo das Vertentes em Minas Gerais, foi realizado um estudo em dez propriedades produtoras de leite, no entanto, sem foco na avaliação higiênica das queijarias em propriedades que mantivessem as unidades. As propriedades foram avaliadas nos períodos chuvoso e de seca quanto a diversos índices relacionados com a higiene na ordenha do leite por meio de um checklist; coleta de amostras de leite cru e água; *swabs* de tetos, mãos, superfícies de teteiras, baldes, latões e tanque de expansão. Posteriormente, realizaram

treinamento de boas práticas agropecuárias com os produtores e repetição das análises, nos mesmos períodos do ano. O resultado encontrado foi muito positivo, sendo que houve redução maior ou igual a 95% em ambas as sazonalidades, nas contagens de aeróbios mesófilos para utensílios utilizados na ordenha, em comparação aos resultados obtidos antes do treinamento (Teodoro *et al.*, 2013).

Quanto ao processo de higienização, uma das principais falhas aplica-se nas etapas do preparo e na dosagem dos agentes de limpeza e sanitização; desrespeito ao tempo de exposição das diluições de sanitizante com as superfícies; variações incorretas à temperatura de aplicação das soluções, quando necessário; ausência de emprego de utensílios adequados para a etapa de limpeza, como escovas de uso manual e utilização de água não tratada e passível da presença de contaminantes (Pereira *et al.*, 2013).

2.11 Principais microrganismos contaminantes

O leite e outros produtos lácteos podem ser indevidamente manipulados nas propriedades onde são obtidos e sofrer com práticas anti-higiênicas, sendo assim meios potenciais de infecção por *Salmonella*. No trabalho realizado por El Baz *et al.* (2017) *Salmonella* spp. foi isolada de 6 diferentes amostras de leite cru, em 5 amostras do queijo artesanal *Kariesh* e em 1 amostra do queijo branco macio comercializados no Egito. A *Salmonella* é um dos principais patógenos alimentares mundiais, ela pertence à família *Enterobacteriaceae*. As salmoneloses humanas são em 99% ocasionadas por *S. entérica* subespécie *enterica* que habita em animais de sangue quente pessoas infectadas apresentam sintomas típicos de uma Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA), como vômito, dores abdominais, febre e diarreia, que geralmente duram alguns dias e diminuem em uma semana. É um bastonete Gram negativo, anaeróbio facultativo, tem temperatura ótima de crescimento de 35-43°C, cresce em pH de 3,8 a 9,5 e a atividade de água mínima de crescimento é 0,94 (Elafify *et al.*, 2022; Silva *et al.*, 2010).

A incidência de *L. monocytogenes* em laticínios é alta, sendo repetidamente isolada em plantas de produção de queijos e no produto final. *Listeria monocytogenes* é um patógeno oportunista capaz de causar listeriose, uma doença veiculada por alimentos, de importância para a saúde pública por resultar em agravamento de sintomas, hospitalização e até morte em grupos mais susceptíveis como gestantes, idosos e pacientes imunocomprometidos, seus sintomas incluem febre e dores musculares, às vezes precedidas de diarreia e outros sintomas gastrointestinais. *L. monocytogenes* é uma bactéria Gram positiva, da família *Listeriaceae*. Ela

possui a forma de coccobacillus e é psicrotrófica, sobrevivendo em ampla faixa de temperatura, entre 0,4°C a 45°C, como também em ampla faixa de pH - 4,0 a 9,6 (6-8, pH ótimo) - em ambientes aeróbicos e anaeróbicos, com até 0,90 de atividade de água (Aw) (Silva, 2021). No queijo artesanal Serrano, feito a partir do leite cru de vaca, ao final da sua maturação de 28 dias, ainda foi possível isolar *L. monocytogenes* no produto (Pontarolo *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2010).

A presença prevalente de *Staphylococcus aureus* em leite e derivados é um indicador de falhas higiênicas, bem como um indicador de mastite contagiosa no rebanho, já que este microrganismo é um dos agentes causadores no gado leiteiro. *S. aureus* é um patógeno alimentar, causador de doença de baixo risco, autolimitada, de curta duração e sem ameaças de morte, sendo que algumas estirpes são capazes de produzir enterotoxinas estafilocócicas, (Borelli *et al.*, 2011; Camargo *et al.*, 2021).

Em ocorrência de contaminação destas estirpes em produtos lácteos e outros alimentos, causarão intoxicação alimentar, mas nos queijos brasileiro, de consumo tradicional, a enterotoxina não foi facilmente detectada nos estudos. É uma bactéria Gram positiva, anaeróbios facultativos, catalase positivo e coagulase positivo, sua temperatura ótima de crescimento é de 35-40°C, cresce em pH de 4,2-9,3 e A mínima de 0,85. É prevalente nas vias nasais, garganta, pele e cabelos de humanos saudáveis. O úbere de vacas leiteiras se infectados, tornam-se uma fonte de contaminante para o leite (Borelli *et al.*, 2011; Camargo *et al.*, 2021; Silva *et al.*, 2010).

Em análises microbiológicas, alta contagem de coliformes totais e coliformes termotolerantes pode ser indicação de falhas nas condições higiênicas na produção do queijo, uma vez que são patógenos facilmente eliminados por sanitizantes. Estes microrganismos são comuns em ambiente de fabricação de alimentos (Cruzado-Bravo *et al.*, 2020). Os coliformes totais formam um subgrupo da família *Enterobacteriaceae*, com 44 gêneros e 176 espécies, sendo que neste grupo encontram-se apenas as capazes de fermentar lactose com produção de gás de 24-48h a 35°C (Silva *et al.*, 2010).

Os coliformes termotolerantes formam um subgrupo dos coliformes totais, limitados aos fermentadores de lactose em 24-48h a 44,5-45,5°C, com produção de gás, estando *E. coli* inclusa em ambos os grupos de coliformes, habitando Trato Gastrointestinal de animais de sangue quente e outros ambientes não fecais. É capaz de causar em humanos infecção do trato urinário, infecção entérica, onde produzem várias citotoxinas, neurotoxinas e enterotoxinas, incluindo a toxina Shiga (verotoxina), e provocam diarreia sanguinolenta; a síndrome hemolítico-urêmica, além de infecção invasiva. Falhas nas etapas de higienização, presença de

biofilmes, contaminação cruzada por fluxo incorreto na área de trabalho das queijarias, falta de higiene dos manipuladores, erros na temperatura de armazenamento, são exemplos de situações que predisponham a prevalência das bactérias destas enterobactérias (Cruzado-Bravo *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2010; Tortorello, 2003).

2.12 Bactérias Lácticas

As Bactérias do Ácido Lático (BAL) formam um grupo de bactérias Gram positivas caracterizadas principalmente pela fermentação de carboidratos resultando na produção do ácido lático, além disso, caracterizam-se por serem catalase-negativo, não formadoras de esporos, anaeróbias facultativas, não móveis. As bactérias homofermentativas desta espécie possuem como produto o ácido lático, já as bactérias heterofermentativas produzem principalmente ácido lático em conjunto ao dióxido de carbono e etanol/acetato. Representam microrganismos de fácil cultivo, com propriedades promotoras de saúde e comensais ao intestino humano, sendo a maioria dos gêneros detentores do *status* Geralmente Reconhecido como Seguro (GRAS), em concordância com a Food and Drug Administration (FDA) dos EUA (Bangar *et al.*, 2022).

O gênero das BAL, compreendem os *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Weissella* e o gênero *Lactobacillus*. De forma natural as BAL são capazes de dominar a população microbiana de muitos alimentos em que se apresentam naturalmente, isso ocorre em razão da sua capacidade de catabolizar carboidratos em ácido lático, obtendo como produto compostos biologicamente ativos, como ácidos orgânicos, diacetil, peróxido de hidrogênio, peptídeos antibacterianos e precursores de sabor. Tal característica vem conferindo a este grupo importância tecnológica sendo frequentemente utilizadas como culturas iniciadoras ou protetoras (Martín *et al.*, 2022).

As BAL desempenham a função de fermentadoras de alimentos no processo produtivo de iogurte, queijo, manteiga cultivada, coalhada, salsichas, pickles de pepino, azeitonas, cacau, entre muitos outros alimentos. Mas algumas espécies, ao contrário, deterioram cervejas e vinhos, além de carnes, tudo isso porque se enquadram como bactérias lácticas não iniciadoras. Já as bactérias lácticas iniciadoras enquadram-se nessa classificação por se tratar de microrganismos vivos envolvidos no início da fermentação, modificando de modo específico a composição física e as características sensoriais de alimento (Grujović *et al.*, 2022; Medina-Pradas *et al.*, 2017).

O interesse por isolar, caracterizar e selecionar novas estirpes de bactérias lácticas é crescente e mais enfático ano após ano, em virtude da confirmação das hipóteses de propriedades funcionais e potencial biotecnológico específicos a exemplo das culturas iniciadoras (Celik, 2021). A utilização das BAL tem permitido prolongar a vida de prateleira de alimentos crus perecíveis, se tornando um adjuvante tecnológico, agregando às matrizes alimentares sabores, qualidade nutricional e segurança no consumo, o que é de extrema relevância para as indústrias de alimentos, já que o produto de seu metabolismo conferem vantagens sensoriais ao alimento, como cor, aroma e textura, principalmente para os produtos lácteos, uma das classes de alimentos mais beneficiadas pela presença destes microrganismos (Ağagündüz *et al.*, 2022).

O queijo Minas Artesanal é um exemplo de alimento produzido a partir de culturas iniciadoras endógenas, incluindo BAL. A principal matéria prima da produção é o leite cru e este alimento possui microbiota rica, além das influências ambientais das queijarias locais, que permitem ao produto passar pelo processo de fermentação e acidificação decorrentes ao longo do processo de maturação. A atividade metabólica destas bactérias e demais microrganismos desprendem características únicas de sabor e textura (Silva *et al.*, 2019).

Com o objetivo de privilegiar as características únicas e os benefícios que o gênero *Lactobacillus* oferta, Zheng *et al.* (2020) se valeram dos avanços tecnológicos e suas ferramentas genômicas para melhor classificar as mais de 260 espécies até então incluídas no gênero. Para que fossem divididos conforme a relação de suas características fisiológica e metabólicas, o sequenciamento do DNA das espécies foi realizado e o gênero *Lactobacillus* seguiu existindo, mas a reclassificação das espécies originou 25 gêneros, sendo que 23 destes novos, estando os mais utilizados pela indústria indicados na Tabela 3 (Zheng *et al.*, 2020).

Além de se incumbirem das características sensoriais, as BAL são responsáveis pela segurança microbiológica do queijo, pois ao longo da maturação deste alimento produzem diversas substâncias, dentre elas, antimicrobianos de ação antagônica aos microrganismos patogênicos, como as bacteriocinas. Além disso o ácido láctico produzido pelas BAL tem como uma das suas principais funções durante a fermentação, atividade antimicrobiana e a conservação dos alimentos, paralela à atribuição de aceleração do processo de coagulação do leite e participação no desenvolvimento das características sensoriais do queijo, como o sabor, aroma e textura (Antônio; Borelli, 2021; Hosken *et al.*, 2023; Rafael, 2017).

Bacteriocinas são proteínas ou peptídeos sintetizados ribossomicamente por bactérias Gram-positivas e negativas, com reconhecida atividade antimicrobiana (bacteriostática, bactericida ou bacteriolítica) contra microrganismos taxonomicamente relacionados ou não

relacionados. Eles podem ser de amplo espectro, inibindo uma ampla variedade de bactérias, ou de espectro estreito, inibindo bactérias taxonomicamente próximas. Em geral, são catiônicos e apresentam propriedades anfipáticas, sendo a membrana celular, na maioria dos casos, o alvo de sua atividade (Cotter *et al.*, 2013; Garcia-Gutierrez *et al.*, 2019; Orgaki; Furlaneto; Maia, 2015).

Tabela 3 - Nova nomenclatura para o gênero *Lactobacillus*.

Nomenclatura antiga	Nomenclatura nova
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Sem alteração
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Lacticaseibacillus casei</i>
<i>Lactobacillus coryniformis</i>	<i>Loigolactobacillus coryniformis</i>
<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>
<i>Lactobacillus gasseri</i>	Sem alteração
<i>Lactobacillus helveticus</i>	Sem alteração
<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Limosilactobacillus reuteri</i>
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>

Fonte: Zheng *et al.* (2020).

2.13 Maturação

A maturação é um processo que ocorre com duração variável entre os diferentes tipos de queijos e ao seu decorrer, são consolidadas ocorrências físicas, bioquímicas e microbiológicas. Esse fenômeno impacta em mudanças da composição química dos queijos, o que permite o consumo seguro do alimento, uma vez que ocorre a redução do pH, a concentração de cloretos e prevalência de atividade enzimática das bactérias ácido-láticas, exercendo antagonismo à possíveis patógenos contaminantes (Oliveira, 2014; Santos, 2022).

Tais transformações tem a influência das enzimas dos microrganismos presentes no leite cru e no pingo e das enzimas do coalho residual atuando diretamente sobre a massa do queijo, proporcionando aroma, textura e sabor característicos, dentre os possíveis microrganismos presentes no pingo, estão *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremoris* e estirpes de *Enterococcus* spp., além de outras (Sobral *et al.*, 2013).

Para a produção QMA, o leite não pode ser padronizado, como ocorre na indústria, então por se tratar de uma matéria prima com variações significativas ao longo dos dias e mudanças das estações e temperaturas, fica a cargo apenas do queijeiro fabricante, adequar o processo de fabricação e maturação do queijo em busca de minimizar defeitos, à exemplo, a ocorrência de maior adição do pingo para a produção de queijos no inverno, buscando compensar a menor temperatura ambiente de coagulação e obter maior acidez titulável, além de aumentar desta forma a quantidade de bactérias endógenas, o que poderia vir a favorecer a fermentação (Sobral *et al.*, 2017).

No entanto, tal falta de padronização da matéria prima e da fabricação pode levar a defeitos do produto, dentre eles, na busca de mascarar sabores ácidos, rançosos ou amargos pode ocorrer uma maior adição de sal aos produtos, ou elevar esses teores de sal no inverno, já que nessa época o teor de gordura do leite aumenta, lentificando o dessoramento dos queijos, usando desse recurso para minimizar perdas de produção em razão do maior tempo de maturação demandado, mesmo que haja assim o risco de inibição da microbiota indígena, responsável pelo sabor característico (Sobral *et al.*, 2017). Para minimizar essas influências é recomendado que o processo de maturação seja realizado em uma sala exclusiva para este fim, com controle de temperatura e umidade disponíveis, constando de espaço suficiente para a alocação das peças de queijo (Monteiro; Matta, 2018).

A oscilação na dosagem adicionada de pingo, pode gerar variações de pH em queijos artesanais, em função da atividade do pingo (fermento natural) adicionado. O pH pode também sofrer influências da umidade do queijo e do processo de proteólise ocorrido na maturação das peças (Machado; Pereira Júnior, 2004). Na maturação, o teor de umidade e o teor de sal exercem também influencia na Atividade de água (A_w) dos queijos. As proteínas que compõem a matéria prima, o leite cru, podem ter frações de alguns aminoácidos sendo liberados enquanto ocorre a proteólise, isso acontece por se tratar de moléculas com cadeias laterais contendo grupos polares ou ionizáveis que se dissociam na água ao longo do tempo de maturação, reduzindo assim a A_w dos queijos. Os microrganismos proteolíticos são os responsáveis pela quebra de proteínas (Perry, 2004; Sobral *et al.*, 2013).

A A_w também pode ser reduzida pela perda da umidade, pertinente ao processo de maturação dos queijos que não são embalados, e de forma já presumida, no decorrer do tempo poderá ocorrer a evaporação da água de composição das unidades, fato que pode ser influenciado também pelo ambiente da câmara ventilada e pela temperatura ambiente. A evaporação da água também colabora com a concentração de outros constituinte do queijo, quanto mais prolongados forem os períodos de maturação, poderá ocorrer a degradação de

lipídeos, em ácidos graxos e glicerol, processo conhecido lipólise, pode diminuir o percentual de gordura no queijo durante a maturação (Beresford *et al.*, 2001; Fox *et al.*, 2004; Martins *et al.*, 2004; Santos, 2022b).

Durante a maturação, os microrganismos exercem atividade fermentativa e a função de liberar lipase, promovendo a reação de lipólise no início da maturação o que pode culminar em alta concentração de ácidos graxos, responsáveis pelo perfil dos compostos orgânicos voláteis em queijos maturados, juntamente com outros processos bioquímicos, como a glicólise e a proteólise. Normalmente tem-se a morte da cultura starter e o desenvolvimento da microbiota secundária, formada por bactérias, fungos e leveduras, tendo como produtos das reações, além dos ácidos graxos, álcoois, cetonas e ésteres (Santos, 2021).

O açúcar predominante do leite é a lactose e este, no início do processo de fabricação, onde o leite se transforma em queijo, passa por processos intensos. A lactose passa por oxidação e fermentação láctica, também ocorrida na maturação, formando o ácido láctico, sendo este processo realizado por bactérias advindas do leite cru. O ácido láctico é apresentado principalmente sob a forma de lactato e todo este processo reduz a concentração do oxigênio dissolvido no queijo. O interior do queijo, em decorrência do período do tempo, torna-se anaeróbico, sendo habitável apenas para os microrganismos que possuem essa característica (Perry, 2004).

A temperatura ambiente privilegia a fermentação láctica, contribuindo para inibição de contaminantes no queijo, sendo fundamental para que os padrões microbiológicos estabelecidos pela legislação sejam atendidos, uma vez que entre as culturas iniciadoras estão as Bactérias Ácido Lácticas mesófilas, que ao fermentar a lactose indisponibilizam o substrato para outros microrganismos e liberam metabólitos antagônicos aos patógenos contaminantes (Castro, 2015).

Bactérias contaminantes, como as do gênero *Clostridium*, em especial a espécie *C. tyrobutyricum*, se presentes ao longo da fabricação do queijo, utilizam o lactato como substrato para uma rota de fermentação butírica, onde o lactato é transformado em butirato, com a subsequente formação de CO₂ e H₂ que produzem o estufamento dos queijos durante a maturação, sendo este defeito conhecido como estufamento tardio, causando grande cavidades no interior dos queijos e até a rachadura da casca. Esse processo é totalmente indesejável e pode conferir odores e sabores ruins aos queijos, se tornando impalatáveis e a depender da intensidade, impróprios para o consumo (Perry, 2004).

2.14 Particularidades da Maturação em Tábuas de Madeira

Quando se avalia o processo de higienização de queijarias artesanais, pontos de superfície de unidades produtoras acabam por expor que os locais que apresentam maiores percentuais de amostras reprovadas são as tábuas de maturação, quando expostas a técnica de ATP-bioluminescência (87,5%), além de ser o ponto de amostragem que apresenta maiores contagens de microrganismos aeróbios mesófilos (Pereira *et al.*, 2013).

É possível observar pelo baixo número de trabalhos de caracterização publicados, que a influência das prateleiras de madeira usadas para a maturação de queijos artesanais é subestimada. O queijo passa por todo o seu tempo destinado a maturação, em contato com as superfícies das tábuas de madeira, desenvolvendo no local uma comunidade microbiana em células isoladas ou biofilme. Um biofilme é um aglomerado de microrganismos unidos em suas substâncias poliméricas extracelulares (EPS) aderidas a uma superfície sólida (Gaglio; Todaro; Settanni, 2022).

Uma possível causa para a oportunidade destes biofilmes serem desenvolvidos, é observado através de relatos, como os dos produtores de QMA das regiões da canastra e do Serro, que utilizam tábuas de madeira na maturação, mas omitem a etapa de sanitização, sendo alegado por alguns que, esta etapa influencia nas características finais do produto, o que pode ocorrer pela manipulação incorreta dos agentes sanificantes, uma vez que as principais falhas nos procedimentos de higienização envolvem erros no preparo e na dosagem das diluições das soluções detergentes e sanitizantes; inobservância do tempo de contato das soluções detergente e sanitizante com as superfícies, entre outros (Pereira *et al.*, 2013; Pinto *et al.*, 2009).

A estrutura rugosa da superfície das tábuas de madeiras é um obstáculo na minimização de contaminantes da sua superfície, sendo então considerado a possibilidade de melhores resultados, para a etapa de limpeza, em materiais plásticos ou de inox. No entanto, isso está diretamente relacionado ao processo incorreto de higienização que, normalmente, pode ser adotado pelos manipuladores. A limpeza promove apenas a retirada superficial dos resíduos orgânicos e inorgânicos, já a sanitização é a etapa subsequente capaz de eliminar microrganismos patogênicos e reduzir os deteriorantes (Pereira *et al.*, 2013; Zangerl *et al.*, 2010).

Estudos que avaliaram a microbiota bacteriana em madeiras de maturação de queijos, encontraram microrganismos além de suas superfícies, mas também em profundidade, sendo que, a de 2 mm a população já reduzia de 3-9 UFC/ cm², ou seja, a população reduz significativamente conforme aumenta a distância da superfície, havendo risco em caso de serem

microrganismos contaminantes, mas em alguns casos, o risco é determinado como baixo pelos autores, em virtude das espécies encontradas, à exemplo, *Micrococcus* tolerantes ao sal, corinebactérias e *Staphylococcus* spp. (ACTIA, 2000; Zangerl *et al.*, 2010).

Deste modo, à essa profundidade máxima, encontra-se a diversidade microbiana das tábuas de madeira, podendo ser coletadas ao se aplainar a superfície. Uma metodologia padronizada para este tipo de amostragem, ainda não existe, porém, a coleta de biofilmes na superfície é necessária e pode ocorrer por métodos destrutivos ou não destrutivos (Gaglio; Todaro; Settanni, 2022; Imhof; Schwendimann; Scettrini, 2017).

A retirada de biofilmes da superfície de madeira pode ser realizada por métodos destrutivos por meio de corte, limitado a uma área restrita, utilizando um bisturi ou cortador ou equipamentos que permitam aplainar ou retificar a superfície. O método não destrutivo tem como referência a coleta das amostras por *swab*, gaze ou pincel, em uma área pré-determinada por quadrantes feitos em material estéril, é uma intervenção que pode ser adotada como análise de rotina para controle higiênico dos utensílios e equipamentos a base de madeira na linha de produção (Gaglio; Todaro; Settanni, 2022).

Outra forma para detectar a presença dos biofilmes microbianos em madeira, é a técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Esta técnica pode ser utilizada para promover a visualização das bactérias, que são adsorvidas nas superfícies das tábuas de madeira. As bactérias se organizam em uma complexa matriz de EPS e por meio das fotografias retiradas, é possível caracterizar morfologicamente os microrganismos, sua distribuição e cobertura pela madeira da matriz polimérica que as envolve (Gaglio *et al.*, 2022).

Alimentos como o queijo, são compostos por altos teores de gordura, proteína e cloreto de sódio, proveniente do processo de fabricação e matéria prima. A desidratação ocorre de modo natural na etapa de maturação e leva estes compostos para a interface de contato entre a casca do queijo e a superfície das tábuas e isso, unido a estrutura porosa da madeira, pode gerar um ambiente favorável para uma possível presença de patógenos alimentares como *L. monocytogenes*. Assim, mesmo havendo a vantagem de retenção de umidade por tábuas de madeira, constitui-se como válido o risco higiênico que as prateleiras de maturação oferecem (Imhof; Schwendimann; Scettrini, 2017).

Quando inoculadas com o patógeno *L. monocytogenes*, a madeira pode ter diferentes comportamentos, a depender do seu tipo, sendo considerada a madeira *Pinus* uma das famílias com propriedades consideradas antimicrobianas, porém, há a possibilidade da madeira, como material poroso que é, adsorver os microrganismos após 24h de sua inoculação, dificultando a sua recuperação para contagem e determinação da população presente, em profundidades menor

ou igual a 1 mm. Porém, Campagnollo *et al.* (2022), observaram a inativação de *L. monocytogenes*, após 22 dias de maturação em temperatura ambiente e em prateleiras de madeira, atribuindo a ação à cultura lática adicionada na produção do queijo, considerando-a como microbiota endógena do leite (Campagnollo *et al.*, 2022).

Uma das possíveis influências para os diferentes comportamentos de microrganismos em madeira, talvez se justifique pela presença nas arvores, de substâncias amplamente estudadas em virtude de seu potencial terapêutico, antimicrobiano e de conservante. São substâncias naturais como os flavonoides, taninos e óleos essenciais. Dentre eles há destaque para um polifenol, o (E)-resveratrol (3,4',5-trihidroxiestilbeno), com diversas propriedades, dentre elas, antifúngica e antibacterianas. Um estilbeno, o (E)-pinosilvin (3,5-dihidroxiestilbeno-PS), relacionado ao resveratrol é encontrado no cerne e nó de arvores da família *Pinus*, possui confirmação de ação antibacteriana para as bactérias Gram positivas *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*, e Gram negativas, *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*. Segundo Plumed-Ferrer *et al.* (2013), PS age desestabilizando a membrana externa das células de *Salmonella*, assim como resveratrol, atuante na quelação da membrana externa e desestabilização de cátions bivalentes (Plumed-Ferrer *et al.*, 2013; Valimaa *et al.*, 2007).

Apesar de tradicional, o uso de tábuas de madeira para maturação gera discussão e no ano de 2014 a Food and Drug Administration (FDA) proibiu a importação pelos Estados Unidos, de queijos oriundos da Europa que passaram pela maturação em tábuas de madeira. A principal justificativa se relacionava ao risco de contaminação por patógenos, com foco principalmente em *Listeria monocytogenes*, devido a sua capacidade de formar biofilmes na interface casca-madeira. A madeira apresenta perfil poroso, que permite o desenvolvimento de comunidades microbianas, porém, tal medida foi revogada com presteza, em razão da defesa de instituições renomadas como WCMA (Wisconsin Cheesemakers Association) e pela ACS (American Cheese Society) que declarou que o uso da madeira é seguro, desde que os procedimentos adequados de limpeza e sanitização sejam aplicados (Furtado, 2022; Mariani *et al.*, 2011).

Para a tradição Europeia, é essencial a maturação de queijos em tábuas de madeira, dentre eles, os queijos franceses que possuem Denominação de Origem Protegida, como o *Roquefort*, *Beaufort*, *Munster* e os italianos, como o *Grana Padano* e *Parmigiano*. A madeira para esses produtos, desempenha dois papéis principais: estimular a diversidade microbiana da superfície do queijo, através da formação de biofilmes e favorecer a troca hídrica entre a casca do queijo, a madeira e o ambiente, permitindo haver um equilíbrio da umidade entre esses três

fatores. As colônias que entre eles se formam, depende do queijo e de sua microbiota comensal, da frequência e modo de limpeza das tábuas (Furtado, 2022; Zangerl *et al.*, 2010).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Seleção das instalações de fabricação de queijo

Foram escolhidas 2 unidades produtoras de queijo minas artesanal, cadastradas junto ao IMA com registro do selo arte da região do Campo das Vertentes do Estado de Minas Gerais, nas cidades de Coronel Xavier Chaves (21°02'28.6"S 44°11'39.6"W), identificada neste trabalho como “Produtor M” e uma em São João Del Rey (21°05'08.5"S 44°14'26.7"W), identificada no estudo como “Produtor G”.

3.2 Coleta das amostras

As queijarias selecionadas foram submetidas à amostragem em quatro diferentes pontos, sendo eles: 1.1 Queijo no primeiro dia de fabricação, após a desenformagem, identificado neste trabalho como queijo fresco ou queijo do tempo zero; e 1.2 Queijo curado na própria queijaria (22 dias de maturação), identificado neste trabalho como queijo maturado ou queijo do tempo 22, ambos analisados em distinção ao centro da sua massa e a sua casca; 2. Superfície das tábuas de maturação, tanto da tábua que abrigava o queijo fresco como da tábua do queijo maturado; 3. Qualidade do ar do ambiente de maturação, por meio de placas de sedimentação, onde foram coletadas 3 placas amostrais do local.

O material para análise, de cada uma das 2 unidades cadastradas da região do Campo das Vertentes, foi coletado em duas datas, sendo um dia no período de chuva/verão de 2023 e outro dia no período de seca/inverno, do mesmo ano. Os procedimentos de coleta de amostras foram semelhantes em ambas as queijarias, sendo as amostras transportadas de modo asséptico, em recipiente térmico, para o Laboratório de Microbiologia dos Alimentos, no Departamento de Ciência dos Alimentos, da Universidade Federal de Lavras.

Amostras das unidades de queijo, foram coletadas em condições assépticas e transferidas para sacos estéreis. As amostras de superfícies da madeira de maturação foram coletadas por método não destrutivo conforme descrito por Didienne *et al.* (2012), com adaptações, onde uma área demarcada de cerca de 10 cm × 10 cm, foi umedecida com gaze estéril, depois esfregado com auxílio de pinça estéril, e a gaze foi transferida para frascos estéreis. O mesmo se repetiu utilizando swabs estéreis, sendo estes também transferidos para frascos estéreis, contendo 50 ml de água peptonada. As amostras foram mantidas em recipiente isotérmico, com gelo, para o transporte (Didienne *et al.*, 2012).

Para a avaliação da qualidade do ar do ambiente de maturação, placas de Petri contendo Ágar Padrão para Contagem (PCA) e ágar Dicloran Rosa de Bengala Clorafenicol (DRBC), foram expostas nos dias de coleta, em três diferentes pontos do local de maturação de cada uma das queijarias por um período de 30 minutos, conforme adaptações, ao descrito pelo método de sedimentação em placas, de acordo com as técnicas apresentadas no Standard Methods for the Examination of Dairy Products (APHA, 2004), sendo vedadas posteriormente e colocadas em recipiente isotérmico, com gelo, para o transporte. As contagens microbianas no ar dos ambientes foram determinadas pela fórmula conforme descrito em Andrade (2008), usando como medida UFC/ cm²/ semana.

$$\text{Partículas viáveis. cm}^2.\text{semana}^{-1} = \frac{\text{UFC.10080}}{(\pi. r^2).t}$$

3.3 Determinação do teor de umidade das tábuas de maturação de madeira

O teor de umidade das tábuas foi determinado pelo método do medidor portátil de umidade, na região onde, posteriormente, seria retirada as amostras por esfregação superficial de gaze e *swab*, nas tábuas de madeira, em três diferentes pontos, por leitura direta em superfície, após calibração. Os dados foram registrados para futura correlação. Foi utilizado um medidor automático de umidade, de 0-99%, da TCS Projetos Eletrônicos, modelo 75, com sensores de leitura de profundidade de até 50 mm, regulado para leitura do potenciômetro, conforme a classificação dos grupos de madeira, de acordo com as especificações do manual do fabricante do equipamento.

3.4 Determinação do teor de umidade relativa do ar

No dia de cada coleta, o registro da temperatura e da umidade relativa do ar, do ambiente de maturação, foi realizado em três momentos, para obtenção de uma média de leituras, num período de 30 minutos, enquanto as coletas de amostras eram realizadas no interior da sala de maturação dos queijos. Para esta ação foi utilizado um medidor digital Termo-Higrômetro, Marca Incoterm®, modelo TH50.

3.5 Preparo de soluções para análise

O preparo das suspensões para análise microbiológica do queijo maturado, foi realizado conforme descrito por Pereira (2022). 25 g de QMA foram adicionados em 225 ml de solução de citrato de sódio (2% m/v), estéril, sendo homogeneizados em aparelho Stomacher Metroterm® (490 golpes/ min.) por 5 minutos. Em seguida foram realizadas diluições seriadas em água peptonada (0,1% m/v).

A avaliação da presença de biofilmes e células microbianas na superfície das prateleiras de madeira, foi realizado por diluição em série, aplicando um fator de diluição de 1:10 da solução de água peptonada, dos tubos usados inicialmente para o armazenamento das amostras, sendo homogeneizadas em aparelho tipo Vórtex, por tempo padrão de 5 minutos. Em seguida foram realizadas diluições seriadas em água peptonada (0,1% m/v).

Todas as suspensões de células foram submetidas à técnica de contagem de placas, após incubação apropriada, para enumerar os microrganismos mesófilos totais, BAL, e os principais microrganismos patogênicos e deteriorantes indesejados citados na metodologia a seguir (Settanni *et al.*, 2021).

3.6 Isolamento e caracterização morfológica das bactérias lácticas

As suspensões diluídas foram semeadas em alíquotas de 1000 µl em placas de Petri estéreis, recebendo em seguida uma alíquota de cerca de 15 ml do ágar Man, Rogosa e Sharpe (MRS) um meio seletivo para enumeração e isolamento de lactobacilos, em plaqueamento por profundidade. As placas foram incubadas a 30 °C, por 48 horas, em anaerobiose (Anaerobac, Probac do Brasil®) (Silva *et al.*, 2010).

Após a incubação, as colônias foram devidamente caracterizadas e avaliadas seguindo o protocolo descrito por Silva *et al.* (2010), com adaptações, onde houve a contagem padrão das placas que continham entre 30-300 UFC e todos os morfotipos passíveis de identificação, foram caracterizados macroscopicamente. Entre as diferentes colônias caracterizadas, um número correspondente à raiz quadrada de cada morfotipo de colônias, foram coletados e transferido para ágar MRS, incubados a 30°C por 48h e estocados em geladeira para posterior identificação (Silva *et al.*, 2010). As colônias das diluições escolhidas foram caracterizadas conforme a morfologia, textura, cor, brilho, tamanho e formato das colônias, e agrupada conforme semelhança dos morfotipos, para posteriormente serem purificadas e identificadas

por Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation - Time Of Flight Mass Spectrometry Maldi-tof Microflex LT (MALDI- TOF MS) (Bruker Daltonics®, Bremen, Alemanha).

3.7 Aeróbios mesófilos

Para a análise de microrganismos aeróbios mesófilos, alíquotas de diluições da suspensão das tábuas de madeira e do queijo, foram plaqueadas em superfície, em meio de cultura PCA e foram incubadas a 37°C por 48 horas. Esses isolados foram posteriormente identificados por MALDI-TOF MS.

3.8 *Salmonella* spp.

A pesquisa de *Salmonella* spp. em 25 g da amostra foi realizada com pré-enriquecimento, em 225 ml de água peptonada tamponada e homogeneizados em homogeneizador tipo Stomacher Metroterm® (490 golpes/ min) por 5 minutos e com incubação a 37°C, por 24h, seguida de enriquecimento seletivo, em caldo Tetratonato e incubado a 45°C, por 24h, além do caldo Rapaport & Vassilidis e incubados a 37°C por 24h. As suspensões da tábua de maturação também foram plaqueadas conforme descrito anteriormente e incubadas a 37°C por 24-48h O plaqueamento dos meios seletivos de *Salmonella* spp. foram realizados com estrias de esgotamento, em meio ágar entérico de Hektoen, incubados a 37°C, por 24h. Para os casos em que houvesse colônias suspeitas, elas seriam semeadas em tubos contendo ágar ferro tríplice e açúcar (TSI) e ágar lisina ferro (LIA) e incubadas a 37°C, por 24h. Colônias suspeitas seriam transferidas para o meio TSA (Ágar de Triptona de Soja) e incubadas a 37°C por 18h e identificadas no MALDI-TOF MS (Silva *et al.*, 2010).

3.9 Coliformes a 35°C e 45°C

Alíquotas de diluições da suspensão das tábuas de madeira e dos queijos, foram submetidas a análises que seguiram a metodologia descrita por Silva *et al.* (2010), conforme o método da American Public Health Association (APHA) do Número Mais Provável, para contagem de coliformes totais e termotolerantes. Em primeira etapa, no teste presuntivo, foi realizada a inoculação de três alíquotas de 1 ml das diluições adequadas das amostras, em uma série de três tubos contendo tubos de Durhan invertido e meio de cultura caldo Lauril Sulfato triptose (LST). Os tubos que apresentaram crescimento com produção de gás a partir da lactose

presente no meio, após incubados em estufa a 35°C por 48 h, foram considerados suspeitos (presuntivo) para presença de coliformes. Para confirmação dos coliformes, uma alçada foi transferida para o caldo Verde Brilhante (VB) e foram considerados tubos positivos para coliformes totais aqueles que apresentaram turvação e formação de gás, após o período de incubação a 35°C por 24-48h.

Os coliformes termotolerantes foram quantificados usando-se também, a técnica do NMP. As alíquotas foram transferidas dos tubos positivos do teste presuntivo de coliformes totais, com auxílio de uma alça estéril de repicagem, para tubos contendo o meio de cultura caldo *Escherichia coli* (EC), adicionados de tubos de Durhan invertidos. Os tubos foram incubados a 45°C, por 24-48h e foram considerados positivos aqueles que apresentarem turvação e formação de gás (Silva *et al.*, 2010).

3.10 *Staphylococcus coagulase positivo*

Alíquotas de 0,1 ml das diluições adequadas das amostras de queijo maturado e da suspensões das tábuas de maturação, foram transferidas para o ágar Baird Parker e incubadas a 37°C por 48h. Colônias típicas e atípicas foram quantificadas, e quando presente, cerca de 5 colônias típicas foram transferidas para o caldo infusão cérebro coração (BHI) e incubadas a 37°C por 24h. Após esse período, alíquotas de 0,3 ml de cada cultura foram transferidas para tubos de ensaio contendo 0,5 ml de plasma de coelho-EDTA e incubados a 37°C por 12h. De acordo com a formação de coágulo os isolados foram classificados com 1+; 2+; 3+ e 4+. Apenas os isolados 3+ e 4+ foram considerados estafilococos coagulase positiva. Esses isolados foram identificados por MALDI-TOF MS (Silva *et al.*, 2010).

3.11 *Listeria monocytogenes*

Foram retirados 25 g de queijo, adicionados em 225 ml de caldo de enriquecimento Universidade de Vermont (UVM) e homogeneizados em homogeneizador tipo Stomacher Metroterm® (490 golpes/ min) por 5 minutos. Após homogeneização, houve incubação por 4h, adição de agentes seletivos e continuação da incubação a 37°C por 24h. O plaqueamento do meio seletivos foi realizado com estrias de esgotamento, em placas contendo ágar Oxford, incubadas a 37°C por 24-48h. As suspensões da tábua de maturação também foram plaqueadas conforme descrito anteriormente e incubadas a 37°C por 24-48h. Após esse período, em ocorrência de colônias típicas, estas seriam identificadas no MALDI-TOF MS.

3.12 Fungos e leveduras

A análise de fungos filamentosos e leveduras foi realizada a partir das suspensões feitas do queijo e da superfície das tábuas de maturação, por espalhamento de 0,1 ml das diluições em ágar Dicloran Rosa de Bengala Clorafenicol (DRBC), por plaqueamento em superfície e incubadas a 28°C por cinco dias (Silva *et al.*, 2010).

3.13 Identificação das bactérias por MALDI-TOF MS

Os isolados bacterianos, coletados após as análises microbiológicas dos pontos amostrais: tábuas de maturação, queijos frescos e maturados e das placas de sedimentação do ambiente de maturação, foram submetidos a identificação pela análise do perfil proteico, seguindo o protocolo de extração padrão, com adaptações (Carvalho *et al.*, 2017).

Para a análise, aproximadamente uma alçada de cultura bacteriana foi ressuspensa em 0,3 ml de água deionizada ou Miliq, homogeneizada em aparelho tipo Vortex por 30 segundos, após foi adicionada uma solução de etanol 95%, homogeneizada em aparelho tipo Vortex por 30 segundos, centrifugada por 2 minutos a 13.000 RPM, seguido pelo descarte do sobrenadante do eppendorf, com retirada do seu excesso de umidade com papel, seguido pela adição de 50 µl de ácido fórmico 70% ao pellet formado, homogeneização em aparelho tipo Vortex por 30 segundos e adição de 50 µl de acetronitrila, homogeneização em aparelho tipo Vortex por 30 segundos, encerrando com centrifugação do eppendorf por 2 minutos a 13.000 RPM.

No momento da análise, uma segunda centrifugação foi realizada e logo após, 0,1 µl dos precipitados obtidos contendo as células lisadas, foram depositados em placa de 96 poços e secas em temperatura ambiente para análise por espectrometria de massa de tempo de voo de Dessorção/Ionização a laser Assistida por Matrix, Maldi-tof Microflex LT (Bruker Daltonics®, Bremen, Alemanha) e análise dos dados no software Flex Control (Versão 3.0).

Os isolados foram analisados em triplicata e a metodologia de calibração do equipamento e método de análise de dados foram realizados conforme descrito por (Carvalho *et al.*, 2017). A identificação dos resultados foi expressada por BioTyper™ log (scores), indicando a similaridade da cepa desconhecida com o perfil disponível em bancos de dados do MALDI-TOF MS. Para a interpretação dos resultados, os pontos de corte recomendados pelo fabricante foram utilizados para determinar identificação segura ao nível de gênero e espécie (≥ 2.000), identificação provável ao nível de gênero (1.700 a 1.999).

3.14 Análises físico-químicas dos queijos

O preparo das amostras foi realizado segundo Brasil (2006a). Todas as análises físico-químicas foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em g.100g⁻¹ (Brasil, 2006a).

3.14.1 Umidade

Para a determinação do teor de umidade (g.100g⁻¹), alíquotas de 5 g de queijos foram dessecadas em estufa (102°C ±2°C) procedendo-se por pesagens até peso constante (Brasil, 2006).

3.14.2 Gordura

Os teores de gordura foram determinados pelo método butirométrico de Gerber (Brasil, 2006 b). O teor de gordura no extrato seco foi determinado de modo indireto, pela razão entre o teor de gordura e o teor de extrato seco total do queijo, e o resultado multiplicado por 100 (Pereira *et al.*, 2001).

$$\text{Gordura no extrato seco} = \frac{\% \text{ Gord}}{\% \text{ Ext.Seco}} * 100$$

3.14.3 Frações nitrogenadas e índices de proteólise

Os teores percentuais (m/m) de Nitrogênio total, Nitrogênio solúvel em pH 4,6 (NSpH4,6) e Nitrogênio solúvel em TCA a 12% (NSTCA 12%) (m/v) foram quantificados pelo método de Kjeldahl, compreendendo as etapas de digestão, destilação e titulação com solução padrão de ácido clorídrico 0,1 mol. L⁻¹ (Brasil, 2006). Para o cálculo do teor de proteína total do queijo, foi empregado o fator 6,38 para o queijo (Pereira *et al.*, 2001).

A extensão de proteólise foi quantificada pela razão entre %NSpH4,6 e %NT, e o resultado obtido multiplicado por 100; enquanto a profundidade de proteólise será quantificada pela razão entre %NSTCA12% e %NT, e o resultado obtido multiplicado por 100 (Wolfschoon-Pombo; Lima, 1989).

$$\text{Índice de extensão de proteólise} = \frac{\%NSpH\ 4,6}{\%NT} * 100$$

$$\text{Índice de profundidade de proteólise} = \frac{\%NTCA\ (12\%)}{\%NT} * 100$$

3.14.4 pH

O pH foi determinado em pHmetro, modelo portátil, DM20-Digimed, São Paulo, SP, Brasil, com inserção direta do eletrodo em uma solução obtida pela homogeneização de alíquotas de 10 g de queijo em 20 ml de água destilada. Todas as medidas foram realizadas em triplicata (IAL, 2008).

3.14.5 Atividade de água (Aw)

A determinação da atividade de água foi realizada utilizando-se medidor digital Aqualab 4TE (Decagon Devices, Inc., Washington, USA), com leitura direta e com exatidão de $\pm 0,003$ Aw, das amostras coletadas em toda extensão das unidades analíticas dos queijos (IAL, 2008).

3.14.6 Teor de resíduo mineral fixo (cinzas)

Teor de resíduo mineral fixo dos queijos ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) foi obtido por incineração de alíquotas de 5 g de queijo em forno tipo mufla a 500°C , procedendo-se às pesagens e cálculos, segundo métodos da Association of Official Analytical Chemists (2005).

3.14.7 Teor de cloretos e sal na umidade

O percentual de cloreto de sódio foi realizado pelo doseamento nas cinzas, seguido pela titulação da reação do nitrato de prata com os cloretos em presença de cromato de potássio, até viragem característica (Pereira *et al.*, 2001).

$$\text{Teor de sal na umidade} = \frac{\% \text{ sal}}{\% \text{ sal} + \% \text{ umidade}} * 100$$

3.15 Análises estatísticas

O delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial foi utilizado dos quais os fatores eram: 2 estações do ano (verão e inverno) x 2 produtores de QMA registrados junto ao IMA (G: Guatambu/ São João del Rey e M: Muiracatiara/ Coronel Xavier Chaves) x 2 tempos de coleta do material (0 e 22 dias), para avaliar as análises microbiológicas e físico-químicas. Os resultados foram expressos em média $\pm$ desvio padrão, o qual foi aplicada análise de variância (ANOVA) para os parâmetros, seguido de T-Student ($p < 0.05$). Os métodos estatísticos multivariados, análise de componentes principais (PCA) e análise de agrupamento hierárquico (HCA) foram aplicados para comparar os resultados obtidos e para avaliar a influência do ambiente sob a maturação dos queijos minas artesanais. Todas as análises estatísticas foram realizadas no software R (4.0.2, pacotes FactoMineR e factoextra).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Determinação da umidade das tábuas de maturação e da Umidade Relativa do ar

Tabela 4 - Valores médios de temperatura do ambiente de maturação, umidade relativa do ar e das tábuas¹ de maturação avaliadas nos dias das coletas.

Médias das variáveis das salas de maturação					
	Tipo de madeira	Origem	Umidade Tábuas (%)	Umidade Relativa do Ar (%)	Temperatura (°C)
1 ^a coleta Verão	Guatambu	T0 Produtor G	59,8	79	20,5
		T22 Produtor G	26,7		
	Muiracatiara	T0 Produtor M	59,7	74	23,1
		T22 Produtor M	36,2		
2 ^a coleta Inverno	Guatambu	T0 Produtor G	47	78	21,7
		T22 Produtor G	26,8		
	Muiracatiara	T0 Produtor M	73,4	75	23,5
		T22 Produtor M	22,4		

¹ T0= Tábua do queijo fresco; T22= Tábua do queijo maturado de 22 dias.

Fonte: Da autora (2024).

As tábuas de madeira utilizadas pelos produtores foram identificadas e avaliadas segundo o relato feito por cada responsável da propriedade. Na propriedade de Coronel Xavier Chaves a tábua de madeira foi identificada como Muiracatiara e na propriedade de São João del Rey, como Guatambu. As informações da avaliação do ambiente de maturação e das tábuas, constam na Tabela 4.

Para a maturação dos queijos, não há estabelecido um tipo padrão ou comum de tábuas de madeira para essa finalidade, havendo diversidade até mesmo entre os dois produtores de uma mesma região produtora de QMA. Guatambu é a madeira da espécie *Balfourodendron riedelianum*, *Rutaceae* popularmente denominada como guatambu, guatambu blanco ou pau-marfim. Possui caracterização de 15% de umidade, além de odor e sabor imperceptíveis (IPT, 2024a).

Muiracatiara pertence a espécie *Astronium lecointei* Ducke, *Anacardiaceae*. Conhecida como aderno-preto, aroeira, aroeirão, baracatiara, gonçaleiro, gonçalo-alves, maracatiara, maracatiara-branca, maracatiara-vermelha, muiracatiara-rajada, muiracatiara, muiraquatiara, sanguessugueira. Possui caracterização de 15% de umidade e odor e sabor imperceptíveis (IPT, 2024b).

As madeiras Guatambu e Muiracatiara são consideradas madeiras nobres e as espécies de madeiras nobres e macias, são tradicionalmente utilizadas como meio tecnológico,

responsável por colaborar como desenvolvimento sensorial adequado ao produto ao qual se destina, sendo empregado madeiras como o carvalho, a cerejeira e o abeto, na produção de vinho, vinagres e na maturação de queijos. As trocas higroscópicas e microbiológicas, são essenciais nesse processo. Tanto que na França, mais de 20 espécies de madeira são permitidas na produção e contato direto com alimentos (IPT, 2024a, 2024b; Ismail *et al.*, 2017; Montibus, 2016).

O tradicionalismo da produção dos queijos artesanais eleva o produto a um nicho de produtos tradicionais com típico aroma em razão do *terroir*, em virtude das técnicas transmitidas de geração para geração, pelas espécies e estirpes microbianas colonizadoras ambientais e pela colaboração evidente dos equipamentos e materiais, como a madeira que colaboram na formação de biofilmes microbianos e contribuem na distinção e no caráter típico do produto (Didienne *et al.*, 2012).

Assim como o queijo que as prateleiras comportam, a madeira é um produto da natureza em contínuo desenvolvimento, ela jamais fornece medidas ou valores fixos e constantes, portanto como são escassos os dados na literatura sobre as variáveis físicas do material em relação à alimentos, usaremos as informações como base de correlação, uma vez que cada espécie conta por si só com grande variabilidade da estrutura interna do lenho e com características próprias. No entanto, quando a tábua alcança seu estado de equilíbrio entre a sua umidade e a umidade relativa do ambiente, toma-se como média a umidade de equilíbrio higroscópico e essa será a considerada ao longo de seu uso, ou seja, é a umidade natural da tábua quando, está apta para ter iniciada a sua utilização em produtos ou estruturas (Moreschi, 2012).

Para ambas as madeiras desse estudo a umidade de equilíbrio higroscópico foi de 15%. O controle do teor de umidade da madeira é indispensável para evitar o ataque de fungos e uma forma eficiente de controle, é optar por madeiras que tenham como teor de umidade de uso, valores abaixo de 20% (Moreschi, 2012). Tomada a hipótese de que a diferença do valor de umidade de uso da tábua, pela umidade aferida da tábua que contendo os queijos, seja parte da umidade absorvida do queijo, sob a influencia da UR, temos então no verão, por diferença simples, equilíbrio entre umidades aferidas das tábuas e umidade de equilíbrio higroscópico, sendo o resultado dessa diferença atribuída a umidade natural do queijo que foi determinada por análise físico-química.

Buscando avaliar a eficiência do processo de maturação de queijos tradicionais em tabuas de madeira, no controle de *Listeria monocytogenes*, Ismail *et al.* (2017) inocularam as tábuas com *L. monocytogenes*. Como controle determinou o nível de umidade das tábuas e

monitorou com higrômetro, controlado em cerca de $10,9 \pm 3,3\%$ na tabua seca, até $89,6 \pm 17,2\%$ após receberem o queijo fresco, analisando por 20 dias. Apesar da umidade inicial na tábua com queijo fresco, a umidade da tábua atingiu equilíbrio e a transferência de microrganismo também estacionou em 15 minutos e não houve diferença significativa nas taxas de transferência das tábuas para as cascas dos queijos tanto os frescos, como os maturados. A adesão dos microrganismos à tábua foi o fator diferencial, livrando a superfície receptora do patógeno.

De modo destoante, para os valores aferidos neste trabalho, mas ainda dentro do verificado por Ismail *et al.* (2017), no inverno, o produtor M apresenta na tabua de tempo zero, elevada média de umidade (73,4%). No entanto, essa medida pode ser atribuída a adaptação no processo produtivo dos queijos no inverno, onde, como meio de compensação da umidade do ar relativamente reduzida, se produz um queijo com tamanho dos grãos aumentado e com maior teor de umidade, bem como pode ter sido reduzida a pressão manual na enformagem dos queijos, fazendo que mais umidade fosse desprendida sobre a tábua (Castro, 2019; Costa Júnior *et al.*, 2014).

Outra forma natural de minimizar possível contaminação é a persistência de algumas BAL, como *Enterococcus faecalis* que foram identificados em materiais de madeira, usados na preparação de queijos tradicionais italianos como *Caciocavallo Palermitano*, elaborados a partir de leite cru. Tais bactérias tem capacidade de formar biofilmes na superfície da cuba de madeira, colaborando de modo efetivo no desenvolvimento do aroma, em razão de características bioquímicas próprias, envolvendo citrato na produção de compostos voláteis aromáticos e na aceleração do processo de maturação (Grigoli *et al.*, 2015).

A umidade relativa do ar ideal para o ambiente de maturação, segundo Sobral *et al.* (2017) é de 85%. Contudo, ambos os ambientes de maturação das instalações não eram climatizados e os queijos maturados em temperatura ambiente. Portanto, nenhum dos ambientes de maturação, independente da estação do ano obtiveram essas médias, o que leva a possibilidade de os queijos estarem susceptíveis à trincas em sua casca, por perderem excessivamente umidade para o meio. Porém há na literatura estudos que afirmam que temperatura de 20 ± 2 °C e umidade relativa de $77,5 \pm 7,5\%$ contemplam o que é necessário para uma maturação adequada, favorecendo o crescimento das BAL dos queijos artesanais de casca lisa (Marcondes, 2020; Spinnler, 2017).

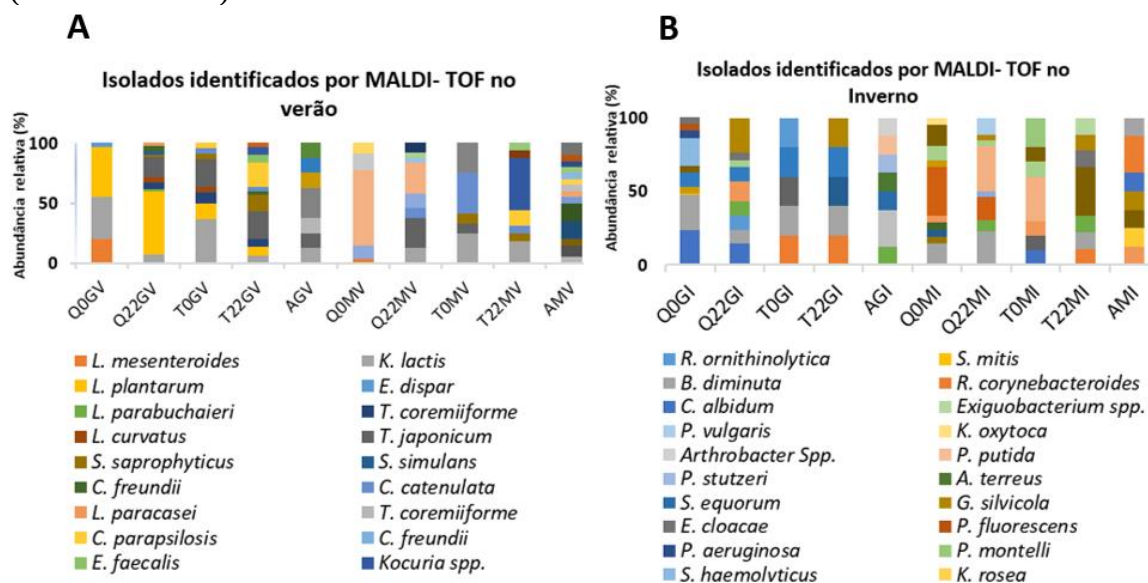
Quando em excesso a umidade relativa do ar influencia na microbiota, onde favorece a manutenção e a dispersão dos microrganismos nos aerossóis, em virtude da maior umidade. Dentre os microrganismos favorecidos, encontram alguns isolados identificados em nossas

amostras ao longo deste estudo, como *Micrococcus* spp., bastonetes Gram-negativos, *Bacillus* spp., *Corynebacterium* spp., coliformes e outros (Salustiano, 2002).

4.2 Identificação das bactérias por MALDI-TOF MS

Neste estudo completo, após plaqueamento, foram obtidos 373 isolados identificados, havendo sido inicialmente agrupados em virtude de suas semelhanças morfológicas, a partir daí sendo selecionados e submetidos a identificação proteômica que culminou na identificação de 61 espécies de microrganismos diversos. Destes isolados, para o produtor G, entre as coletas do período de chuva e seca, foram identificados 114 isolados para os queijos, 63 isolados para as tábuas de maturação e 15 isolados para o ambiente de maturação. Nestes mesmos períodos, para o produtor M, foram identificados 114 isolados para os queijos, 42 isolados para as tábuas de maturação e 25 isolados para o ambiente de maturação, conforme o discriminado na Figura 5 (Apêndices F e G).

Figura 5 - Isolados identificados por MALDI-TOF, em cada ponto amostral* e tempo de análise (verão e inverno).



*Siglas da legenda- Q:queijo; T: tábua de maturação; G:produtor G; M: produtor M; 0: referente ao queijo fresco; 22: referente ao queijo maturado; A: ambiente de maturação; V: verão ou período chuvoso; I: inverno ou período seco.

Fonte: Da autora (2024).

A análise do MALDI- TOF gerou a identificação da diversidade de 5 gêneros de BAL, 5 gêneros de fungos filamentosos e leveduras e o restante de microrganismos que podem ser classificados como aeróbios mesófilos.

Dos pontos amostrais do produtor G para as Bactérias Ácido Láticas, identificamos três gêneros, sendo as espécies *Lactiplantibacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactocaseibacillus paracasei*, *Enterococcus díspar* e *Lactobacillus parabuchaieri*.

Lactiplantibacillus plantarum foi a BAL predominante neste estudo, em 21 de 28 pontos amostrais das análises, nas tábuas de maturação, no queijo fresco e no queijo maturado. Também representou a maioria de isolados identificados (67%), nos pontos amostrais do produtor G, seguido por *Leuconostoc mesenteroides* (20%) incluindo casca e centro dos queijos. De modo a detalhar os identificados no período do verão, além das bactérias citadas, *Lactobacillus curvatus* também foi identificado no queijo maturado, em sua casca, e na tábua de maturação do queijo fresco. A presença de bactérias em comum aos queijos e as tábuas sobre a qual maturam deve-se a transferência direta no decorrer do tempo de contato, ao longo da maturação (Montibus *et al.*, 2016).

Enterococcus díspar foi identificado a partir de um único isolado da casca do queijo fresco. *Lactobacillus parabuchaieri* também se tratou um único isolado, pertencente a amostra

de casca do queijo maturado, havendo nas amostras destes queijos maturados, a presença de *Lactocaseibacillus paracasei* em sua casca.

Enterococcus díspar é um microrganismo pertencente a um grupo de bactérias heterogêneas, encontradas em alimentos, sendo no Brasil mais presente em queijos, por fazerem parte de sua microbiota natural (Porto *et al.*, 2016). No entanto, essa espécie é encontrada neste produto em menor frequência que o *Enterococcus faecalis*, identificado na tábua do queijo maturado (Scheidegger, 2009). A presença de bactérias do gênero enterococos gera dupla expectativa, pois atuam como bioconservantes, ao produzirem bacteriocinas ativas contra patógenos e favorecendo as características sensoriais do queijo. Mas são portadores de genes de fatores de virulência como atividade hemolítica e resistência a antibiótico, o que pode gerar preocupação (Luiz *et al.*, 2016; Porto *et al.*, 2016)

Além de BAL, como microrganismos contaminantes, foi evidenciada a presença de isolados de *Citrobacter freundii* nas amostras de casca e centro do queijo maturado, *S. saprophyticus* nas tábuas de maturação de ambos os tempos, e na tábua do queijo maturado, *Kocuria* spp. e *Pantoea agglomerans*. As *Citrobacter* spp., *Pantoea* spp., *Klebsiella* spp., *Morganella* spp., *Proteus* spp., entre outras, são membros da família *Enterobacteriaceae*, relevantes em alimentos e são comuns em quase todo o meio ambiente, como no solo e na água. Muitas das espécies são patogênicas para plantas e animais, ocasionando perdas econômicas para o mercado do setor, já *Klebsiella* e *Citrobacter freundii* são responsáveis por causar mastite bovina (Silva *et al.*, 2010).

Dentre os fungos filamentosos e leveduras isolados, das amostras do queijo fresco, *Kluyveromices lactis* foi a única levedura confirmada e visualmente predominante no método de cultivo por meio seletivo DRBC. Já para as amostras do queijo maturado, além desta espécie, na casca foi encontrado *Trichosporon coremiiforme* e *Trichosporon japonicum* no centro do queijo. Todas essas espécies até agora citadas, acrescidas de *Candida parapsilosis* e *Candida catenulata* foram identificadas nas tábuas de maturação do queijo T0 e T22 para ambos os produtores.

Os microrganismos encontrados nos queijos e nas tábuas são reflexo da ecologia microbiana do ambiente de maturação. Ou seja, apresentaram qualitativamente em sua diversidade os microrganismos mesófilos *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Rhodococcus Rhodochrous*, *Microbacterium paraoxydans* e as leveduras *Trichosporon coremiiforme*, *Trichosporon japonicum* e *Kluyveromices lactis*.

No período de seca, para as amostras do mesmo produtor (G), foi possível realizar a identificação de duas espécies de BAL, *Leuconostoc mesenteroides* e *Lactiplantibacillus*

plantarum, para ambos os tempos de maturação, mantendo a predominância de *L. plantarum*, entre os isolados de todas as suas das amostras. As tábuas de maturação de ambos os períodos, T0 e T22, apresentaram *L. plantarum* como identificação dos isolados de BAL predominante destas amostras.

Candida intermedia foi identificada em um terço das amostras do queijo fresco, já para os queijos maturados, entre fungos e leveduras, foram identificados *Trichosporon japonicum* em duas das três repetições das amostras e *Geotrichum silvícola* nas três. A tábua de maturação do queijo fresco exibiu uma outra espécie do gênero *Candida* spp., apresentando *Candida catenulata* e *Kluyveromices lactis*. Já a tábua dos queijos T22, continha *Candida parapsilosis*, *Geotrichum silvícola* e *Kluyveromices lactis*. Com exceções como o novo achado de *Geotrichum silvícola* e a não identificação de *T. coremiiforme*, as tábuas apresentaram padrões semelhantes de diversidade desta classe de microrganismo.

Dentre os isolados de microrganismos aeróbios mesófilos, os queijos frescos tiveram identificados em suas amostras *Klebsiela pneumoniae* e *Pseudomonas* spp. na casca e no centro do queijo; *Escherichia coli* e *Enterobacter cloacae* na casca do queijo. Os queijos com 22 dias de maturação também apresentaram *Klebsiela pneumoniae* e *Kocuria* spp. em todas as amostras; *Staphylococcus saprophyticus* nas amostras da casca do queijo; *Enterobacter cloacae* e *Staphylococcus xylosus* no centro do queijo. As tábuas de maturação de ambos os tempos, seguiram apresentando *Klebsiela pneumoniae* e a do T0 apresentou além deste microrganismos, *Raoutella ornithinolytica*.

As tábuas de madeira podem ser utilizadas para a maturação, mas é necessário manter atenção as suas condições e possível contaminação, para que não haja o risco de que elas contaminem o produto, principalmente por ser um processo que se relaciona com umidade e o queijos frescos são mais úmidos (Silva; Marques, 2022), como demonstrado nos dados das análises físico-químicas e mantiveram a maior carga microbiana em relação as tábuas do queijo maturado.

Já o ambiente da sala de maturação, do produtor G, no período de seca, através das placas de sedimentação dispostas nele, revelaram *Staphylococcus equorum*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Agrococcus terreus*, *Acinetobacter schindleri*, *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudomonas putida*, *Arthrobacter* spp. A sazonalidade pode ter influenciado na diferença da diversidade destes microrganismos em relação a coleta anterior, uma vez que as estações do ano interferem diretamente em relações climáticas, refletidas no ambiente, na qualidade do leite e em consequência, na do queijo (Oliveira; Bravo; Tonial, 2012).

Outrora, para os pontos amostrais do produtor “M”, identificamos três gêneros de Bactérias do Ácido Lático e as seguintes espécies: *Lactococcus lactis*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides* e *Lactobacillus brevis*. Especificamente para o produtor M, a espécie de BAL predominante em suas amostras foi de *Lactococcus lactis* com cerca de 76% das amostras, seguido por *Lactiplantibacillus plantarum*. Segundo a literatura, para os QMAs da região do campo das Vertentes, a microbiota se compõe predominantemente de bactérias do gênero *Lactococcus* (*Lactococcus lactis* e *Lactococcus garvieae*), seguido por *Lactobacillus acidipiscis*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, além de ter a presença de *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* e *Pediococcus acidilacticis* (Castro, 2015; Kamimura *et al.*, 2019; Penna *et al.*, 2021).

Na coleta do período de chuva isolados de *Lactococcus lactis* foram identificados em todas as amostras do queijo fresco e na sua casca, em conjunto, foi identificado *Leuconostoc mesenteroides*. Para o queijo com 22 dias de maturação, as BAL identificadas na casca foram *Lactococcus lactis* e *Lactobacillus brevis* no centro do queijo. *Lactobacillus brevis* é uma Bal relacionada na produção de enzimas proteolíticas, como a aminopeptidases, é heterofermentativa. Essa bactéria desenvolve um relevante trabalho na produção de aminoácidos livres que estão relacionados direta ou indiretamente, no aroma e sabor dos produtos (Castro, 2015; Pereira; Santana; Santos, 2020). A identificação de isolados dessa espécie no período chuvoso, bom como de *L. plantarum* é algo comum e esperado, segundo Luiz *et al.* (2016).

As BAL mesofílicas são constituídas de cepas acidificantes ou um conjunto de BAL acidificante e fermentadora de citrato, composto que é convertido em diacetil, responsável pelo sabor amanteigado dos queijos. Em especial, para as BAL heterofermentativas, sua utilização em alimentos é relevante por sua capacidade de produzir compostos aromáticos. *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *L. plantarum* e *L. mesenteroides* possuem cepas que convertem citrato em diacetil. *L. mesenteroides* é muito utilizado em produtos lácteos como microrganismo aromatizante, pois além do diacetil, CO₂ e acetoína a partir do citrato, desempenha função nas qualidades físicas de queijos, como a textura e produção de olhaduras em queijos tradicionais como Manchego, Danbo, Gouda e outros (Bruno; Carvalho, 2009; Dellaglio *et al.*, 1995).

Como contaminante do queijo do T0, havia *E. coli* e *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus aureus* na casca e no centro do queijo; *Morganella morganii* na casca do queijo maturado. Quando submetido a métodos dependentes de cultura, não houve confirmação de estafilococos coagulase positiva para esta amostra, sendo a técnica de identificação proteômica

muito relevante neste caso, pois além de identificar nas amostras do queijo fresco, confirmou a identificação de *Staphylococcus aureus* na amostras do queijo maturado. *S. aureus* pode ter tido origem na matéria prima, ou na elevada manipulação do queijo, já que o produto passa por prensagem manual, processo de salga, viragem e lavagem ou *toillet*, favorecendo a contaminação microbiológica. Esse microrganismo é um indicador de falha higiênica, ou de mastite contagiosa no rebanho, causador de doença caso o alimento com a enterotoxina estafilocócica seja consumido (Borelli *et al.*, 2011; Camargo *et al.*, 2021; Leão *et al.*, 2020; Oliveira, 2014).

Trichosporon japonicum predominou nos identificados de fungo e leveduras da casca do queijo maturado, além da identificação de *Kluyveromyces lactis* e *Candida catenulata*. Já *Geotrichum candidum* foi encontrado no centro do queijo. A casca do queijo é afetada pelas influencias do ambiente, pois ao microrganismos que já estão presentes nas superfícies de maturação e processamento, entraram em contato direto com os novos queijos produzidos, permanecendo viáveis por dias ou meses (Quijada *et al.*, 2018; Souza *et al.*, 2021).

Assim como o observado entre os isolados identificados das tábuas de maturação do outro produtor, elas tendem em refletir a maioria da diversidade dos identificados de fungos e leveduras dos queijos que estavam depositados sobre elas, havendo isolados de *Kluyveromyces lactis*, *Trichosporon Japonicum* e *Candida catenulata* na tábua de maturação dos queijos do tempo zero, com contaminação de *S. saprophyticus* e *Bacillus cereus*, além de *Candida parapsilosis*, *Kluyveromyces lactis* e *Candida catenulata* em tábuas que continham queijos com 22 dias de maturação e como contaminante *Staphylococcus* spp., *Kocuria* spp. e *Lysinibacillus boronitolerans*.

Algo interessante em se observar, é que mesmo que as tábuas mantivessem em sua superfície, isolados de leveduras e fungos que estavam presentes no queijo, contaminantes como *E. coli* e *S. aureus*, não foram identificados como transferidos para as tábuas, neste trabalho. Em um trabalho realizado por Montibus *et al.* (2016) ao inocular tábuas de madeira com *E. coli* e com *Penicillium expansum*, para posterior armazenamento de maçãs, observou que as células bacterianas possivelmente eram mais sensíveis e houve morte celular deste grupo, já as células fúngicas eram mais resistentes e que o teor de umidade da madeira não influenciou nas trocas microbianas com o alimento, gerando evidências, as quais também podemos verificar em algumas amostras neste trabalho, que microrganismos, como bactérias gram-negativas e alguns esporos de fungos, que contaminam corriqueiramente alimentos ao longo do seu processo produtivo, não se transferem facilmente da madeira para os alimentos.

O ambiente de maturação neste período de chuva mostrou vasta diversidade qualitativa de microrganismos identificados, sendo eles: *Paenarthrobacter ureafaciens*, *Acinetobacter iwoffii*, *S. xylosus*, *Staphylococcus sciuri*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus capitis*, *Lysinibacillus boronitolerans*, *Staphylococcus chromogenes*, *Acinetobacter schindleri* e *Kocuria* spp., além de *Trichosporon coremiiforme*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida duobushaemulonii*, *Candida intermedia*. Dentre os microrganismos encontrados, deve-se maior atenção a presença de *Aspergillus*, um fungo sazonal do ambiente, presente em vegetação decompostas, excrementos e compostagens, mas com capacidade colonizar ambientes internos, pois produz esporos pequenos, secos e facilmente aerossolizados, passando facilmente por aberturas de portas e janelas. Quando aspirado pode causar rinite, alergias e colonizar as vias brônquicas dos asmáticos, causando asma grave e baixa função pulmonar (Fukutomi; Taniguchi, 2015).

O período de chuvas se caracteriza por altas temperatura e elevada umidade do ar, o que confere em maiores contagem microbiológicas, estatisticamente, na contagem de aeróbios mesófilos dos queijos, nesta sazonalidade, o produtor M também havia se destacado (Castro, 2015; Dores *et al.*, 2013). Um fator que pode vir a influenciar a maior contagem e/ou diversidade microbiológica no período de verão, refere-se ao ambiente externo à queijaria, pois a inexistência de arborização que incide em sombra nas instalações, favorece a incidência de radiação solar sobre a estrutura predial, o que pode elevar a temperatura superficial externa com reflexo ao ambiente interno (Matheus *et al.*, 2016)

Para as amostras coletadas no inverno, dentre os isolados identificados destacou-se *Lactiplantibacillus plantarum*., nas amostras de queijo fresco e maturado, tanto na casca como no centro, além de presente nas tábuas de maturação dos queijos, tendo sido também encontrado *Leuconostoc mesenteroides*, na tabua do queijo fresco.

Os contaminantes do queijo fresco deste período foram *Kocuria* sp, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus aureus*, *Citrobacter freundii* e *Klebsiella oxytoca* e *E. coli* no centro do queijo. Já no queijo maturado foi possível identificar *Staphylococcus saprophyticus* *Staphylococcus aureus* na casca e no centro do queijo, *Proteus vulgaris* e *Staphylococcus xylosus* na casca e *Morganella morganii* no centro do queijo.

As tábuas de maturação dos queijos frescos continham isolados identificados de *Candida intermedia*, *Candida catenulata* e *Geotrichum candidum*, entre fungos e leveduras, sendo contaminadas por *Pseudomonas montelli*, *Kocuria* spp. e *Staphylococcus xylosus*. Nas tábuas do queijo maturado foi identificado *Candida intermedia*, *Geotrichum silvícola* e *Kluyveromyces lactis* em sua população de fungos e leveduras e como contaminantes houve

identificação de isolados de *Exiguobacterium* spp., *Enterobacter cloacae* e *Staphylococcus saprophyticus*.

Do ambiente de maturação do produtor M no inverno, foi possível identificar isolados de *Brevundimonas diminuta*, *Bacillus cereus*, *Rhodococcus corynebacterioides*, *Curtobacterium albidum*, *Kocuria* spp., além de *Candida intermedia* e *Geotrichum silvícola*. A predominância de um ambiente anaeróbico no interior do queijo, limita a presença de microrganismos exclusivamente aeróbicos, como *Pseudomonas*, *Brevibacterium*, *Bacillus* e *Micrococcus*, a superfície dos queijos e ao ambiente onde se encontram (Perry, 2004).

No que tange às BAL, são capazes de desenvolver protagonismo nas dinâmicas bioquímicas do período de maturação, como proteólise e lipólise, colaborando significativamente na construção aromática e sensorial do queijo. Seguindo o que está correlacionado na literatura, a microbiota dos queijos confirmou a presença de Bactérias Ácido Láticas, tradicionalmente reconhecidas como iniciadoras da fermentação, os gêneros *Lactobacillus*, *Lactococcus* e *Leuconostoc* (Pereira; Santana; Santos, 2020).

Especificamente neste estudo, ao identificarmos a microbiota autóctone dos queijos, para o produtor M, verificamos *Lactococcus lactis* como a BAL de maior destaque no verão, indo de acordo com as afirmações de que *Lactococcus lactis* apresenta a maior prevalência de uso em culturas starter mesofílicas, sendo normalmente predominantes em queijos frescos, como os coletados neste estudo, podendo sua presença reduzir no decorrer da maturação (Abarquero *et al.*, 2023; Blaya; Barzideh; Lapointe, 2018). Em toda sistemática envolvendo a maturação, as BAL são de suma importância, exercem papel relevante na acidificação, produzem metabólitos relevantes com desempenho antimicrobiano, dentre eles os ácidos orgânicos, etanol, peróxido de hidrogênio, diacetil, CO₂ e bacteriocinas (Castro, 2015; Pereira; Santana; Santos, 2020).

Havendo consonância entre ambos os produtores e ambas as sazonalidades a identificação *Leuconostoc mesenteróides*, na composição da microbiota do queijo demonstra forte correlação entre *Leuconostoc* spp. e a produção de diversos compostos voláteis, estando essa bactéria presente em outros alimentos fermentados como café, kimchi, e seja como fermentadora adjuvante ou dominante, pode colaborar significativamente com o desenvolvimento do sabor do alimento, onde em produtos inoculados, ocorre a formação de ésteres de ácidos graxos de cadeia curta, a partir da esterificação de álcoois junto com ácidos graxos de cadeia curta, por enzimas destes microrganismos, colaborando para o desenvolvimento de um sabor único, já que são responsáveis por conferir especialmente os aromas frutados, florais, doces e lácteos (Tian *et al.*, 2023; Xu *et al.*, 2021).

Um grupo também identificados entre as amostras e que possuem grande relevância nos queijos artesanais são as bactérias que não fazem parte da cultura iniciadora e são definidas como bactérias lácticas não starter (non starter lactic acid bacteria – NSLAB), autóctones do leite, do ambiente de ordenha e de produção dos queijos. Ao contrário das culturas starters homofermentativas, as NSLAB são heterofermentativas, havendo destaque neste estudo para a identificação de *L. plantarum* spp., além de *L. curvatus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus* spp. e *L. paracasei*. Bluma e Ciprovia (2016) justificam a variação dos microrganismos deste grupo, encontrados entre os produtores, em razão das espécies sofrerem influencia da sazonalidade, da origem do leite e do período de maturação do queijo. Ademais, podem formar biofilmes e manter o processo de recontaminação (Hansen, 2017), em especial nas tábuas, onde foram encontradas e puderam manter contato constante com os queijos.

Houve diversidade a identificação de isolados de fungos e leveduras, corroborando com a identificação de Souza *et al.* (2021), ao confirmar a identidade dentre os isolados do queijo minas artesanal do Serro e do ambiente de maturação, por MALDI-TOF, de *Kluyveromyces lactis*, *Candida* spp., *Geotrichum candidum* e *Trichosporon Japonicum*. Santos (2021), ao utilizar a mesma técnica de identificação, também observou no queijo maturado produzido na região da Canastra, a partir do leite cru, em sua comunidade de fungos e leveduras, representativa população de *Trichosporon Japonicum*, *Candida catenulata*, *Trichosporon coremiiforme*, *Geotrichum candidum* e *Kluyveromyces lactis*. Estes microrganismos são capazes de influenciar na composição dos compostos aromáticos dos queijos, pois através da ação de lipases e proteases colaboram na construção sensorial dos queijos, como na produção de notas frutadas, amanteigadas, adocicadas, entre outras. Em especial, *Kluyveromyces lactis*, levedura predominante entre as amostras deste estudo, possui a capacidade de atuar no centro do queijo, onde normalmente não predominam leveduras, sendo capaz de reduzir a acidez da massa e produzir compostos aromáticos. (Atanassova *et al.*, 2016; Santos, 2021; Suzuki-Iwashima *et al.*, 2020). Essa levedura esteve presente principalmente nos queijos do produtor G, mas como foi identificada em isolados das tabuas de maturação de ambos os tempos e sazonalidades, é possível que se fizesse presente na população da massa do queijo também do produtor M.

Compondo os pontos amostrais, as tábuas e o ambiente de maturação, dentro da diversidade de isolados identificados tiveram destaque na contaminação pelo gênero estafilococos, sendo o contaminante comum em 25% dessas amostras. Busetta *et al.* (2024) ao analisarem tábuas de maturação, entre as dezenas de microrganismos mesófilos isolados a partir do meio PCA, também verificaram esse gênero em predomínio, sendo que identificaram a

espécie *Staphylococcus equorum* como mais abundante nas amostras, em um mínimo de 27,77%, além da presença de *Staphylococcus sciuri*. Na casca do queijo, assim como neste estudo, a diversidade de isolados originados a partir do meio PCA foi elevada com predomínio do gênero estafilococos entre as amostras. Estafilococos é um relevante contaminante, gerando preocupação em relação a saúde pública, já que alguns de seus isolados são capazes de produzir enterotoxinas que podem provocar intoxicação alimentar (Oliveira *et al.*, 2011).

Outro gênero identificado em 32% das amostras desse estudo, foi *Kocuria* spp. Caldeira *et al.* (2024) ao analisarem tábuas de maturação de queijo fresco artesanal da Serra Geral, identificaram isolados desse gênero em duas amostras, provenientes de dozes propriedades avaliadas. Para Bartlett *et al.* (2022), algumas espécies podem ser caracterizadas como um patógeno humano. Dentre estes *Kocuria rosea*, é um microrganismos comensal a microbiota da pele e da mucosa humana, podendo ser responsáveis por acometer infecções gerais, estado inflamatórios de órgãos peritoneais e sepse (Kohl *et al.*, 2020).

A diversidade na identificação de outros microrganismos indesejáveis, como *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus cereus*, *Proteus vulgaris*, sugerem a necessidade de adequação das condições higiênicas, uma vez que algumas espécies destes microrganismos podem gerar infecções com origem em alimentos e serem multirresistentes a antibióticos (Frazão *et al.*, 2021; Neres L.; Neres J., 2023). Além destes, os patógenos oportunistas do gênero *Pseudomonas* e os *Proteeae*, que além de *P. vulgaris*, comporta *M. morganii* e são microrganismos comuns a microbiota fecal, podendo estar presente na água e no solo e capazes de provocar bacteremias severas, foram identificados nas amostras (Bush; Vazquez-Pertejo, 2022).

4.3 Análise Microbiológica e de Qualidade

A contagem da população microbiana das cascas e centros dos queijos, encontram-se na Tabela 5. A análise microbiológica por métodos dependente de cultivo, foi realizada a fim de determinar a qualidade dos queijos analisados, com base nos parâmetros estipulados pela Legislação Estadual vigente e específica para o Queijo Minas artesanal (IMA, 2021a).

Em relação as variáveis a serem destacadas em razão da sazonalidade e influências climáticas, elas são observadas devido a existência do verão, um período chuvoso, com altas temperaturas e alta umidade relativa do ar, em contra ponto há o inverno, um período seco, onde as chuvas são mais escassas, há queda das temperaturas e da umidade. Tais características tendem a colaborar com a multiplicação dos microrganismos no verão, favorecendo assim a

contaminação do leite cru, por haver maior quantidade de sujidades no rebanho a ser ordenhado, com respectivo aumento de moscas circulante que poderão chegar até o queijo em período de maturação (Figueiredo, 2018).

Assim como recomenda a legislação, houve ausência de *Salmonella* spp. e de *Listeria monocytogenes* nas amostras dos queijos, bem como também não foram detectadas nas amostras das tábuas de maturação. A ausência de *Salmonella* spp, pode indicar que este patógeno não estava presente na matéria prima e que a manipulação posterior do produto foi adequada e não propiciou contaminações cruzadas (Castro, 2015). Já para *Listeria*, queijos produzidos com leite não pasteurizado podem dificultar a sobrevivência do microrganismo, já que a microbiota natural do leite, especificamente BAL, podem estar em maior população e inibi-la (Gerard *et al.*, 2018).

Staphylococcus coagulase positivo podem estar em um limite máximo de 1×10^3 UFC/g, segundo os parâmetro microbiológicos aceitáveis da legislação. Nas amostras de queijo do tempo zero, de ambas as estações e de ambos os produtores, não houve confirmação de colônias. No entanto, os queijos maturados dos dois produtores, na região central dos queijos, apresentaram contagens do microrganismo no inverno, mas sem diferença significativa em virtude da sazonalidade. A contagem do centro do queijo produtor M, para essa classe de microrganismos, foi em número inferior ao reprovado pela legislação ($2,4 \times 10^2$ UFC/ g) e do produtor G logo acima do máximo permitido, $1,4 \times 10^3$ UFC/ g. No verão a contagem média destas amostras centrais do produtor M, também podem ser consideradas reprovadas, segundo a legislação, por constituírem $3,0 \times 10^3$ UFC/ g de *Staphylococcus* coagulase positivo.

Tabela 5 - Variação da população microbiana, dos queijos minas artesanais produzidos no Campo das Vertentes e maturados por 22 dias¹.

Contagem microbiológica Log UFC/ g	Casca dos queijos								Centro dos queijos							
	Produtor G				Produtor M				Produtor G				Produtor M			
	Inverno		Verão		Inverno		Verão		Inverno		Verão		Inverno		Verão	
	T0	T22	T0	T22	T0	T22	T0	T22	T0	T22	T0	T22	T0	T22	T0	T22
Aeróbios mesófilos	6.57± 0.41 ^{Aa*}	6.21± 0.18 ^{Aa*}	6.69± 0.31 ^{Aa*}	6.44± 0.24 ^{Aa*}	6.25± 0.12 ^{Aa*}	6.25± 0.12 ^{Aa*}	5.30± 0.76 ^{Bb**}	6.79± 0.06 ^{Aa**}	6.84± 0.03 ^{Aa*}	6.14± 0.07 ^{Aa*}	7.33± 0.02 ^{Aa*}	5.99± 0.01 ^{Ab*}	6.98± 0.06 ^{Aa*}	5.73± 0.04 ^{Ab*}	5.09± 0.18 ^{Ba**}	4.61± 0.07 ^{Ba**}
<i>Staphylococcus</i> coagulase positivo	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2.99± 0.32 ^{A*}	NA	NA	NA	2.38± 0.09	NA	3.48± 0.00 ^{Aa*}
Fungos filamentosos e leveduras	6.07± 0.20 ^{Aa*}	5.83± 0.33 ^{Aa*}	6.03± 0.22 ^{Aa*}	5.12± 0.22 ^{Aa*}	3.73± 0.23 ^{Bb**}	4.97± 0.83 ^{Aa*}	5.17± 0.12 ^{Aa*}	5.01± 0.23 ^{Aa*}	5.53± 1.29 ^{Aa*}	4.14± 0.43 ^{Ab*}	5.39± 0.10 ^{Aa*}	4.88± 1.15 ^{Aa*}	3.46± 0.05 ^{Bb**}	4.76± 0.04 ^{Aa*}	4.91± 0.04 ^{Aa*}	4.55± 0.05 ^{Aa*}
BAL	9.50± 0.31 ^{Aa*}	9.12± 0.10 ^{Aa*}	8.65± 0.66 ^{Ba*}	8.06± 0.17 ^{Ba*}	8.87± 0.16 ^{Ba*}	8.39± 0.07 ^{Aa**}	8.93± 0.46 ^{Aa*}	7.84± 0.08 ^{Ab*}	9.72± 0.07 ^{Aa*}	9.25± 0.08 ^{Aa*}	9.14± 0.04 ^{Aa*}	7.79± 0.02 ^{Bb*}	9.36± 0.08 ^{Aa*}	9.31± 1.11 ^{Aa*}	9.44± 0.03 ^{Aa*}	8.04± 0.03 ^{Bb*}
Coliformes totais	1.71± 1.15 ^{Aa*}	1.39± 0.74 ^{Aa*}	0.00± 0.00 ^B	1.89± 0.27 ^{Aa*}	1.34± 0.19 ^{Aa*}	3.04± 0.00 ^{Aa*}	2.01± 0.90 ^{Aa*}	1.45± 0.16 ^{Aa*}	1.39± 0.08 ^{Aa*}	0.50± 0.05 ^{Ba*}	NA	2.92± 0.22 ^{Aa*}	1.26± 0.07 ^{Aa*}	1.32± 0.34 ^{Aa*}	0.98± 0.10 ^{Aa*}	0.66± 0.27 ^{Aa**}
Coliformes termotolerantes	2.02± 0.96 ^{Aa*}	0.78± 0.47 ^{Ab*}	0.46± 0.00 ^{Ba*}	1.24± 0.65 ^{Aa*}	0.46± 0.00 ^{Ba**}	1.50± 0.82 ^{Aa*}	2.25± 0.71 ^{Aa*}	0.66± 0.27 ^{Ab*}	1.05± 0.33 ^{Aa*}	0.46± 0.00 ^{Bb*}	NA	1.99± 0.35 ^{Aa*}	1.46± 0.47 ^{Aa*}	0.53± 0.05 ^{Aa*}	1.45± 0.37 ^{Aa*}	0.49± 0.05 ^{Aa**}

¹Média±Desvio padrão são apresentados. Letras maiúsculas apresentam diferença estatística pelo teste T- Student (p<0.05) quando avaliam a influência das estações do ano sob o produtor e o tempo. Letras minúsculas apresentam diferença estatística pelo teste T- Student (p<0.05) quando avaliam a influência dos tempos de maturação sob o produtor e as estações do ano. Os asteriscos apresentam diferença estatística pelo teste T- Student (p<0.05) quando avaliam a influência do produtor sob o as estações do ano e o tempo de maturação do queijo. T0= Queijo fresco; T22= Queijo com 22 dias de maturação na queijaria; NA= Contagem não aplicável por ausência de crescimento microbiano.

Fonte: Da autora (2024).

A Sazonalidade exerceu influência significativa com menor contagem no verão, na casca do queijo, para a população de Bactérias Ácido Láticas (BAL) dos queijos fresco e maturado do produtor G, com 8,65 e 8,06 Log UFC/ g, respectivamente, bem como, para os queijos fresco do produtor M, com 8,93 Log UFC/ g, no verão e 9,36 Log UFC/ g no inverno. O centro do queijo também apresentou redução significativa de BAL, em virtude da sazonalidade, para os queijos maturados dos produtores G (7,79 Log UFC/ g) e M (8,04 Log UFC/ g) do verão, conforme descrito na Tabela 5. O tempo de maturação dos queijo exerceu diferença significativa, onde as BAL apresentaram menor contagem na casca do queijo fresco do produtor M, no período do verão e no centro dos queijos dos queijos maturados dos produtores G e M nesta mesma época do ano. Entre produtores, as cascas dos queijos, maturado do inverno (8,39 Log UFC/ g) e a do queijo fresco do verão (8,93 Log UFC/ g), do produtor M, obtiveram menor população em relação ao produtor G, nos mesmos períodos ($p < 0,05$).

A redução da contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos, sofreu influência da sazonalidade ($p < 0,05$), nas populações do centro dos queijos do produtor M no verão, tanto do queijo fresco (5,09 Log UFC/ g), quanto do queijo maturado (4,61 Log UFC/ g). O período de maturação reduziu significativamente, a contagem total no centro dos queijos maturados dos produtores G no verão (5,99 Log UFC/ g) e do M no inverno (5,73 Log UFC/ g). O centro (4,61 Log UFC/ g) e a casca (6,79 Log UFC/ g) do queijo maturado do produtor M do verão, demonstraram diferença significativa em relação aos queijos do produtor G, como visto na Tabela 5. O centro do queijo fresco do produtor M, também apresentou contagem total significativamente inferior na relação entre produtores.

A menor presença de fungos filamentosos e leveduras, foi observada na casca (3,73 Log UFC/ g) e no miolo (3,46 Log UFC/ g) dos queijos frescos do produtor M, no período do inverno, com diferença significativa em função da sazonalidade, do período de maturação dos queijos e em relação ao produtor, no mesmo período. O tempo de maturação também exerceu influencia significativa, promovendo contagens inferiores, desta classe de microrganismos, no centro do queijo maturado do produtor G no inverno (4,14 Log UFC/ g).

A contagem de coliformes totais e termotolerantes foi inferior, sob influencia da sazonalidade, para a casca do queijo fresco do produtor G no verão (sem contagem e 0,46 Log UFC/ g, respectivamente) e para o centro do queijo maturado, do mesmo produtor, no inverno (0,50 e 0,46 Log UFC/ g, respectivamente) ($p > 0,05$). A sazonalidade, de modo significativo, promoveu menor contagem destes microrganismos na casca do queijo fresco do produtor M no inverno, apresentando 1,34 Log UFC/ g de coliformes totais e 0,46 Log UFC/ g de coliformes termotolerantes.

O período de maturação de 22 dias, atuou reduzindo a população de coliformes termotolerantes dos queijos maturados, sendo significativamente observado nas cascas e centro dos queijo do produtor G no inverno (0,78 Log UFC/ g) e na casca do queijo maturado do produtor M no verão (0,66 Log UFC/ g). Entre produtores, destacou-se a menor contagem de coliformes termotolerantes da casca do queijo fresco do produtor M no inverno (0,46), assim como do centro do queijo maturado do verão deste mesmo produtor (0,49), com diferença significativa deste queijo, para a população de coliformes totais (0,66 Log UFC/ g) em relação ao produtor G (2,92 Log UFC/ g) nesta mesma época ($p < 0,05$), conforme os dados apresentados na Tabela 5.

No que tange a população de *Staphylococcus* coagulase positivo, mesmo que o plaqueamento e os testes subsequentes de coagulase, não tenham levado a confirmação, pelo MALDI-TOF, isolados de *S. aureus* foram identificados, além das amostras dos queijos maturados. Foram confirmados isolados de *S. aureus* nas amostras dos queijos frescos do produtor M, tanto no inverno quanto no verão, porém não estavam presentes em suas respectivas tábuas, o que demonstra a importância da combinação entre técnica dependentes e independentes de cultivo para a identificação de microrganismos, mesmo que haja relatos de que patógenos potenciais como *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* possam ser contidos no decorrer da maturação (Castro, 2015).

Relatos semelhantes foram demonstrados por Castro *et al.* (2020) em seu estudo, no qual obtiveram contagem de estafilococos coagulase positivo de 3,77 log UFC/ g em queijos minas artesanais do Triângulo Mineiro maturados por 21 dias, no verão. Castro (2015) também verificou quanto a avaliação da qualidade microbiológica de queijos frescos do Campo das vertentes cerca de 3 log UFC/ g no verão nas contagens de estafilococos coagulase positiva e cerca de 6 log UFC/ g no inverno.

A presença de *Staphylococcus aureus* é um dos problemas relacionados ao consumo de queijos artesanais produzidos a partir do leite cru, já que a matéria prima pode veicular este patógeno. Não foi o caso deste estudo, mas *Staphylococcus* spp. em população superior a 10^4 UFC/ g desencadeia a probabilidade de produção de enterotoxinas nos alimentos, o que é um palpável risco ao consumidor (Brumano, 2016; Leão *et al.*, 2020). *Staphylococcus aureus* prevalente em leite e derivados é um indicador de falhas higiênicas no processamento e manipulação do produto ou um possível indicador de mastite contagiosa no rebanho, já que este microrganismo é um dos agentes causadores no gado leiteiro (Borelli *et al.*, 2011; Camargo *et al.*, 2021).

Na avaliação da qualidade dos queijos pela verificação da presença de microrganismos do grupo coliformes totais, de modo semelhante a este trabalho, Castro (2015) ao avaliar a qualidade dos queijos frescos de queijarias do Campo das Vertentes encontrou diferença significativa entre as estações, com valor médio de 355 NMP/ g de coliformes a 35°C no período de seca e cerca de 1500 NMP/ g no período de chuva. Oliveira (2014) também verificou a elevada apresentação de NMP/ g de coliformes totais no verão em relação ao inverno ($p < 0,05$). As condições climáticas do período chuvoso levam a esperar que para este período os valores medianos na contagem de microrganismo do grupo dos coliformes seja mais elevada do que quando comparado ao inverno. As características do período interveem fortemente neste quesito, pois apresenta alta umidade relativa do ar e temperatura, favoráveis a proliferação microbiana (Rodrigues, 2021).

Com relação aos critérios exigidos pela legislação para os QMA maturados, as amostras não seriam reprovadas, pois encontram-se dentro do limite máximo de 5×10^3 UFC/ g de coliformes a 35°C e 5×10^2 UFC/ g de coliformes a 45°C. O grupo dos coliformes totais é composto por enterobactérias fermentadoras de lactose, originadas do trato gastrointestinal dos humanos e dos animais de sangue quente, incluindo a este grupo o sub grupo do coliformes termotolerantes e a sua espécie mais conhecida, a *Escherichia coli*, uma das também identificadas nas análises do MALDI-TOF, junto com *Klebsiella* spp., entre outras (Silva *et al.*, 2010).

Oliveira (2014) ao analisar o QMA do Campo das Vertentes, também observou maior contagem de coliformes a 35°C e a 45°C no período do verão, o que foi observado neste estudo para o produtor G no queijo maturado. Sá *et al.* (2021) ao trabalharem com QMA desta mesma região verificaram os mesmos achados para estas análises, onde a maturação em algumas amostras foi eficiente em reduzir a população de coliformes totais, quando a época do ano não foi um fator diferencial. Quando não é possível a redução dos coliformes a 30°C nos queijos, a elevada presença desse grupo de microrganismos pode vir a provocar deterioração, causando um defeito muito comum, o estufamento precoce, provocado pela fermentação da lactose e produção de CO₂ e H₂ gerando bolhas que estufam pontualmente o queijo (Oliveira, 2014).

Neste estudo, se confirmou por técnica independente de cultivo, a presença de coliformes termotolerantes na amostra de queijo fresco do verão do produtor M, onde 60% de isolados de *E. coli* confirmados em análise no MALDI-TOF, foram provenientes destas amostras, onde neste queijo, representou cerca de 15% dos seus isolados totais. A origem de coliformes a 45°C pode estar relacionada a material de origem fecal e falhas no controle de higienização no processo de produção do queijo Minas artesanal (Silva *et al.*, 2010).

No entanto, Segundo Leão *et al.* (2020), quando há a redução do grupo de coliformes no decorrer da maturação pode ser um indicativo de que não ocorreu recontaminação ao longo da manipulação dos queijos. Os processos pertinentes as Boas Práticas de Fabricação, devem envolver as etapas de da produção, envolvendo uma sistemática que garanta os padrões mínimos de qualidade, prezando pela boa qualidade e higiene da matéria prima (Bezerra, 2008).

Apesar de não ser uma classe de microrganismos com distinção de análise no parâmetros legislativos do QMA, dentro do grupo de microrganismos aeróbios mesófilos, enquadram-se microrganismos que podem se relacionar à qualidade higiênico sanitária do produto e influenciar em sua vida útil. São microrganismos que podem refletir as más condições de higiene na produção, processamento e/ou manipulação do produto, assim como da falhas e controle de qualidade da matéria-prima (Seixas *et al.*, 2015; Silva, 2010).

Sá *et al.* (2021) ao avaliarem os queijos minas artesanais da região do Campo das Vertentes encontraram contagem desse grupo microbiano entre 8 e 9 ciclos log de UFC/ g. Neste trabalho observamos médias inferiores a 7 log de UFC/ g, como visto na Tabela 5.

A sazonalidade não influenciou como habitualmente visto pelas características climáticas, onde esperava-se que o período de chuva exercesse maior influência no microambiente. Elevando a contagem de microrganismos, como o citado por Seixas *et al.* (2015). No entanto, é preciso levar em conta as anomalias climáticas sazonais no Brasil, pronunciadas para o ano de 2023, com desvios na precipitação, aumento considerável de chuvas destacando os efeitos das mudanças climáticas globais (Anomalias[...], (2023)).

A avaliação de parâmetros microbiológicos distintos é esperada entre produtos artesanais, por isso houve diferenças entre os produtores M e G, uma vez que esta variação está condicionada ao treinamento e prática dos manipuladores de alimento e a adoção das BPF em cada uma das propriedades (Penna *et al.*, 2021). A presença dos microrganismos mesófilos no queijo, na sua região central, pode indicar contaminação da matéria prima, principalmente no que se trata do queijo fresco, a contaminação pode estar relacionada a diferentes fatores como os manipuladores, os tetos dos animais, o ambiente, os equipamentos utilizados na ordenha ou na produção do queijo (Augusto, 2015). No que se refere a população de fungos filamentosos e leveduras, a contagem encontrada, pode ter ocorrido entre as partes do queijo, em razão da diversidade microbiana da casca do queijo ser maior que no centro, podendo se estabelecer de

forma controlada ou não, além de ser um ambiente aeróbio (Choi *et al.*, 2020). Sabendo que não há parâmetros definidos quanto ao limite deste grupo de microrganismo, não é indicado que se perca o controle da população no queijo, já que são capazes de alterar as características

físico-químicas e sensoriais do produto, além de seu aspecto na parte externa do queijo despertarem repulsa em parte dos em parte dos consumidores (Leão *et al.*, 2020).

Dentro da diversidade da microbiota endógena do QMA não é possível estabelecer a população ideal de leveduras, bem como não se estabelece a de BAL. Seu desenvolvimento ou queda ao longo da maturação também é influenciado pela composição do leite e do pingo, bem como pelas condições ambientais e climáticas. Figueiredo (2018) observou a manutenção de elevadas contagens de fungos e leveduras ao longo de 63 dias de maturação, ao estudar queijo artesanal da Serra do Salitre. Com resultados semelhantes a população máxima descrita neste estudo, Castro *et al.* (2016) encontraram médias na contagem de bolores e leveduras em QMA do Campo das Vertentes de cerca de 7 ciclos log UFC/ g no período da seca e 6 ciclos log UFC/ g no período da chuva.

As BAL são os microrganismos desejáveis nos QMA, possuem uma função fundamental na segurança do produto, ao fermentar a lactose presente no queijo e produzirem o ácido láctico, indisponibilizando o substrato para fermentações de microrganismos indesejáveis (Castro, 2015).

Neste trabalho, BAL representou a maior contagem de microrganismos identificados, chegando a quase 10 log UFC/ g nos queijos, sem diferença entre os produtores ($p > 0,05$). Assim como para as leveduras, não há um parâmetros populacionais determinado para este microrganismo. Sazonalidade e o período de maturação atuaram como as principais influências de diferenças, e as diferenças na contagem em relação ao tempo de maturação podem relacionar-se a morte da cultura iniciadora de BAL e destaque da microbiota secundária, composta também por fungos e leveduras, colaborando nas reações de glicólise, proteólise e lipólise (Santos, 2021).

De modo geral, o comportamento das BAL nos queijos apresentou maior contagem no inverno, mesmo que seja um período com menor umidade relativa do ar e reduzirem ao longo da maturação. A falta de critérios de padronização em relação ao tipo de dieta ofertada ao animal nos diferentes períodos do ano, favorece a influência da sazonalidade sob a composição físico-química e microbiológica dos queijos. As estações, conforme a região, mudam a oferta forrageira ao animal e o seu conforto térmico (Oliveira, 2011; Seixas *et al.*, 2015).

A matéria prima é a origem da diversidade e população de BAL que o QMA terá. Em cada queijaria e propriedade um tipo único de pingo será desenvolvido, como o resultado da interação daquele ambiente com as particularidades da sua manipulação e armazenamento (Rodrigues, 2021). Assim, vale estabelecer as características dos gêneros predominantes para cada produtor. O produtor M neste trabalho, da população de BAL crescidas em placas e

isolada, teve por características morfológicas, a caracterização e posterior identificação proteômica de cerca de 76% de bactérias *Lactococcus latis* spp. A mesma espécie foi identificada de forma abundante em queijos artesanais da região de Araxá, no Campo das Vertentes e também da Canastra (Kamimura *et al.*, 2019; Perin *et al.*, 2017).

Em predomínio para o produtor G, a partir de métodos semelhantes ao descritos acima, foi identificada abundância de *Lactobacillus* spp. O mesmo foi relatado anteriormente em queijos minas artesanais. Essa predominância ocorre em razão da capacidade que estes microrganismos possuem de se desenvolverem nas condições adversas da massa do queijo, como observado nos dados bioquímicos onde o pH é considerado baixo e o teor de sal, elevado, o sobressaindo em relação a outros microrganismos (Perin *et al.*, 2017).

Comum à comunidade de BAL dos dois produtores, e predominante nos isolados identificados do produtor G, *Lactiplantibacillus plantarum* possui potencial probiótico. É um grupo de bactérias reconhecido como capazes de produzirem substâncias antimicrobianas o que provavelmente colabora para o consumo de um queijo seguro e de qualidade. Sua origem e heterogeneidade de BAL dos queijos artesanais pode dever-se ao pingço, rotineiramente apresentando elevada população de *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc* entre outras (Kamimura *et al.*, 2019), havendo todos esses gêneros, sido confirmados em nossas amostras. *L. plantarum* quando foi isolada de queijo Minas artesanal apresentou ação anti-listerial e foi capaz de minimizar o risco de desenvolvimento de doença, como a listeriose, partir do consumo de queijos (Campagnollo *et al.*, 2018).

Comum também entre os isolados dos queijos dos produtores G e M, *Leuconostoc mesenteroides* é uma bactéria heterofermentativa. As bactérias heterofermentativas, além do ácido lático, produzem dióxido de carbono, diacetil e outros compostos flavorizantes, desempenhando a função de atribuir melhor sabor e textura aos alimentos, pois utilizam a via pentose monofosfato na fermentação da glicose, e ao converter hexose em pentose, produz substâncias aromáticas como aldeído e diacetil. *L. mesenteroides*, assim como *L. plantarum*, *L. curvatus*, *E. dispar* e *E. faecalis*, identificados nesse trabalho, são gêneros definidos como NSLAB (bactérias ácido lácticas não iniciadoras) e foi possível comprovar que os grupos de NSLAB divergem entre os produtores, dependendo da estação do ano, do período de fabricação e do tempo de maturação do queijo (Bluma; Ciprovica, 2016; Pereira; Santana; Santos, 2020).

Tabela 6 - Contagem microbiológica das tábuas que continham os queijos minas artesanal produzido nas queijarias da microrregião da campus da vertentes maturados por 22 dias.¹

Contagem microbiológica Log UFC/ cm ²	Tábuas de maturação dos Queijos							
	Produtor G				Produtor M			
	Inverno		Verão		Inverno		Verão	
	T0	T22	T0	T22	T0	T22	T0	T22
Aeróbios mesófilos	6.01±0.06 ^{Aa*}	6.43±0.09 ^{Aa*}	5.71±0.11 ^{Aa*}	5.11±0.01 ^{Bb*}	4.76±0.05 ^{Aa**}	4.90±0.07 ^{Aa**}	5.02±0.02 ^{Aa**}	4.13±0.02 ^{Bb**}
<i>Staphylococcus</i> coagulase positivo	NA	NA	NA	3.53±0.00 ^{Aa*}	NA	NA	NA	2.00±0.00 ^{Aa**}
Fungos filamentosos e leveduras	6.62±0.13 ^{Aa*}	6.34±0.05 ^{Aa*}	4.70±0.02 ^{Ba*}	5.28±0.03 ^{Ba*}	4.56±0.13 ^{Ba*}	4.65±0.08 ^{Aa**}	5.54±0.01 ^{Aa*}	3.50±0.02 ^{Bb*}
BAL	8.01±0.07 ^{Aa*}	7.85±0.11 ^{Aa*}	5.42±0.02 ^{Ba**}	5.15±0.01 ^{Ba*}	6.85±0.05 ^{Ba**}	7.13±0.17 ^{Aa*}	6.46±0.01 ^{Aa*}	5.23±0.01 ^{Bb*}
Coliformes Totais	0.83±0.24 ^{Aa*}	0.53±0.05 ^{Aa*}	0.53±0.05 ^{Aa**}	0.48±0.00 ^{Aa*}	0.49±0.05 ^{Ba*}	0.53±0.05 ^{Ab*}	2.18±0.00 ^{Aa*}	0.46±0.00 ^{Aa*}
Coliformes termotolerantes	0.46±0.00 ^{Aa*}	0.46±0.00 ^{Aa*}	0.50±0.05 ^{Aa**}	0.48±0.00 ^{Aa*}	0.46±0.00 ^{Ba*}	0.46±0.00 ^{Aa*}	0.93±0.10 ^{Aa*}	0.46±0.00 ^{Ab*}

¹Média±Desvio padrão são apresentados. Letras maiúsculas apresentam diferença estatística pelo teste T- Student (p<0.05) quando avaliam a influência das estações do ano sob o produtor e o tempo. Letras minúsculas apresentam diferença estatística pelo teste T- Student (p<0.05) quando avaliam a influência das tempo sob o produtor e as estações do ano. Os asteriscos apresentam diferença estatística pelo teste T- Student (p<0.05) quando avaliam a influência do produtor sob o as estações do ano e o tempo de maturação do queijo. T0= Tábua do Queijo fresco; T 22= Tábua do Queijo com 22 dias de maturação.

Fonte: Da autora (2024).

Ainda de acordo com os resultados deste trabalho, as NSLAB se desenvolvem em pH ótimo variável de 4,5 – 8,2, bem como ampla faixa de temperatura de crescimento, indo de 2 à 53°C, sendo microrganismos formadores de biofilme, o que pode justificar sua presença nas tábuas de maturação do queijo (Pereira; Santana; Santos, 2020).

Como indicado na Tabela 6, para a análise de *Staphylococcus* coagulase positivo, a contagem de $2,0 \times 10^3$ Log UFC/ cm² foi encontrada na tábua de maturação que abrigava o queijo maturado do produtor M, no verão e na tábua do queijo maturado do produtor G do mesmo período, onde determinou-se a contagem de $3,53 \times 10^3$ Log UFC/ cm², havendo diferença entre produtores ($p < 0,05$). Isolados de *S. aureus* foram confirmados nas amostras dos queijos frescos do produtor M, tanto no inverno quanto no verão, porém não estavam presentes em suas respectivas tábuas.

Em análise das tábuas de maturação foi verificada a diferença significativa entre épocas, nas tábuas do queijo do tempo zero do produtor M, onde no verão apresentou elevada presença de microrganismos do grupo coliformes totais, 150 NMP/ cm², sendo esta diferença também destacada em correlação ao outro produtor, que apresentou < 3 NMP/ cm² nessa mesma época do ano. Para as demais variáveis não se observou diferenças.

A diferença observada nas tábuas em virtude das estações do ano, ocorreram no produtor M, na tábua do queijo fresco com < 3 NMP/ cm² no inverno e 11 NMP/ cm² no verão, e por influência do período de maturação, a tábua dos queijos de 22 dias de maturado apresentou < 3 NMP/ cm² ($p < 0,05$), quando analisou população de coliformes termotolerantes. Essa diferença também se destaca entre produtores, já que o produtor G, nessa época de verão apresentou < 3 NMP/ cm² na tábua do queijo fresco.

Para microrganismos aeróbios mesófilos, a avaliação da qualidade microbiológica das tábuas destaca diferenças em relação a sazonalidade nas tábuas dos queijos maturados de ambos os produtores, no período de chuva, sendo de aproximadamente 5,11 e 4,13 Log UFC/ cm² para os produtores G e M, respectivamente ($p < 0,05$). Nas tábuas, também no período do verão, o tempo de maturação influenciou significativamente, pois os valores eram superiores no tempo zero, cerca de 5,71 Log UFC/ cm² para produtor G, reduzindo para cerca de 5,1 Log UFC/ cm², e do produtor M foi de 5,02 Log UFC/ cm², para cerca de 4,1 Log UFC/ cm². Entre os produtores, as diferenças estatísticas são para as menores contagens nas tábuas do produtor M no inverno e no verão, tanto para as tábuas do queijo fresco, quanto para do maturado, que variaram entre 4,1 e 5,02 Log UFC/ cm² aproximadamente ($p < 0,05$), conforme indicado na Tabela 6.

Através da análise da população de fungos filamentosos e leveduras, observou-se diferença significativa em virtude da sazonalidade, com menores populações nas tábuas de queijo fresco e de queijo maturado do produtor G no verão, com 4,7 e 5,28 Log UFC/ cm² respectivamente; nas tábuas de queijo fresco do inverno e de queijo maturado do verão, do produtor M, com cerca de 4,56 e 3,5 Log UFC/ cm², sendo que o período de maturação também influenciou na menor contagem desta última tábua. Entre produtores, a tábua do queijo maturado do produtor G, no inverno apresentou maior população, 6,34 Log UFC/ cm², em relação a do produtor M, 4,65 Log UFC/ cm².

As Bactérias Ácido Láticas apresentaram diferença significativa entre produtores, com menor contagem de BAL para a tábua do queijo fresco do produtor M no inverno, com cerca de 6,85 Log UFC/ cm², em relação a tábua do produtor G, que apresentou cerca de 8,0 Log UFC/ cm², no mesmo período e mesmo tipo de tábua. De forma contrária, no verão, entre os produtores, a maior população foi da tábua do queijo fresco do produtor M com 6,46 Log UFC/ cm², enquanto a respectiva tábua do produtor G deste período, continha cerca de 1 Log UFC/ cm² a menos ($p < 0,05$). A sazonalidade atuou de modo significativo, entre todas as amostras, tanto para as tábuas de queijos fresco e maturados, de ambos os produtores, com menores populações de BAL no verão, do que no inverno, como é possível observar na Tabela 6. O período de maturação, no verão, para o produtor M também reduziu a contagem desses microrganismos, ao longo dos 22 dias, apresentando 5,23 Log UFC/ cm² ao final.

Em análise das tábuas de maturação, ao verificar a maior presença de coliformes nas partes dos queijos, não se observa em suas respectivas tábuas os mesmos comportamentos, o que nos leva a presumir que a origem ou ponto de transferência, não parte deste contato, mesmo que o material seja considerado propício para manter a permanência de bactérias (Castro, 2019). Assim, dentre as possíveis fontes de contaminação, para os queijos artesanais, destaca-se o uso do leite cru como matéria-prima, bem como a proibição do uso de tecnologias conservantes e o fato de ao longo de seu processamento, o queijo ser manipulado diretamente em todas as etapas, sendo produzido, em grande maioria, em instalações simples (Rodrigues, 2021).

Ao verificarmos o grupo de coliformes termotolerantes, como visto na Tabela 6, mais uma vez, as tábuas não demonstram seguir a relação de contaminantes entre suas superfícies e os queijos que abrigam. Isso pode ocorrer porque algumas BAL formam biofilmes na superfície da madeira durante a maturação e demonstram a sua tendência no papel ativo de controle da qualidade microbiológica (Grigoli *et al.*, 2015). As tábuas de madeira podem ser utilizadas para a maturação, mas é necessário manter atenção as suas condições e possível contaminação, para que não haja o risco de que elas contaminem o produto, principalmente por ser um processo

que se relaciona com umidade e os queijos frescos são mais úmidos (Silva; Marques, 2022), como demonstrado nos dados das análises físico-químicas e mantiveram a maior carga microbiana em relação as tábuas do queijo maturado.

Os valores de contagem total de fungos filamentosos e leveduras nos queijos e tábuas podem ter sido influenciados pela conjuntura climática, capaz de induzir a variantes perceptíveis em cada uma das etapas da confecção do queijo artesanal, influenciando na qualidade e ordenha do leite cru, até a maturação e obtenção do produto final (Marcondes, 2020).

As tábuas foram os pontos amostrais que mais diferenciaram a contagem em relação a fungos filamentosos e leveduras, apresentando elevadas contagens para este grupo. Assim como demonstrou por alta contagem desse grupo, em relação aos vistos anteriormente, e pela confirmação da diversidade populacional pelos isolados identificados por MALDI-TOF, a dinâmica de fatores abióticos e das condições ambientais não permitem padronizar a diversidade dos resultados apresentados (Martin; Cotter, 2023), porém é possível evidenciar a relação entre os isolados das tábuas e dos seus respectivos queijos.

Quando confirmadas por análise de MALDI-TOF, gêneros de leveduras como *Kluyveromices* foram confirmadas em 87,5% das amostras das tábuas e todas as diversidades de fungos filamentosos e leveduras identificados, distribuíam-se por todas as amostras de tábuas, sendo elas, neste estudo, a maior detentora da diversidade desta classe de microrganismos, conforme se confirmou pela contagem em placas. A madeira é tradicionalmente utilizada na produção de queijos, é um material natural e poroso, capaz de favorecer a permanência de leveduras e bactérias do ácido lático, responsáveis pela produção dos aromas finais do queijo (Castro, 2019).

Corroborando com os achados de Setanni *et al.* (2021), que avaliou 18 tábuas de maturação, a população de BAL nas tábuas é menor, em relação ao queijo, no entanto, o baixo percentual se justifica pela proximidade e ambiente favorável da casca do queijo. Neste trabalho, BAL representou a maior contagem de microrganismos identificados, com valores máximos, próximos de 8 ciclos Log UFC/ cm² nas tábuas. Seguindo o mesmo padrão de contagem dos microrganismos anteriores descritos, as tábuas foram os pontos de análise que demonstraram maiores diferenças entre produtores na contagem de BAL, conforme conta na Tabela 6, o que pode se justificar pela diferença de material entre elas. Mas refletindo a contagem dos queijos, as tábuas apresentaram maiores contagens no período do inverno.

4.4 Avaliação da qualidade do ar do ambiente de maturação

Não houve diferença estatística nas contagens de colônias, nem entre produtores ou entre sazonalidades dos microrganismos desenvolvidos em meio PCA e DRBC, a partir de exposição das placas no ambiente de maturação. As contagens para estes meios ficaram em média de 9,2 e 9,52 log UFC/ cm²/ semana para os produtores G e M, respectivamente, no verão para microrganismos aeróbios mesófilos; 9,4 e 9,3 log UFC/ cm²/ semana para os produtores G e M, respectivamente, no verão para fungos filamentosos e leveduras. Já no inverno a população média de aeróbios mesófilos foi 9,68 e 9,63 log UFC/ cm²/ semana para os produtores G e M, respectivamente e para fungos filamentosos e leveduras, 9,19 e 9,1 para os produtores G e M, respectivamente. A legislação brasileira não define parâmetros para a avaliação da qualidade microbiológica do ar do ambiente de produção e/ou armazenamento de alimentos. Normalmente é seguida a recomendação da APHA, não considerando as particularidades climáticas do país. Atualmente este valor é estimado como rígido para a contagem de microrganismos aeróbios mesófilos e de fungos filamentosos e leveduras, por ser de até 30 UFC/ cm²/ semana (Chaves *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2014).

O ambiente de uma produção é uma parcela considerável dos processos que envolvem possíveis contaminações. O ambiente é uma superfície inanimada, capaz de reservar ampla diversidade de microrganismos (Caetano *et al.*, 2021). A poeira presente no ambiente consegue abrigar microrganismos e estes se dispõem em aerossóis que se mantêm em suspensão, com fácil deslocamento através do ar, atingindo ao acaso o alimento que estiver no local. Em virtude disso, mesmo que as placas de sedimentação tenham refletido as leveduras presentes nos queijos e tábuas de maturação, demonstrando que a microbiota desejável também compõe o ambiente, a alta contagem de mesófilos pode gerar preocupação por ser um grupo que compreende também microrganismos patogênicos, havendo a necessidade de monitorar as ações dos manipuladores e a higienização do local e das suas redondezas, já que como explicados, essas partículas, são circulantes (Rodrigues *et al.*, 2020).

Em relação aos isolados identificados pelo MALDI-TOF no ambiente, alguns isolados podem ter relação com a dispersão no ar a partir da contaminação original do rebanho, onde pode ocorrer infecções como mastite, contaminando o leite e o vinculando a diferentes patógenos relacionados a doença como *Staphylococcus* spp., confirmados em ambos os produtores, mas de forma mais predominante no ambiente do produtor M; *Pseudomonas* spp., confirmada no ambiente de maturação do produtor G no inverno e na tábua de maturação do produtor M, na mesma época, *Streptococcus* spp. entre outros (Coura *et al.*, 2020).

Extrapolando a técnica de contagem em placas, ao identificarmos os microrganismos ambientais podemos inferir que estes provavelmente compõem o ambiente da queijaria e do local da ordenha, bem como é possível presumir sobre o procedimento de higienização no local de produção (Coelho *et al.*, 2010). Essa hipótese se fundamenta na alta contagem no grupo de microrganismos aeróbios mesófilos. Este grupo não é um potencial risco a saúde, o que foi confirmado na predominância dos isolados identificados, mas é um indicador de falhas higiênico-sanitárias. Ser confirmado em excesso no ambiente pode gerar condições de transmissão e contaminação do alimento presente no local de armazenamento ou produção (Caetano *et al.*, 2021; Coelho *et al.*, 2010).

Dentre os microrganismos identificados, o grupo do *B. cereus*, confirmado nas placas do ambiente do período de inverno do produtor M, nas do produtor G no verão e nas tábuas do produtor M no verão, requerem maior atenção, pois sua presença indica a necessidade de medidas de controle. Uma vez que se trata de um patógeno com capacidade de formar esporos, altamente resistente a calor e medidas de controle microbiológico, como a luz UV, conseguindo aderir a superfícies, como as tábuas, onde foi encontrado. Além do mais, *B. cereus* está relacionado com casos frequentes de doenças veiculadas por alimento (Huang; Flint; Palmer, 2020; Shemesh; Ostrov, 2020).

A temperatura do ambiente pode influenciar na microbiota do ar, mas neste experimento, não houve temperaturas médias superiores a 23,7°C, o que pode ter colaborado com o fato de não ter havido diferença estatística nas contagens entre os diferentes períodos de análise. Contagens superiores de microrganismos mesófilos aeróbios, em relação à contagem de bolores e leveduras é esperada, uma vez que a aerodinâmica das células bacterianas ao se deslocarem no ar, favorecem sua deposição em placas de Petri expostas no ambiente (Kang; Frank, 1989). No trabalho realizado por Silva *et al.* (2014), temperaturas acima de 25,8°C proporcionaram maior crescimento em placas de sedimentação com meios de cultura para aeróbios mesófilos e fungos e leveduras expostas em ambiente de produção de alimentos, uma vez que a temperatura de 25°C seria ideal para estes grupos de microrganismos.

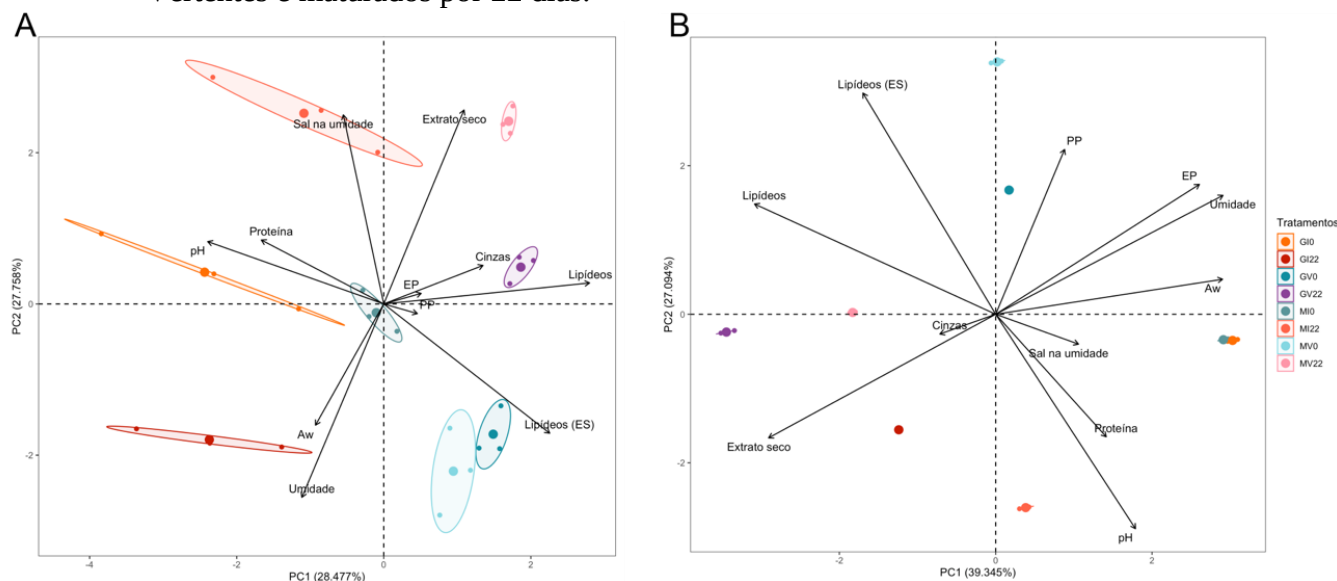
4.5 Análises físico-químicas dos queijos

Para a análise da físico-química das frações dos queijos minas artesanais, casca e centro, produzidos na região do Campo das Vertentes, uma análise multivariada foi realizada. A análise de componentes principais (PCA) demonstrou de forma intuitiva os dados apresentados nas Tabela 7 e 8 (Apêndice A e B). Cada tratamento é representado na forma de elipse (Figura 6).

Para a avaliação da casca do queijo foram observadas variações ocorridas em três componentes, PC1, PC2 e PC3, o qual explicam, respectivamente, 28,47%, 27,76% e 14,54%, totalizando 70,78% dos dados avaliados. Dessa forma, as variáveis lipídios, lipídios no extrato seco, pH e cinzas, foram responsáveis pela separação ocorrida no PC1, portanto esses componentes se relacionam com o processo de lipólise ao longo da maturação. Dessa maneira observou-se que os valores médios dessas variáveis foram significativamente influenciados pelo período de maturação, unidade de produção e principalmente pela estação do ano ($p < 0,05$). A maturação leva a redução da umidade dos queijos, logo, como consequência, os componentes sólidos, como gorduras e cinzas também terão seu percentual afetados ao longo da maturação do QMA (Figueiredo, 2018).

As cascas do queijo produzido no verão possuem maior valor de lipídeos quando comparados aos produzidos no inverno. Além disso, essa diferença também foi observada entre os produtores que utilizam madeira diferentes para a maturação. Durante a maturação ocorre um processo de transformações bioquímicas na composição dos ácidos graxos que acarretam diferenças na qualidade sensorial dos queijos, sendo que a gordura no leite é considerado o constituinte que passa por maior variação, pois sofre influencia de múltiplos fatores, relacionados ao rebanho, como genéticos, de manejo, nutricionais e ambientais, impactando na despadronização no teor de lipídeos do queijo, podendo ter maior teor de gordura no período de chuva (Leão *et al.*, 2020; Oliveira *et al.*, 2013). Ademais, a utilização da madeira na fase de maturação favorece o desenvolvimento da casca e realça as qualidades sensoriais e características típicas dos queijos (Busetta *et al.*, 2024; Grigoli *et al.*, 2015).

Figura 6 - Análise multivariada dos queijos minas artesanais produzidos no Campo das Vertentes e maturados por 22 dias.*



*A) Análise de componentes principais (PCA) da casca do queijo; B) Análise de componentes principais (PCA) do centro do queijo.

Fonte: Da autora (2024).

Em adição a isso, os queijos maturados produzidos durante o verão se mostraram mais ácidos ao final do processo de maturação, independente do produtor e do tipo de madeira utilizado na maturação. Esse tipo de comportamento deve-se principalmente a transição alimentar entre os regimes alimentares e as mudanças na qualidade da pastagem durante a temporada ao ar livre, bem como a genótipo da vaca e na variabilidade do complexo microbiano presente na matéria prima, o qual causa uma influência na composição do leite e consequentemente na qualidade físico-química do queijo (Jesus Filho *et al.*, 2020). Quanto menor o pH, melhor será o controle de bactérias indesejáveis, por desestimular o seu crescimento, através da atuação nas células dos microrganismos ou por favorecer a indissociação de ácidos orgânicos inibidores do crescimento, como o ácido lático e o ácido acético (Possas; Bonilla; Valero, 2021; Wemmenhove *et al.*, 2018).

No inverno foi observado que a acidez diminuiu o que pode ser justificado pelo aumento do pH ao longo do tempo devido a extensão da proteólise (Souza *et al.*, 2014). Figueiredo (2018), inversamente verificou que o pH em QMA de propriedades cadastradas ao IMA em Serra do Salitre, tenderam a reduzir no decorrer de 28 dias de maturação. Alterações nos parâmetros intrínsecos do queijo durante a maturação, como atividade de água e/ou pH, alteram a dinâmica microbiana o que pode ser um fator definitivo no papel antimicrobiano que a microbiota autóctone desempenha, além do mais, a população microbiana predominante, principalmente de BAL, poderá definir sobre estes parâmetros, onde pode sobressair a produção

de ácido láctico durante a fermentação da lactose pelas bactérias do ácido láctico, presentes originalmente no leite e no pingo e o pH, diretamente dependente desta atividade, se elevar por consequência da quantidade dessas culturas bacterianas (Campos *et al.*, 2021; Costa Junior *et al.*, 2019; Gonzales-Barron *et al.*, 2020).

Apesar de diferente do produtor G, este comportamento de elevação do pH, como visto no produtor M no decorrer da maturação, também é esperado em queijos artesanais fermentados por cultura endógena. Achados semelhantes, com o aumento do pH do queijo maturado com cerca de 20 dias, em relação ao queijo que possuía dois dias de produzido, foram encontrados por Costa Junior *et al.* (2019) ao avaliarem o QMA do Campo das Vertentes, podendo ser em razão da lactose residual do produto, que é metabolizada em lactato nas primeiras etapas da maturação, por fungos e leveduras presentes na massa, contribuindo para o aumento no pH do queijo, bem como ser em decorrência da proteólise decorrente da maturação (Baldini, 1998; Fox *et al.*, 1990, 2004; Souza; Ardö; Mcsweeney, 2001).

Quanto ao PC2 foi possível observar que as variáveis umidade, extrato seco e sal na umidade foram responsáveis pelas separações ocorridas, dos quais se relacionam para explicar a perda de água comum no processo de maturação e a concentração dos constituintes (Jesus *et al.*, 2020). Observou-se diferença estatística entre os queijos produzidos em diferentes estações do ano. No processo de cura do queijo produzido no Campo das Vertentes há uma prática de lavar casca do queijo, o que leva a algumas mudanças físico-químicas significativas nessa porção, principalmente no conteúdo de umidade e atividade de água ao final da maturação, de forma que essa prática agrega umidade ao produto. Esse processo leva a um aumento da concentração de sal, principalmente na superfície/casca do queijo, o que desfavorece o crescimento de microrganismos indesejados, principalmente, a presença de *Listeria monocytogenes* (Boldyreva *et al.*, 2016; Tiwari *et al.*, 2014). A difusão do sal está relacionada à umidade do queijo, onde o aumento do teor de sal durante o período de maturação é devido à perda parcial de umidade pela qual o queijo passa. Costa Junior *et al.* (2014) encontraram teor de cloreto de 2,61% no QMA produzido na microrregião do Campo das Vertentes. A variação no percentual deste parâmetro, diferindo entre os produtores e até mesmo em uma mesma produção, se deve a artesanidade do processo, sem padrão resultando em desuniformidade da salga (Moreno, 2013).

Para os queijos minas artesanais, é definido o valor máximo de 45,9g/ 100g de umidade para os queijos maturados. Em ambas as coletas, os queijos dos dois produtores enquadraram-se neste critério. Apesar disso, apenas o queijo maturado na tábua de guatambu seguiu a tendência de perda de umidade em relação às diferentes sazonalidades de forma que os queijos

se apresentam mais úmidos no período seco, quando comparados com o produzido em período chuvoso (Castro, 2019; Costa Júnior *et al.*, 2014; Martins *et al.*, 2015) Esse comportamento foi observado tanto na casca, quanto no centro do queijo.

As variáveis extensão e profundidade da proteólise (EP) foram associadas ao terceiro componente principal (PC3), e estão relacionadas ao processo de proteólise. O processo de proteólise é dividido, em extensão/primária (proteínas são hidrolisadas em peptídeos) e profundidade/secundária (peptídeos são hidrolisados em aminoácidos livres e peptídeos menores), onde o consórcio microbiano auxilia nesse processo, através de agentes proteolíticos, como enzimas microbianas e de lipases presentes no leite (Fox *et al.*, 2017).

A presença de microrganismos, na casca, como *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus parabuchaieri*, *Lactocaseibacillus paracasei*, *Citrobacter freundii*, *Trichosporon coremiiforme*, *Candida parapsilosis* e *Candida catenulata*, *Klebsiella pneumoniae* e *Kocuria* sp, *Staphylococcus saprophyticus*, *Lactiplantibacillus plantarum*, identificados via MALDI-TOF, auxiliaram no processo de proteólise, refletindo no índice de proteólise, de forma que os queijos produzidos pelo produtor G no inverno indicam terem passado por um processo de proteólise completa, ou seja, os agentes proteolíticos, auxiliaram no processo proteólise primária e atingiram aos 22 dias a proteólise secundária ($p < 0,05$).

A proteólise influencia o grau de desenvolvimento da textura e das características sensoriais na maioria das variedades de queijos, por alterações no pH, via formação de NH₃, e por alterações texturais devido à quebra da rede proteica, elevando o pH e levando a maior ligação de água pelos novos grupamentos amínicos e carboxílicos. A caseína em pH mais elevado tem carga líquida negativa e absorve água, criando uma matriz proteica com maior teor de umidade. Relações de variáveis melhor visualizadas entre os parâmetros do produtor G, principalmente no inverno (Baldini, 1998).

No entanto, não foi observado essa mesma dinâmica e correlação de processo nos queijos produzidos pelo produtor M, na mesma estação. Quanto aos queijos produzidos durante a estação de chuva (verão), foi observada que a degradação da proteína (proteólise primária) ocorreu com maior intensidade ao final dos 22 dias no produtor G, do que na casca dos queijos do produtor M, mas não houve diferença na degradação de proteína a nível da proteólise secundária nesse queijos. Os índices de proteólise são favorecidos pela estação chuvosa, pois são mais influenciados por fatores extrínsecos do que os fatores intrínsecos pertinentes a composição dos queijos, como teor de umidade e pH (Costa Júnior *et al.*, 2014). Os *loadings* e as variáveis que contribuem para a construção das dimensões da análise de componentes

principais (PCA) podem ser observados nas Tabelas 9 e 10 (Apêndice D e E) e Figura 8 (Apêndice C).

Apesar da matriz alimentar em questão ser um sistema biológico integrado, os processos bioquímicos no centro do queijo ocorrem de forma diferente dos que ocorrem na casca, principalmente, pela demanda de oxigênio (Choi *et al.*, 2020). A casca do queijo apresenta parâmetros ambientais muito diferentes do centro de forma que afetam as comunidades microbianas e as características bioquímicas (Calasso *et al.*, 2016; Irlinger; Mounier, 2009).

Dessa maneira, houve uma separação diferente das variáveis em três componentes. Para o PC1 explicou cerca de 39% e a integração de eventos bioquímicos foram responsáveis pelas separações ocorridas nesse componente e podem ser verificadas através das variáveis atividade de água, umidade, extrato seco, lipídeos e extensão da proteólise. Já para o PC2 explicou 27,09% e as variáveis lipídeos no extrato seco, pH e profundidade da proteólise foram responsáveis. Quanto ao terceiro componente principal, que explicou 17,13%, as variáveis cinzas e sal na umidade foram responsáveis pela separação neste componente. Dessa maneira, 83,7% dos dados foram explicados pelos três principais componentes (PC1, PC2 e PC3). Mudanças significativas ($p < 0,05$) na atividade de água e umidade foram observadas em todos os tratamentos após o período de maturação. Em geral, a atividade de água diminuiu durante a maturação dos queijos produzidos por diferentes produtores, independente da estação do ano avaliada.

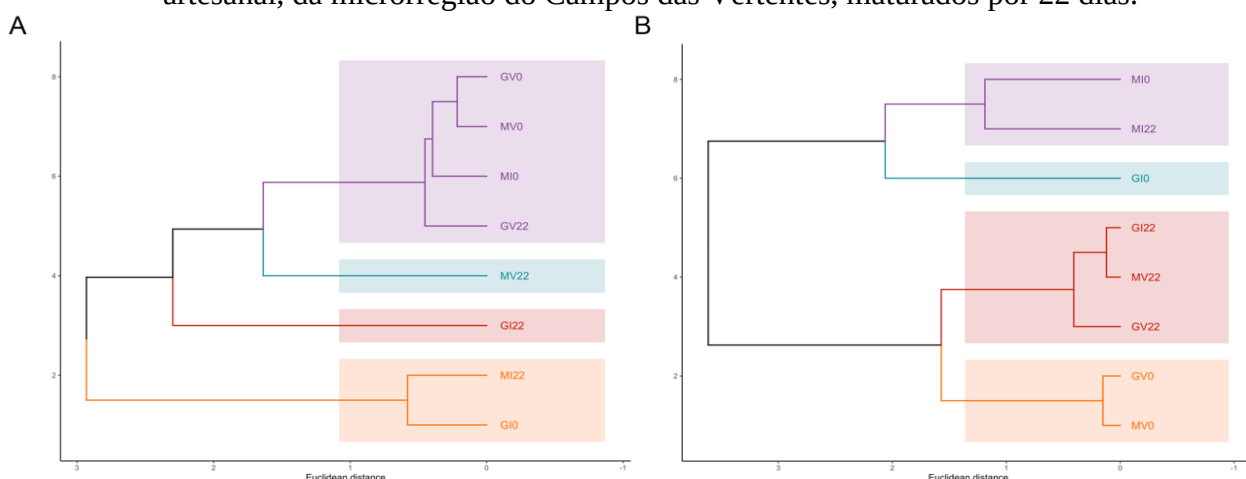
Quanto ao pH, houve um aumento significativo nos queijos produzidos pelo produtor M, quando comparados os queijos recém-fabricado e os maturados. Além disso, observou-se que os queijos maturados produzidos no verão possuem um miolo mais ácido, do que o do inverno, para esse mesmo produtor. Um fator que pode ratificar esse fato é a predominância de *Lactococcus latis* entre os isolados identificados de BAL deste produtor. As BAL desse gênero possuem rápida e considerável capacidade de acidificação, fato necessário durante a fermentação inicial, bem como às suas propriedades de produção do sabor do queijo durante o metabolismo proteico, além de possuírem alta expressão dos genes envolvidos na tolerância ao ácido para favorecer sua atuação em pH ambiental baixo (Mataragas, 2020).

O mesmo comportamento foi observado nos queijos produzidos pelo produtor G, apesar do pH se manter estável ao final da maturação. Essas alterações desencadeiam impactos na atividade de enzimas envolvidas nas transformações bioquímicas, de forma que o centro do queijo passou pelo processo de extensão de proteólise, dos quais os queijos produzidos pelo produtor M foram mais impactados por esse processo, principalmente, no verão, devido a maiores temperaturas predominantes da estação (Aldalur *et al.*, 2019; Kraggerud *et al.*, 2008).

Os *loadings* e as variáveis que contribuem para a construção das dimensões da análise de componentes principais (PCA) podem ser observados na Tabela 9 (Apêndice D) e Figura 8B (Apêndice C).

Na análise de cluster hierárquica (HCA), as amostras são agrupadas em classes de acordo com sua proximidade ou similaridade (Patras *et al.*, 2011), e é mostrada no formato de um dendrograma (Figura 7). Para a casca do queijo são observados quatro grupos, o qual corrobora com a análise de componentes principais (PCA) e com as análises encontrados na Tabela 10 (Apêndice E) e Figura 6. Houve uma separação clara entre os tratamentos, de forma que os tratamentos GV0, MV0, MI0, GV22, concebem um grupo único devido seus conteúdos de cinzas, lipídeos e os processos de proteólise serem parecidos e são representados pela cor roxa. Provavelmente em razão da maturação ter estabelecido em sua dinâmica e processo de proteólise, proporções semelhantes na concentração dos sólidos. O grupo MV22, em azul, possui características semelhantes ao grupo anterior, porém diferem no conteúdo de matéria seca, principalmente. O grupo em vermelho, o GI22, ao final da maturação passou por um processo de acúmulo de água significativamente maior que os outros tratamentos, podendo ser em razão das particularidades adotadas no processo produtivo dessa época do ano, como maior granulometria dos grãos, para maior retenção de umidade ao final da maturação. Já o grupo em amarelo, GI0 e MI22, foram agrupados juntos devido seus maiores valores de proteína e pH semelhantes, fatos que normalmente ocorrem em função da dinâmica da quebra da rede proteica ao logo na maturação, bem como pela produção do grupo amino, responsável pela elevação do pH (Baldini, 1998).

Figura 7 - Análise multivariada de agrupamento hierárquico de diferentes queijos* minas artesanais, da microrregião do Campos das Vertentes, maturados por 22 dias.



*A) Análise de agrupamento hierárquico (HCA) da casca do queijo; B) Análise de agrupamento hierárquico (HCA) do centro do queijo.

Fonte: Da autora (2024).

Quanto à análise de cluster hierárquica (HCA) do centro do queijo, observou-se um agrupamento diferente do observado na casca, onde se observa quatro grupos, validando a análise de componentes principais. O grupo na cor roxa, composto por MI0 e MI22, e na cor verde, GI0, demonstra que o inverno não causou grandes mudanças significativas durante a maturação desse queijo, de forma que esses tratamentos possuem semelhanças quanto ao processo de perda de *Aw*, pH, e o maior conteúdo de proteína dentre os tratamentos. Dessa forma, o grupo em amarelo, GV0 e MV0, apesar de serem de produtores diferentes, compartilham características semelhantes, quanto ao conteúdo de lipídio no extrato seco e no processo de profundidade da proteólise. Logo, observa-se com a separação do grupo em vermelho, representado pelos tratamentos GI22, MV22 e GV22, que a maturação e a sazonalidade foram aspectos transformadores, principalmente quanto ao conteúdo de cinzas e extrato seco. Os constituintes sólidos tendem a aumentar seu percentual ao longo da maturação do QMA (Figueiredo, 2018).

Durante a maturação é esperado que a umidade relativa e a temperatura atuem desidratando os queijos promovendo a concentração dos sólidos, com isso, sob a influência da maturação Costa Junior *et al.* (2019) quando trabalhou com QMA do Campo das Vertentes, encontraram *Aw* média de 0,96; 43,41% de umidade e 32,5% de gordura para os queijos frescos. Para os maturados, 0,93 *Aw*; 30,78% de umidade e 38,6% de gordura, após um período de maturação de 22 dias. Em seu trabalho anterior, Costa Junior *et al.* (2014), encontrou valores médios de 0,91 *Aw* e umidade de 35,8%. Neste estudo, tanto para os queijos frescos como maturados, os valores de umidade foram superiores aos trabalhos citados, mas enquadrando-se como queijos de média umidade ($36\% < \text{umidade} < 46\%$), demonstrando que estas variáveis se comportam de forma bastante heterogêneas entre produtores, dentro do produtor, entre períodos do ano e ao longo do tempo de maturação para cada período do ano. Porém, mesmo não sendo significativa a perda de umidade dos queijos em relação às diferentes sazonalidades, os resultados encontrados assemelham-se à tendência observada por outros autores, onde os queijos apresentam-se mais úmidos no período seco, quando comparados com o produzido em período chuvoso.

A análise multivariada dos queijos minas artesanais produzidos na região dos Campos das Vertentes destacou a influência significativa das estações do ano na composição físico-química, particularmente nas frações de casca e centro. Através da Análise de Componentes Principais (PCA) e Análise de Agrupamento Hierárquico (HCA), foi possível discernir padrões distintos relacionados à sazonalidade e práticas de produção. As variações observadas nas variáveis, como lipídeos, umidade, sal, e proteólise, evidenciam a complexidade das

transformações bioquímicas durante a maturação dos queijos. Para além disso, a sazonalidade impacta a transição alimentar das vacas, a qualidade da pastagem e a variabilidade do complexo microbiano na matéria-prima, demonstrando uma interconexão crucial entre os elementos ambientais e a composição do queijo, bem como afeta aspectos sensoriais e a qualidade geral dos queijos.

Dargère *et al.* (2023) estudando queijos artesanais de diferentes regiões, verificou o do Campo das Vertentes como o de menor teor de gordura, média de 23,47% e teor de proteína bruta já foram os mais altos, 20,84%. Costa Junior *et al.* (2019) encontraram média de 27,26% de proteína. Como o leite está sujeito a variações na composição e teor de gordura, em razão da raça e nutrição do animal, assim como por fatores ambientais, ocorre variações na matéria prima que irão refletir no queijo, havendo sido observado neste trabalho significativa influência da sazonalidade nos teores de gorduras dos queijos, pois fatores climáticos são um dos interferentes da composição físico-química (Kamimura *et al.*, 2019; Oliveira; Bravo; Tonial, 2012).

5 CONCLUSÃO

A determinação do perfil microbiológico de queijos, das tábuas de madeira de maturação na superfície, e do ambiente de maturação de duas queijarias, permitiu evidenciar as diferenças entre produtores de uma mesma microrregião, sendo possível identificar 373 isolados e 61 espécies de microrganismos diversos.

Observamos por esse perfil, que os queijos sofrem influência direta do microambiente estabelecido em cada unidade produtora, não sendo apenas a sazonalidade um fator predominante de influência,

A técnica independente de cultivo, MALDI-TOF, confirmou fatos estabelecidos pela contagem microbiológica e os testes bioquímicos que a sucederam, bem como trouxe complementação de resultados, até então não apresentados, como a confirmação de microrganismos contaminantes dos pontos amostrais, como a identificação de *S. aureus* e *E.coli*.

Foi possível observar que as tábuas tendem a refletir contaminantes dos queijos, quando se trata do gênero estafilococos, sejam ou não coagulase positivo, no entanto, esse comportamento não foi observado para outros contaminantes como *E.coli*.

A diversidade de alguns isolados que foram identificados nos queijos, foram também identificados nas tábuas de maturação, sendo que para leveduras e alguns fungos filamentosos, houve maior correlação de isolados identificados do que para BAL.

Houve confirmação da dinâmica microbiana diferenciada entre casca e miolo do queijo, e que a maturação em grande parte dos pontos amostrais foi eficiente em reduzir contagem de microrganismos como os aeróbios mesófilos, mas esse é um fato que também depende de não haver recontaminação ao longo do período de maturação, onde o queijo continua a ser manipulado, o que refletirá as condições higiênico sanitárias do ambiente de maturação. Já a qualidade do ar ambiental, tendeu a se refletir na contagem microbiana do queijo, sendo que nestas análises, a microbiota ambiental sofreu maior influência da estação chuvosa do que do período de seca.

Para os parâmetros físico-químicos, é estabelecido pela legislação o teor de umidade e em ambas as coletas, os queijos dos dois produtores enquadraram-se no critério de umidade mínima exigido, e os demais parâmetros da análise centesimal, demonstraram-se, principalmente, sob influência do período de maturação. Os produtores reagiram de forma diferente aos índices de proteólise, não seguindo a predominância esperada pela sazonalidade,

podendo a diversidade da cultura microbiana de cada produtor ter sido relevante nesta correlação.

REFERÊNCIAS

- ABARQUERO, D.; BODELÓN, R.; FLÓREZ, A. B.; FRESNO, J. M.; RENES, E.; MAYO, B.; TORNADIJO, M. E. Technological and safety assessment of selected lactic acid bacteria for cheese starter cultures design: Enzymatic and antimicrobial activity, antibiotic resistance and biogenic amine production. **LWT**, [s. l.], v. 180, p. 1-10, 2023. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0023643823002888>. Acesso em: 25 jan. 2024.
- ACTIA. **Evaluation et maîtrise du risque microbiologique dans l'utilisation du bois pour l'affinage des fromages**. Paris, France. n. RA 97.31, 2000.
- AĞAGÜNDÜZ, D.; ŞAHİN, T. Ö.; AYTEN, Ş.; YILMAZ, B. *et al.* Lactic acid bacteria as pro-technological, bioprotective and health-promoting cultures in the dairy food industry. **Food Bioscience**, [s. l.], v. 47, p. 106726, jun. 2022.
- ALDALUR, A.; BUSTAMANTE, M.A.; BARRON, L.J.R. Effects of technological settings on yield, curd, whey, and cheese composition during the cheese-making process from raw sheep milk in small rural dairies: Emphasis on cutting and cooking conditions. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 102, n. 9, p. 7813–7825, Set 2019.
- AMARANTE, José Osvaldo Albano do. **Queijos do Brasil e do mundo para iniciantes e apreciadores**. 1. ed. São Paulo: Mescla, 2015. E-book. Disponível em: <https://plataforma.bvirtual.com.br>. Acesso em: 10 jan. 2024.
- ANDRADE, N. J. **Higiene na indústria de alimentos: avaliação e controle da adesão e formação de biofilmes bacterianos**. São Paulo: Varela, 2008. 412 p.
- ANOMALIAS climáticas marcam o outono e inverno no Brasil: Análise feita Climatech internacional Meteum. Revista Campos e negócios. Uberlândia, 08 de abr. de 2023. Disponível em: <https://revistacampoenegocios.com.br/anomalias-climaticas-marcam-o-outono-e-inverno-no-brasil/>. Acesso em: 02 fev. 2024.
- ANTÔNIO, M. B. D.; BORELLI, B. The role of lactic acid bacteria in the safety and quality of Minas artisanal cheeses. **Journal of CandidioTostes Dairy Institute**, [s. l.], v. 75, n. 3, 2021.
- APHA. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard Methods for the Examination of Dairy Product**. Washington, D. C.: American Public Health Association, 2004.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis of the Association of Official Agriculture Chemists**. Washington, 2005. 1141p.
- ATANASSOVA, M.R.; FERNÁNDEZ-OTERO, C.; RODRÍGUEZ-ALONSO, P.; FERNÁNDEZ-NO I.C.; GARABAL, J.I.; CENTENO, J.A. Characterization of yeasts isolated from artisanal short-ripened cows' cheeses produced in Galicia (NW Spain). **Food Microbiol**, [s. l.], v. 53, p.172-181, 2016.

BALDINI, V.L.S. **Proteólise em queijo tipo prato durante a maturação**. 1998. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas)- Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

BANGAR, S. P.; SHARMA, N.; BHARDWAJ, A.; PHIMOLSIRIPOL, Y. Lactic acid bacteria. **Quality Assurance and Safety of Crops and Foods**, [s. l.], v. 14, n. 2, p. 13-31, 2022.

BARTLETT, A.; PADFIELD, D.; LEAR, L.; BENDALL, R.; VOS, M. A comprehensive list of bacterial pathogens infecting humans. **Microbiology**, [s. l.], v. 168, n. 12, p. 1-8, 2022.

BERESFORD, T. P.; FITZSIMONS, N. A.; BRENNAN, N. L.; COGAN, T. M. Recent advances in cheese microbiology. **International dairy journal**, [s. l.], v. 11, n. 4, p. 259-274, 2001.

BEZERRA, J. **Tecnologia da fabricação de produtos do leite**. 1 ed. Guarapuava: Unicentro, 2008.

BLAYA, J.; BARZIDEH, Z.; LAPOINTE, G. Symposium review Interaction of starter cultures and nonstarter lactic acid bacteria in the cheese environment. **J. Dairy Sci.**, [s. l.], v.101, n.4, p.3611-3629, 2018. doi: 10.3168/jds.2017-13345.

BLUMA, A.; CIPROVICA I. Rural research for rural development. Annual 22 **International Scientific Conference Research for Rural Development**, v.1, p.98-101. 2016. doi: 10.1016/0016-7185(76)90039-7

BOGSAN, C. S.; TODORO, S. D. Buffalo Mozzarella Cheese: Knowledge from the East and the West : Abstract. *In: Fermented Foods of Latin America*: CRC Press, p. 62-73, 2017

BOLDYREVA, E. M. HILL, A.; GRFFITHS, M. MARCONE, M. The quality and safety of washed-rind cheeses with a focus on antilisterial protection. **International Dairy Journal**, [s. l.], v. 55, p. 26–37, Abr 2016.

BORELLI, B. M.; LACERDA, I. C. A.; BRANDÃO, L. R.; VIANNA, C. R. *et al.* Identification of Staphylococcus spp. isolated during the ripening process of a traditional Minas cheese. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [s. l.], v.63, n. 2, p. 481-487, 2011.

BRASIL. Portaria n.º 146, de 7 de março de 1996. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. **Diário Oficial da União**, Brasília- DF, 11 mar, 1996.

BRASIL. Resolução N° 7, de 28 de Novembro de 2000. Estabelece os Critérios de Funcionamento e de Controle da Produção de Queijarias, para Seu Relacionamento Junto ao Serviço de Inspeção Federal. Brasília- DF: **Diário Oficial da União**, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto n.º 5.741, de 30 de março de 2006. Regulamenta os arts. 27-A, 28-A e 29-A da Lei n.º 8.171, de 17 de janeiro de 1991, organiza o Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária, e dá outras providências. Brasília: **Diário Oficial da União**, 2006a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto n.º 7216, de 17 de junho de 2010. Dá nova redação e acresce dispositivos ao Regulamento dos arts. 27-A, 28-A e 29-A da Lei n.º 8.171, de 17 de janeiro de 1991, aprovado pelo Decreto n.º 5.741, de 30 de março de 2006, e dá outras providências. Brasília: **Diário Oficial da União**, 2010.

BRASIL. Instrução Normativa n.º 57, de 15 de dezembro de 2011. Estabelece critérios adicionais para elaboração de queijos artesanais. Brasília: **Diário Oficial da União**, 2011.

BRASIL. Instrução Normativa n.º 30, de 07 de agosto de 2013. Permitir que os queijos artesanais tradicionalmente elaborados a partir de leite cru sejam maturados por um período inferior a 60 (sessenta) dias, quando estudos técnico-científicos comprovarem que a redução do período de maturação não compromete a qualidade e a inocuidade do produto. Brasília: **Diário Oficial da União**, 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto n.º 8471, de 22 de junho de 2015. Altera o Anexo ao Decreto n.º 5.741, de 30 de março de 2006, que regulamenta os arts. 27-A, 28-A e 29-A da Lei n.º 8.171, de 17 de janeiro de 1991, e organiza o Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária. Brasília: **Diário Oficial da União**, 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Lei n.º 13.680, de 14 de junho de 2018. Altera a Lei n.º 1.283, de 18 de dezembro de 1950, para dispor sobre o Processo de Fiscalização de Produtos Alimentícios de Origem Animal Produzidos de Forma Artesanal. Brasília: **Diário Oficial da União**, 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Lei n.º 13.860, de 18 de julho de 2019. Dispõe sobre a elaboração e a comercialização de queijos artesanais e dá outras providências. Brasília: **Diário Oficial da União**, 2019.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto n.º 11.099, de 21 de junho de 2022. Regulamenta o art. 10-A da Lei n.º 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei n.º 13.860, de 18 de julho de 2019, para dispor sobre a elaboração e a comercialização de produtos alimentícios de origem animal produzidos de forma artesanal. Brasília: **Diário Oficial da União**, 2022.

BRUMANO, E. C. C. **Impacto do tipo de fermento endógeno na qualidade e tempo de maturação de queijo Minas artesanal produzido em propriedades cadastradas pelo IMA (Instituto Mineiro de Agropecuária) na região do Serro-MG**. 2016. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) -Universidade Federal de Viçosa, Viçosa,. Disponível em: <http://www.locus.ufv.br/handle/123456789/9940> Acesso em: 24 jan. 2024.

BRUNO, LAURA MARIA; CARVALHO, JULIANE DÖERING GASPARIN. **Microbiota Lática de Queijos Artesanais**. Fortaleza: EMBRAPA, 2009.

BUENO, S. Entenda mais sobre o acordo entre Mercosul e UE. **FAZCOMEX**, São Leopoldo, 11 nov. 2023.Comex. Disponível em: <https://www.fazcomex.com.br/comex/acordo-mercosul-e-ue/>. Acesso em 02 fev. 2024.

BUSETTA, G.; GAROFALO, G.; CLAPS, S.; SARDINA, M. T.; FRANCIOSI, E.; ALFONZO, A.; GAGLIO, R. The wooden shelf surface and cheese rind mutually exchange microbiota during the traditional ripening process. **International Journal of Food Microbiology**, [s. l.], v. 409, 110478, p. 1-13, 2024.

BUSH, L. M.; VAZQUEZ-PERTEJO, M. T. Infecções por Proteaeae. In: **MANUAL MSD, Versão para Profissionais de Saúde**. Abr, 2022. Disponível em <https://www.msmanuals.com/pt-br/profissional/doen%C3%A7as-infecciosas/bacilos-gram-negativos/infec%C3%A7%C3%B5es-por-pseudomonas-e-infec%C3%A7%C3%B5es-relacionadas>. Acesso em: 25 jan. 2024

CAETANO, M. H.; SIQUEIRA, J. P. Z.; ANDRADE, D. D.; SOUSA, Á. F. L. D.; RIGOTTI, M. A.; DINIZ, M. O.; ALMEIDA, M. T. G. D. Ação antimicrobiana do gás ozônio em superfícies e na aeromicrobiota. **Acta Paulista de Enfermagem**, [s. l.], v.34, p.1-8, 2021. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/apae/a/qFhctpMz9MMZctrKSCrV6Pm/?format=pdf&lang=en>. Acesso em: 04 fev. 2024.

CALASSO, M.; ERCOLINI, D.; MANCINI, L.; STELLATO, G.; MINERVINI, F.; CAGNO, F. DI; GOBBETTI M. Relationships among house, rind and core microbiotas during manufacture of traditional Italian cheeses at the same dairy plant. **Food Microbiology**, [s. l.], v. 54, p. 115–126, abr. 2016.

CALDEIRA, L.A.; VALENTE, G.L.C; BARBOSA. C.D.; BRAGA, D.E.; MONÇÃO. F, P.; FONSECA, L.M.; SOUZA, M.R; GLORIA, M.B.A. Profile of lactic acid bacteria (MALDI-TOF-MS) and physico-chemical and microbiological characteristics of the raw milk and fresh artisanal cheese from Serra Geral, Minas Gerais, Brazil. **Food Research International**, [s. l.], v. 176, p. 113831, jan. 2024.

CAMARGO, A. C.; COSTA, E. A.; FUSIEGER, A.; FREITAS, R. D. *et al.* Microbial shifts through the ripening of the “Entre Serras” Minas artisanal cheese monitored by high-throughput sequencing. **Food Research International**, [s. l.], v. 139, p. 109803, 2021/01/01/ 2021.

CAMPAGNOLLO, F.B.; GONZALES—BARRON, U.; CADAVEZ, V.A.P ;SANT'ANA, A.S; SCHAFFNER, D.W. Quantitative risk assessment of *Listeria monocytogenes* in traditional Minas cheeses: the cases of artisanal semi-hard and fresh soft cheeses. **Food Control**, [s. l.], v.92, p. 370-379, 2018.

CAMPAGNOLLO, F. B.; PEDROSA, G. T. S.; KAMIMURA, B. A.; FURTADO, M. M. *et al.* Growth potential of three strains of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* in Frescal and semi-hard artisanal Minas microcheeses: Impact of the addition of lactic acid bacteria with antimicrobial activity. **Lwt-Food Science and Technology**, [s. l.], v. 158, p. 8, Mar 2022.

CAMPOS, G.Z.; LACORTE, G.A.; JURKIEWICZ,C.; HOFFMAN, C.; LANDGRAF, M.; FRANCO, B.D.G.M.; PINTO, U.M. Microbiological characteristics of canastra cheese during manufacturing and ripening. **Food Control**, [s. l.], v,121, 107598, p.1-7, 2021.

CANGUSSU, R. **Estudo do tempo mínimo de maturação para segurança do queijo Minas artesanal da Serra Geral**. 2018. Dissertação (Mestrado em Produção Animal)- Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2018.

CARVALHO, B. F.; AVILA, C. L. S.; BERNARDES, T. F.; PEREIRA, M. N. *et al.* Fermentation profile and identification of lactic acid bacteria and yeasts of rehydrated corn kernel silage. **Journal of Applied Microbiology**, [s. l.], v. 122, n. 3, p. 589-600, Mar 2017. Article.

CASTRO, R. D. D. **Queijo minas artesanal fresco de produtores não cadastrados da mesorregião de campo das vertentes – mg: qualidade microbiológica e físico-química em diferentes épocas do ano**. 2015. Dissertação (Mestrado em Veterinária)- Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015. Disponível em: https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/SMOC-9VUJ9C/1/disserta__o_final__renata_dias_de_castro_corrigida.pdf. Acesso em: 04 out. 2022.

CASTRO, M. T. D. **Aspectos legais e produtivos, inocuidade e qualidade microbiológica do queijo minas artesanal produzido em uma propriedade rural de Santa Vitória-MG**. 2019. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)- Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Rio Verde, 2019. Disponível em: <https://repositorio.ifgoiano.edu.br/bitstream/prefix/657/1/Disserta%c3%a7%c3%a3o%20Mariana%20Torres%20de%20Castro.pdf>.

CASTRO, M. T.; BORGES, E. J.; OLIVEIRA, K. A. M.; SILVA, M. O.; GARCIA, L. G. C.; SANTOS, P. A. Evaluation of the innocuousness and microbiological characterization of Minas artisanal cheese produced in Santa Vitória City. **Brazil. Research, Society and Development**, [s. l.], v. 9, n. 7, p. 1-27, 2020.

CAVALHEIRO, R. S. **Aplicação de diferentes técnicas de microscopia para análises da região adesiva em madeira lamelada colada (MLC)**. 2018. Tese (Doutorado em Ciências)- Universidade de São Paulo, São Carlos, 2018

CELIK, O. F., CON, A.H., SAYGIN, H., ŞAHIN, N., TEMIZ, H. Isolation and identification of lactobacilli from traditional yogurts as potential starter cultures(Article). **LWT**, [s. l.], v. 148, p. 111774, 2021.

CHAVES, K.F.; SILVA, N.B.N. da; VIEIRA, T.B.; CRUZ, W.F.da; MARTINS, M.L.; MARTINS, A.D.O. Avaliação microbiológica de ambientes de diferentes laticínios da região de Rio Pomba-MG. **Rev. Inst. Latic. “Cândido Tostes”**, [s. l.], v. 66, n. 380, p.1-15, mai/jun, 2011.

CHOI, J.; LEE, S.I.; RACKERBY, B.; GODDIK, L.; FROJEN, R.; HA, S. D.;KIM, J.H.; PARK, S.H. Microbial communities of a variety of cheeses and comparison between core and rind region of cheeses. **J. Dairy Sci.**, [s. l.], v.103, p. 4026-4042, 2020.

CISLAGHI, F. P. C.; BADARÓ, A. C. L. Dilemas da produção de queijo colonial artesanal do Sudoeste do Paraná. . [s. l.], 23, n. 37, p. 108-124, 2021.

COELHO, A. Í. M.; MILAGRES, R. C. R. M.; MARTINS, J. D. F. L.; AZEREDO, R. M. C. D.; SANTANA, Â. M. C. Contaminação microbiológica de ambientes e de superfícies em restaurantes comerciais. **Ciência & Saúde Coletiva**, [s. l.], v. 15, n.1, p. 1597-1606, 2010.

COSTA JÚNIOR, L. C. G. *et al.* Ripening of artisanal Minas cheese from the "Campo das Vertentes" region and the effects of dry and wet periods. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, [s. l.], v. 69, n. 2, p.111-120, 2014.

COSTA JÚNIOR, L.C.G.; FERNANDES, L.E.; COSTA, R.G.B. *et al.* Evaluation of an alternative for manufacture of artisanal Minas cheese from microregion of Campo das Vertentes, using pasteurized milk and industrial dairy cultures. **Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes**, [s. l.], v.74, p.171-184, 2019.

COTTER, P.D.; ROSS R.P.; HILL C. Bacteriocins - a viable alternative to antibiotics?. **Nat Rev. Microbiol.** [s. l.], v, 11, n, 2, p. 95-105, 2013.

COURA, F.M.; FERREIRA, F.S.; BARBIERI, J.M.; PACIULLI, S.O.D. Minas artisanal cheese produced in the canastra region: production characteristics and water and cheese quality parameters. **Ars veterinaria**, Jaboticabal, v.36, n.2, p. 78-87, 2020

CRUZADO-BRAVO, M. L. M.; BARANCELLI, G. V.; DINI ANDREOTE, A. P.; SALDAÑA, E. *et al.* Occurrence of *Arcobacter* spp. in Brazilian Minas frescal cheese and raw cow milk and its association with microbiological and physicochemical parameters. **Food Control**, [s. l.], v. 109, p. 106904, 2020/03/01/ 2020.

DALMINA, K. A. **Avaliação do período mínimo de maturação para comercialização do queijo artesanal Serrano de Santa Catarina**. 2018. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)- Univesidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2018.

DARGÈRE, A.F.; PINTO, S.M.; ABREU, L.R.; CORREIA, L.F.; SANTOS, D.B.; SILVA, J.G.; MARÇAL, J.O.; BARBOSA, C.A.P.; FARIA, R.A.P.G.; FARIA, P.B. Artisanal Minas cheese parameters associated with regions of origin in Minas Gerais, Brazil. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, [s. l.], v.75, n.3, p.395-406, 2023.

DELLAGLIO, F.; DICKS, L. M. T.; TORRIANI, S. The genus *Leuconostoc*. In: WOOD, B. J. B.; HOLZAPFEL, W. H. **The genera of lactic acid bacteria**. London: Chapman & Hall, 1995.

DIDIENNE, R.; DEFARGUES, C.; CALLON, C.; MEYLHEUC, T. *et al.* Characteristics of microbial biofilm on wooden vats ('gerles') in PDO Salers cheese. **Int. J. Food Microbiol.**, [s. l.], 156, p. 91-101, 2012.

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

EL BAZ, A. H.; EL SHERBINI, M.; ABDELKHALEK, A.; AL-ASHMAWY, M. A. Prevalence and molecular characterization of *Salmonella* serovars in milk and cheese in Mansoura city, Egypt. **Journal of Advanced Veterinary and Animal Research**, [s. l.], v.4, n. 1, p. 45-51, 2017.

ELAFIFY, M.; DARWISH, W. S.; EL-TOUKHY, M.; BADAWY, B. M. *et al.* Prevalence of multidrug resistant *Salmonella* spp. in dairy products with the evaluation of the inhibitory effects of ascorbic acid, pomegranate peel extract, and D-tryptophan against *Salmonella* growth in cheese. **International Journal of Food Microbiology**, [s. l.], v. 364, p. 109534, 2022.

EMATER. EMPRESA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL DO ESTADO DE MINAS GERAIS. **Guia Técnico para Implantação de Boas Práticas de Fabricação em Unidades Produtoras de Queijo Minas**. Belo Horizonte: Sistema OCEMG/SESCOOP-MG. 2009.

EMATER. EMPRESA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL DO ESTADO DE MINAS GERAIS. **Queijo Minas Artesanal: O Programa**. 2022. Disponível em: https://www.emater.mg.gov.br/portal.cgi?flagweb=site_tpl_queijo&id=3299. Acesso em: 14 jul. 2022.

FEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO ESTADO DE MINAS GERAIS. **Artigo - Indicação geográfica e desenvolvimento local**, 2018. Disponível em: <http://www.faemg.org.br/noticias/artigo---indicacao-geografica-e-desenvolvimento-local-d6nokw>. Acesso em: 14 set. 2022.

FIGUEIREDO, R.C. **Perfil socioeconômico de agricultores familiares e caracterização de queijo minas artesanal de Serra do Salitre (MG) em diferentes períodos de maturação e épocas do ano**. 2018. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2018.

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

FOX, P.F.; MCSWEENEY, P.; COGAN, T.; GUINEE, T. **Cheese: chemistry, physics and microbiology**. 3 ed. London: Elsevier, 2004. 617 p.

FOX, P.F.; GUINEE, T.P.; COGAN, T.M.; MCSWEENEY, P.L.H. Microbiology of Cheese Ripening. *In*: **Fundamentals of Cheese Science**. Springer, Boston, MA, p. 333–390, 2017

FRENTE PARLAMENTAR AGROPECUÁRIA. **Decreto regulamenta comercialização de queijos artesanais brasileiros**. Brasília:FPA, 2022. Disponível em: <https://agencia.fpagropecuaria.org.br/2022/06/22/decreto-regulamenta-comercializacao-de-queijos-artesanais-brasileiros/>. Acesso em: 10 ago. 2022.

FRAZÃO, G. F.; PORCY, C.; MOREIRA, N. DE O.; LOPES, R. L.; MOREIRA, D. C.; MENEZES, R. A. DE O.; BARBOSA, F. H. F. Qualidade microbiológica do queijo artesanal tipo “manteiga” comercializado em um município do Amapá. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, [s. l.], v. 13, n. 2, p.5776, fev. 2021.

FURTADO, M. M. **Uso de madeira na maturação de queijos: uma tradição secular a ser respeitada**. 2022. Disponível em: https://www.guialat.com.br/?p=detalhar_noticia&id=4420. Acesso em: 20 out. 2022.

FUKUTOMI, Y.; TANIGUCHI, M. Sensitization to fungal allergens: Resolved and unresolved issue. **Allergology International**, [s. l.], v. 64, p. 321-331, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1323893015001161?via%3Dihub>. Acesso em: 28 jan. 2024.

GAGLIO, R.; BUSETTA, G.; GANNUSCIO, R.; SETTANNI, L. *et al.* A Multivariate Approach to Study the Bacterial Diversity Associated to the Wooden Shelves Used for Aging Traditional Sicilian Cheeses. **Foods**, [s. l.], v.11, n. 2, p. 1-14, 2022.

GAGLIO, R.; TODARO, M.; SETTANNI, L. An overview of the microbiological characteristics of the wooden shelves used in cheese ripening. **Italian Journal of Dairy Science and Technology**, [s. l.], v.72, n. 4, p. 51-56, 2022.

GARCIA-GUTIERREZ, E.; MAYER, M.J.; COTTER, P.D.; NARBAD, A. Gut microbiota as a source of novel antimicrobials. **Gut Microbes**, [s. l.], v.10, n. 1, p. 1-21, 2019.

GÉRARD, A.; EL-HAJJAJI, S.; NIYONZIMA, E.; DAUBE, G.; SINDIC, M. Prevalence and survival of *Listeria monocytogenes* in various types of cheese – a review. **Int. J. Dairy Technol.**, [s. l.], v. 71, n. 4, p.825-843, 2018.

GRIGOLI, A. DI; FRANCESCA, N.; GAGLIO, R.; GUARRASI, V.; MOSCHETTI, M.; SCATASSA; SETTANNI, L.; ML; BONANNO, A. The influence of the wooden equipment employed for cheese manufacture on the characteristics of a traditional stretched cheese during ripening. **Food Microbiology**, [s. l.], v. 46, p. 81-91, 2015.

GRUJOVIĆ, M. Ž.; MLADENOVIĆ, K. G.; SEMEDO-LEMSADDEK, T.; LARANJO, M. *et al.* Advantages and disadvantages of non-starter lactic acid bacteria from traditional fermented foods: Potential use as starters or probiotics. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, [s. l.], v. 21, n. 2, p. 1537-1567, 2022. Review.

HANSEN, C. H. **O impacto das NSLAB na qualidade dos queijos**. Indústria de Laticínios, Ano XXI, p. 24 – 27, 2017.

HARBUTT, J. **O livro do queijo**. 1 ed. São Paulo: Globo Estilo, 2010.

HOSKEN, B.O.; PEREIRA, G.V.M.; LIMA, T.T.M.; RIBEIRO, J.B.; JUNIOR MAGALHÃES, W.C.P; MARTIN, J.G.P. Underexplored Potential of Lactic Acid Bacteria Associated with Artisanal Cheese Making in Brazil: Challenges and Opportunities. **Fermentation**, [s. l.], v.9 n.409, p.1-18, 2023.

HUANG, Y.; FLINT, S.H.; PALMER, J.S. *Bacillus cereus* spores and toxins- The potential role of biofilms. **Food Microbiology**, [S.L.], v.90, p. 103493, set. 2020.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Estado de Minas Meso e microrregiões do IBGE**. 2010. Disponível em: https://www.mg.gov.br/sites/default/files/paginas/arquivos/2016/ligminas_10_2_04_listameso_micro.pdf . Acesso em: 02 out. 2022.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Panorama**. 2021.

Disponível em:

<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mg/pesquisa/18/16459?tipo=ranking&localidade1=316250>.

Acesso em: 07 nov. 2022.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ – IAL. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**.

Métodos físico-químicos para análises de alimentos 4. ed. Rio de Janeiro, 2008. 1020 p.

IMA, INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria nº 523, de 3 de julho de 2002. **Dispõe sobre as condições higiênico-sanitárias e boas práticas na manipulação e fabricação do queijo minas artesanal**. Belo Horizonte: INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA, 2002a.

IMA, INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria nº 518, de 14 de junho de 2002. **Dispõe sobre requisitos básicos das instalações, materiais e equipamentos para fabricação do queijo minas artesanal**. Belo Horizonte: INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA, 2002b.

IMA, INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria nº 1022, de 10 de novembro de 2009. **Identifica a Microrregião do Campo das Vertentes**. Belo Horizonte: INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA, 2009.

IMA, INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria nº 1305, de 30 de abril de 2013. **Estabelece diretrizes para a produção do queijo minas artesanal**. Belo Horizonte: INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA, 2013.

IMA, INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria nº 1920, de 15 de maio de 2019. **Identifica a região do Campo das Vertentes como produtora de café**. Belo Horizonte: INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA, 2019.

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**. Belo Horizonte: INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA, 2021a.

IMA, INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria nº 2051, de 07 de abril de 2021. **Define o período de Maturação do Queijo Minas Artesanal produzido nas microrregiões de Araxá, Campo das Vertentes, Canastra, Cerrado, Serra do Salitre, Serro e Triângulo Mineiro**. Belo Horizonte: Instituto Mineiro de Agropecuária, 2021b.

IMA, INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. **Queijos Artesanais**. Belo Horizonte. 2022. Disponível em: <http://www.ima.mg.gov.br/agroindustria/queijos-artesanais>. Acesso em: 02 out. 2022.

IMHOF, R.; SCHWENDIMANN, L.; SCETTRINI, P. R. Sanitising wooden boards used for cheese maturation by means of a steam-mediated heating process. **Journal of Consumer Protection and Food Safety**, [s. l.], 12, n. 3, p. 255-263, 2017.

INSTITUTO DE PESQUISA TECNOLÓGICA- IPT. **Informações sobre madeiras- Pau-marfim**. Disponível em: <https://madeiras.ipt.br/pau-marfim/>. Acesso em: 16 jan. 2024a.

INSTITUTO DE PESQUISA TECNOLÓGICA- IPT. **Informações sobre madeiras-Muiracatiara** Disponível em: <https://madeiras.ipt.br/muiracatiara/>. Acesso em 16 jan. 2024b.

IRLINGER, F.; MOUNIER, J. Microbial interactions in cheese: implications for cheese quality and safety. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 20, n. 2, p. 142–148, Abr. 2009. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958166909000287>. Acesso em: 20 jan. 2024.

ISMAIL, R; AVIAT, F; GAY-PERRET, P; LE BAYON, I; FEDERIGHI, M; MICHEL; V. An assessment of *L. monocytogenes* transfer from wooden ripening shelves to cheeses: Comparison with glass and plastic surfaces. **Food Control**, [s. l.], v. 73, p.273- 280, 2017.

JAY, J. M. **Microbiologia dos Alimentos**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

JESUS FILHO, J.C. DE; SILVA, GONÇALVES, G.J.; BEN-HUR R.. F.; SOUZA, M.R. DE; SANTOS, L.S. O; FERRÃO, S. P. B. Quick Identification of the Time of Maturation of Artisanal Minas Cheese by FTIR-ATR Spectroscopy and Multivariate Techniques. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [s. l.], v.31, n. 10, p.2000 – 2011, 2020.

KAMIMURA, B. A.; MAGNANI, M.; LUCIANO, W. A.; CAMPAGNOLLO, F. B. *et al.* Brazilian Artisanal Cheeses: An Overview of their Characteristics, Main Types and Regulatory Aspects. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, [s. l.], v. 18, n. 5, p. 1636-1657, 2019.

KANG, Y.J.; FRANK, F.J. Biological aerosols: a review of airborne contamination and its measurement in dairy processing plants. [s. l.], 52, n. 7, p. 512-524, jul. 1989.

KOHL, G.; SANTOS, M. M. P. D.; BERTONCELO, G.; VOLPI, L. M.; PALAORO, J. S.; WINK, C. M.; ARAÚJO, C. S. R. Contaminação bacteriana por *kocuria rosea* em concentrado de plaquetas por aférese. **Hematology, Transfusion and Cell Therapy**, [s. l.], v. 43, S410, 2021.

KRAGGERUD, H.; SKEIE, S.; HOY, M.; ROKKE; L. Season and ripening temperature influence fatty acid composition and sensory properties of semi-hard cheese during maturation. **International Dairy Journal**, [s. l.], v. 18, n. 8, p. 801–810, 2008.

LEÃO, G.S.; SILVA, L. S.; MADEIRA, A. P. C.; QUEIROZ, V. A. V.; PIRES, C. V.; SOUZA, M. R.; SILVA, A. M. Influência da aplicação de revestimento comestível em queijo minas artesanal durante o período de maturação. **Holos**, [S.L.], v.2, p. 10547, 2020.

LIMA, R. **Impasses e Trajetórias Vivenciadas Pelos Produtores Rurais Para Manter uma Cultura Tradicional**. In: Reunião Brasileira de Antropologia, Natal: Unioeste, p. 1-14, 2014.

LUIZ, L.M.P.; CASTRO; R.D.; SANDES, S.H.C.; SILVA, J.G.; OLIVEIRA, L.G.; SALES, G.A.; NUNES, A.C.; SOUZA, M.R. Isolation and identification of lactic acid bacteria from Brazilian Minas artisanal cheese. **CyTA - Journal of Food**, [s. l.], v. 15, n. 1, p.125-128, 2016.

MACEDO JUNIOR, P. A. D. M.; ALMEIDA, M. D. G. D. Programa queijo minas artesanal: certificação, impactos e desafios na sociedade mineira contemporânea. *Igualitária: Revista do Curso de História da Estácio*, [s. l.], v.1, n. 13, 2019.

MACHADO, E. C., FERREIRA, C. L. L. F., FONSECA, L. M., SOARES, F. M.; PEREIRA JÚNIOR, F. N. Características físico-químicas e sensoriais do queijo minas artesanal produzido na região do Serro, Minas Gerais. [s. l.], 24, n. 4, p. 516-521, 2004.

MAGALHÃES-GUEDES, K. T.; BARRETO, T. I.; TAVARES, P.P.L.G.; *et al.* Effect of kefir biomass on nutritional, microbiological, and sensory properties of mango-based popsicles. **International Food Research Journal**, [s. l.], v. 27, n. 3, p. 536-545, 2020.

MAPA. Ministério da Agricultura e Pecuária. **Selo ARTE e Selo Queijo Artesanal**. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/producao-animal/selo-arte-selo-queijo-artesanal/publicacoes-1>. Acesso em: 20 out. 2022.

MARCONDES, D.C. **Desempenho térmico das salas de maturação e sua influência no queijo artesanal**. 2020. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2020.

MARTINS, J. M.; PINTO, M. S.; ARAUJO, R. A. B. M.; CUNHA, L. R. *et al.* Características físico-químicas dos queijos Minas artesanais produzidos na região de Araxá. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Anais do XXI Congresso Nacional de Laticínios, v. 59, n. 339, p. 317-320, 2004.

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

MARTÍN, I.; RODRÍGUEZ, A.; DELGADO, J.; CÓRDOBA, J. J. Strategies for Biocontrol of *Listeria monocytogenes* Using Lactic Acid Bacteria and Their Metabolites in Ready-To-Eat Meat-and Dairy-Ripened Products. **Foods**, [s. l.], v.11, n. 4, 2022. Review.

MATAGARAS, M. Investigation of genomic characteristics and carbohydrates' metabolic activity of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* during ripening of a Swiss-type cheese. **Food Microb.**, [s. l.], v.87, 103392, p. 1-12, 2020.

MATHEUS, C., CAETANO, F. D. N., MORELLI, D. D. D. O.; LABAKI, L. C. Desempenho térmico de envoltórias vegetadas em edificações no sudeste brasileiro. **Ambiente construído**, [S.L.], v. 16, n. 1, p. 71-81, 2016.

MATOS, L. A. I.; ROVERE, R. L. L. Types of regional knowledge protected by institutions under the Canastra designation of origin (MG). **Revista de Economia e Sociologia Rural**, [S.L.], 58, n. 2, p. 1-18, 2020.

MATSUBARA, M. T.; BELOTI, V.; TAMANINI, R.; FAGNANI, R. *et al.* Boas Práticas de Ordenha para redução da contaminação microbiológica do leite no agreste Pernambucano. **Semina: Ciências Agrárias**, [S.L.], v. 32, n. 1, p. 277-282, 2011.

MEDINA-PRADAS, E., PÉREZ-DÍAZ, M. I., GARRIDO-FERNÁNDEZ, A., ARROYO-LÓPEZ, F. N. Review of vegetable fermentations with particular emphasis on processing modifications, microbial ecology, and spoilage. *In: The Microbiological Quality of Food*, p. 211-236, 2017.

MENESES, J. N. C. **Queijo artesanal de Minas – patrimônio cultural do Brasil**. Brasília: Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional – IPHAN, 2006.

MINAS GERAIS. Lei nº 14185, de 31 de janeiro de 2002. Dispõe sobre o processo de produção do Queijo Minas Artesanal e dá outras providências. **Diário do Executivo**, 01 fev. 2002a.

MINAS GERAIS. Decreto n.º 42645, de 05 de junho de 2002. Aprova o Regulamento da Lei n.º 14.185, de 31 de janeiro de 2002, que dispõe sobre o processo de produção de Queijo Minas Artesanal. Belo Horizonte: **Diário do Executivo**, 06 jun. 2002b.

MINAS GERAIS. Decreto n.º 44864, de 01 de agosto de 2008. Altera o Regulamento da Lei n. 14.185, de 31 de janeiro de 2002, que dispõe sobre o processo de produção de Queijo Minas Artesanal. Belo Horizonte: **Diário do Executivo**, 02 ago. 2008.

MINAS GERAIS. Lei n.º 19.492, de 13 de janeiro de 2011. Altera dispositivos da Lei n.º 14.185, de 31 de janeiro de 2002, que dispõe sobre o processo de produção do QMA e dá outras providências. . Belo Horizonte: **Diário do Executivo**, 13 jan. 2011.

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

MINAS GERAIS. Lei n.º 23157, de 18 de dezembro de 2018. Dispõe sobre a Produção e a Comercialização dos Queijos Artesanais de Minas Gerais. Belo Horizonte: **Diário do Executivo**, 19 dez. 2018a.

MINAS GERAIS. Lei n.º 22920, de 12 de janeiro de 2018. Altera a Lei n.º 19.476, de 11 de janeiro de 2011, que dispõe sobre a habilitação sanitária de estabelecimento agroindustrial rural de pequeno porte no Estado e dá outras providências. Belo Horizonte: **Diário do Executivo**, 13 jan. 2018b.

MINAS GERAIS. Decreto n.º 48.024 , de 19 de agosto de 2020. Dispõe sobre a produção e a comercialização dos queijos artesanais de Minas Gerais. Belo Horizonte: **Diário do executivo**, 20 de ago. 2020. . Caderno 1, ano 128, n. 171, p. 1. Disponível em: <http://jornal.iof.mg.gov.br/xmlui/handle/123456789/237554>. Acesso em: 14 jul. 2022.

MONTEIRO, R.; CHAVES, A. **Tradição e estatuto: queijo Minas artesanal, histórico, legislação e pesquisa**. Brasília: EMBRAPA: 15-34 p. 2018.

MONTEIRO, R. P.; MATTA, V. M. **Queijo Minas Artesanal: Valorizando a agroindústria Familiar**. Brasília: EMBRAPA. 2018.

MONTIBUS,M; ISMAÏL, R; MICHEL,V.; FEDERIGHI, M; AVIAT, F.; LE BAYON, I. Assessment of *Penicillium expansum* and *Escherichia coli* transfer from poplar crates to apples. **Food Control**, [S.L.], v. 60, p. 95-102, 2016.

MORENO, V.J. **Caracterização física e físico-química do queijo minas artesanal da microrregião Campo das Vertentes**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados)- Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2013.

MORESCHI, J.C. **Propriedades da madeira**. 4 ed. Curitiba: Ciências agrárias da UFPR, 2012. 208p

NERES, L. L. F. G.; NERES, J. C. I. Resistência microbiana em cepas de *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* isoladas de queijo artesanal no município de Guaraí-Tocantins, Brasil. **Revista Novos Desafios**, [S.L.], v. 3, n. 1, p. 86-103, 2023.

OGAKI, M.P.; FURLANETO,M.C.; MAIA, L.F. Revisão: Aspectos gerais das bacteriocinas, **Brazil. Journal of Food Tech.**, [S.L.], v.18,n.4, p.267-276, out./dez. 2015.

OLIVEIRA, D.F. **Estudo da interferência da sazonalidade na Composição centesimal e qualidade microbiológica de queijos coloniais**. 2011. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnólogo de Alimentos)- Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão. 2011.

OLIVEIRA, C. J. B.; HISRICH, E. R.; MOURA, J. F. P.; GIVISIEZ, P. E. N.; COSTA, R. G.; GEBREYES, W. A. On farm risk factors associated with goat milk quality in Northeast Brazil. **Small Ruminant Research**, [S.L.], v. 98, n. 1-3, p. 64-69, 2011.

OLIVEIRA, D.F.; BRAVO, C.E.C.; TONIAL, I.B. Sazonalidade como fator interferente na composição físico-química e avaliação microbiológica de queijos coloniais. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, [S.L.], v.64, n.2, p.521-523, 2012

OLIVEIRA, D.F. DE; PORTO, M. A.C.; BRAVO, C.E.C.; TONIAL, I.B. Physical-chemical characterization of minas handmade cheeses produced in microregions different of Minas Gerais. **Revista Brasileira de Economia Doméstica**, [S.L.], v. 24, n.2, p. 185-196, 2013.

OLIVEIRA, L.G. **caracterização microbiológica e físico-química durante a maturação em diferentes épocas do ano de queijo minas artesanal de produtores cadastrados da mesorregião de Campo das Vertentes–MG**. 2014. Mestrado (Escola de Veterinária) - Universidade Federal de Minas Gerais, BeloHorizonte, 2014 .

PATRAS, ANKIT; BRUNTON,N.P.;DOWNEY, G. *et al.* Application of principal component and hierarchical cluster analysis to classify fruits and vegetables commonly consumed in Ireland based on in vitro antioxidant activity. **Journal Of Food Composition And Analysis**, [s.l.], v. 24, n. 2, p.250-256, mar. 2011. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2010.09.012>.

PENNA, A. L. B.; GIGANTE, M. L.; TODOROV, S. D. Artisanal Brazilian Cheeses—History, Marketing, Technological and Microbiological Aspects. **Foods**, [S.L.], v. 10, n. 7, p. 1562, 2021.

PEREIRA, D. B. C.; SILVA, P. H. F.; OLIVEIRA, L. L.; COSTA JÚNIOR, L. C. G. **Físico-química do leite e derivados: métodos analíticos**. 2. ed. Juiz de Fora: Oficina de Impressão Gráfica e Editora, 2001.

PEREIRA, D. A.; PAIVA, P. H. C.; MAGALHÃES, F. A. R.; COSTA, A. F. G. D. Avaliação dos processos de higienização em queijarias artesanais da região da Serra da Canastra. Belo Horizonte: **Informe Agropecuário Epamig**, [S.L.], v. 34, p. 60-67, 2013.

PEREIRA, M.T.; SANTANA, E.H.W.; SANTOS, J.S. Importance of Lactic Acid and Nonstarter Bacteria (NSLAB) in Dairy Derivatives Production Technology. **Ensaio**, [S.L.], v.24, n.4, p. 348-352, 2020.

PEREIRA, F. **Avaliação do potencial probiótico e tecnológico de bactérias lácticas isoladas de queijo minas artesanal da região da canastra**. 2022. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola)- Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2022.

PERIN, M.;SARDARO, S.M.L.; NERO, L.A.; NEVIANI, E.;GATTI, M. Bacterial ecology of artisanal Minas cheeses assessed by culture dependent and -independent methods. **Food Microbiology**, [S.L.], v. 65, p. 160-169, 2017.

PERRY, K. S. P. Cheese: Chemical, biochemical and microbiological aspects. **QUIMICA NOVA**, v. 27, n. 2, p. 293-300, 2004.

PINTO, M. S.; FERNANDES, A.; CARVALHO, D.; DOS, A. C. *et al.* Survival of *Listeria innocua* in Minas Traditional Serro cheese during ripening. **Food Control**, [S.L.], v. 20, n. 12, p. 1167-1170, 2009.

PISSOLATO, R.; ELESBÃO, I. Adesão do Serviço de Inspeção Municipal (SIM) ao Sistema Brasileiro de Inspeção de Produtos de Origem Animal (SISBI-POA): Análise dos efeitos provocados no município de Marau/RS. [S.L.], v.6, n. 2, p. 1-14, 2018.

PLUMED-FERRER, C.; VAKEVAINEN, K.; KOMULAINEN, H.; RAUTIAINEN, M. *et al.* The antimicrobial effects of wood-associated polyphenols on food pathogens and spoilage. **International Journal of Food Microbiology**, [S.L.], v. 166, n. 1, p. 163-163, 2013.

PONTAROLO, G. H.; MELO, F. D. ; MARTINI, C. L. *et al.* Quality and safety of artisan cheese produced in the serrana region of Santa Catarina. **Semina: Ciências Agrárias**, [S.L.], v. 38, n. 2, p. 739-748, 2017.

PORTO, B.C; FUJIMOTO, G.; BORGES, M.F.; BRUNO, L.M., DÖERING, J.; CARVALHO, GASPARIN. Determinantes de virulência em *Enterococcus* endógenos de queijo artesanal. **Revista Ciência Agronômica**, [S.L.], v. 47, n. 1, p. 69-76, jan-mar, 2016.

POSSAS, A.; BONILLA, O.M.; VALERO, A. From Cheese-Making to Consumption: Exploring the Microbial Safety of Cheeses through Predictive Microbiology Models. [S.L.], v. 10, n. 355, p.1-22, 2021.

PUERARI, C.; MAGALHÃES, K. T.; SCHWAN, R. F. New cocoa pulp-based kefir beverages: Microbiological, chemical composition and sensory analysis. **Food Research International**, v. 48, p. 634-640, 2012.

QUIJADA, N.M.; MANN,E.; WAGNER, M.; RODRÍGUEZ-LÁZARO, D.; HERNÁNDEZ, M.;SCHMITZ-ESSER, S. Autochthonous facility-specific microbiota dominates washed-rind Austrian hard cheese surfaces and its production environment. **Int. J. Food Microbiol.**, [S.L.], v. 267, p. 54-61, 2018.

RAFAEL, V. D. C. **Phenotypes of the predominant microflora of the endogenous ferment (pingo) relevant to the characteristics and microbiological safety of artisanal Minas cheese of Serra da Canastra.** 2017.Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimento)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2017. Disponível em: <https://www.locus.ufv.br/handle/123456789/17195>. Acesso em: 07 jan. 2023.

RODRIGUES, A. F.; DA SILVA, J. D. B.; LEPAUS, B. M.; DE SÃO JOSÉ, J. F. B. Avaliação da contaminação microbiológica do ar e de superfícies em uma unidade de alimentação e nutrição. [S.L.], **Brazilian Journal of Development**, v.6, n.9, p.66794-66804, 2020.

RODRIGUES, Istefane Cristina Borges. **Caracterização do Queijo Minas Artesanal Do Cerrado.** 2021. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos)- Universidade Federal de Uberlândia, Patos de Minas, 2021.

RODRIGUES, R. O melhor queijo do mundo é ‘Made in Minas’. Belo Horizonte: Portal do queijo 2022. SANTOS, C. Vai um queijinho aí? Segunda,16, é dia de festejar o Queijo Minas. **Estado de Minas**, Belo Horizonte, 2022a. Economia. Disponível em: https://www.em.com.br/app/noticia/economia/2022/05/13/internas_economia,1366388/vai-um-queijinho-ai-segunda-16-e-dia-de-festejar-o-queijo-minas-artesanal.shtml. Acesso em: 22 fev. 2023.

SÁ, L. F. C. de; MARTINS, J. M.; MARTINS, M. L.; ELLENA, E. A.; DE CÁSSIA MOREIRA, B.; PEREIRA, L. L. C. Qualidade microbiológica do queijo Minas artesanal do Campo das Vertentes Microbiological quality of Campo das Vertentes artisanal Minas cheese. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n.11, p. 110013-110028, 2021.

SALUSTIANO, V. C. **Avaliação da microbiota do ar de ambientes de processamento em uma indústria de laticínios e seu controle por agentes químicos.** 2002. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2002.

SANTOS, P. A.; BEVILACQUA, P. D. Family farming in agroecological transition: a look at the marketing of milk and dairy products in municipalities of the Zona da Mata of Minas Gerais State, Brazil. **Ciência Rural**, [S.L.], v. 49, n. 7, 2019.

SANTOS, M. A. de A. **Characterization of Artisanal Minas Cheese produced in the region of Serra da Canastra: fungal diversity and volatile compounds profile.** 2021.Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2021.

SANTOS, C. **Vai um queijinho aí? Segunda,16, é dia de festejar o Queijo Minas Artesanal.** Estado de Minas Gerais, Belo Horizonte, 13 mai. 2022. Economia. Disponível em: https://www.em.com.br/app/noticia/economia/2022/05/13/internas_economia,1366388/vai-um-queijinho-ai-segunda-16-e-dia-de-festejar-o-queijo-minas-artesanal.shtml. Acesso em: 14 jul. 2022a.

SANTOS, M. J. G. **Influência da concentração de cloreto de sódio (NaCl) e da maturação sobre os aspectos físico-químicos e sensoriais do queijo coalho artesanal obtido no alto sertão sergipano**. 2022b. Monografia (Bacharelado em Agroindústria)- Universidade Federal de Sergipe, Sergipe, 2022b.

SCHEIDEGGER, E.M.D. **Identificação de espécies de *enterococcus* isoladas de queijo minas tipo frescal através da análise do polimorfismo dos fragmentos de restrição de parte do gene 16s rrna amplificado pela pcr**. 2009. Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária) - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2009.

SEAPA. SECRETARIA DE ESTADO DE AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO DE MINAS GERAIS. **Produtora do Campo das Vertentes é a campeã do 13º Concurso Estadual do Queijo Minas Artesanal**. Disponível em: <http://www.agricultura.mg.gov.br/index.php/categorias/story/4610-produtora-do-campo-das-vertentes-e-a-campea-do-13-concurso-estadual-do-queijo-minas-artesanal#:~:text=O%20queijo%20Jacuba%2C%20produzido%20por,Estadual%20do%20Queijo%20Minas%20Artesanal>. Acesso em: 20 set. 2022.

SEIXAS, V.N.C.; FELIX, M.R.; SILVA, G.M.; PERRONE, I.T.; CARVALHO, A.F. Characterization of Marajó's butter-type cheese made in two seasons of the year. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, n. 4, p. 730-736, 2015.

SETTANNI, L.; BUSETTA, G.; PUCCIO, V.; LICITRA, G. *et al.* In-Depth Investigation of the Safety of Wooden Shelves Used for Traditional Cheese Ripening. **Applied and Environmental Microbiology**, [S.L.], v. 87, n. 23, p. 1-23, 2021.

SEVERINO, N. A. Memória De Um Paladar; O Queijo Mineiro E Sua Patrimonialização. . **In: Simpósio Nacional de História Cultural Escritas da História: Ver – Sentir – Narrar**. Teresina: Universidade Federal do Piauí p. 1 -9, 2012. Disponível em: <http://gthistoriacultural.com.br/VIsimposio/anais/Natalia%20Soares%20Severino.pdf>. Acesso em 24 ago. 2022.

SHEMESH, M.; OSTROV, L. Role of Bacillus species in biofilm persistence and emerging antibiofilm strategies in the dairy industry. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [S.L.], v. 10, n. 6, p. 2227-2336, jan. 2020

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H. *et al.* **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4 ed. São Paulo: Varela, 2010. 624 p.

SILVA, MURIELE MULLER DA; MONKS, MARTHA SCHENATTO; MELLO, JOZI FAGUNDES DE; LINDEMANN, IVANA LORAINÉ. **Estudo das condições ambientais e microbiológicas do ar nas áreas de manipulação de restaurantes de Pelotas/RS**. XXI Congresso de iniciação científica de universidade de pelotas, 2014.

SILVA, M. R.; DUCH, A. A. S.; LAGE, R. T. P. D. A.; MENEZES, L. D. M. *et al.* Occurrence of Brucella in Minas artisanal cheese of Serro micro-region: an important public health problem. **Rev. Med. Minas Gerais**, [S.L.], v. 28, n. 5, p. 79-84, 2018.

SILVA, J. G.; CASTRO, R. D.; SANT'ANNA, F. M.; BARQUETE, R. M. *et al.* In vitro assessment of the probiotic potential of lactobacilli isolated from Minas artisanal cheese produced in the Araxá region, Minas Gerais state, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [S.L.], v. 71, n. 02, p. 647-657, 2019.

SILVA, M. A. **Adaptação de Cepas de *Listeria Monocytogenes* aos Óleos Essenciais de Melaleuca, Orégano E Tomilho**. 2021. Monografia (Bacharelado em Nutrição)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2021.

SILVA, R.N.R.da; MARQUES, C.A.T. Processos da maturação em queijos. *In*: Simpósio Online Sulamericano de Tecnologia, Engenharia e Ciência de Alimentos, 1., 2022, Diamantina. **Anais [...]**Online, 2022. Disponível em: <https://www.even3.com.br/anais/tecali2021/442034-PROCESSOS-DA-MATURACAO-EM-QUEIJOS>. Acesso em: 03/02/2024.

SOARES, L.; RODRIGUES, F. Com 25% da produção nacional, MG aposta no queijo como saída para crise e geração de renda. **G1 Sul de Minas**, 20 mai. 2019. Notícia. Disponível em: <https://www.abras.com.br/clipping/geral/67836/com-25-da-producao-nacional-mg-aposta-no-queijo-como-saida-para-crise-e-geracao-de-renda>. Acesso em: 13 jul. 2022.

SOBRAL, D.; TEODORO, V. A. M.; PINTO, M.S. *et al.* Composição físico-química e proteólise dos Queijos Minas Artesanais fabricados nas regiões de Araxá, Canastra e Cerrado. **Informe agropecuário- EPAMIG**, Belo Horizonte, v. 34, n. 273, p. 69-78, 2013.

SOBRAL, D.; COSTA, R. G. B.; PAULA, J. C. J. D.; TEODORO, V. A. M. *et al.* Major defects in artisanal Minas cheese: a review. **Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes**, [S.L.], 72, n. 2, p. 108-120, 2018-02-08 2017.

SOUZA, T.P. DE; EVANGELISTA, S.R.; PASSAMANI, F.R.F; BERTECHINI, R; DE ABREU, L.R.; BATISTA, L.R. Mycobiota of Minas artisanal cheese: safety and quality. **Int. Dairy J.**, [S.L.], v. 120, Article 105085, p.1-8, 2021.

SOUZA, M. J.; ARDÖ, Y.; McSWEENEY, P. L. H. Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. **International Dairy Journal**, [S.L.], v.11, p. 327-345, 2001.

SPINNLER, Henry-Eric. Surface Mold–Ripened Cheeses. *In*: **Cheese**. Academic Press, 2017. p. 911-928.

SUZUKI-IWASHIMA, A.; MATSUURA, H.; IWASAWA, A.; SHIOTA, M. Metabolomics analyses of the combined effects of lactic acid bacteria and *Penicillium camemberti* on the generation of volatile compounds in model mold-surface-ripened cheeses. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Osaka, v. 129, n. 3, p. 333–347, Mar. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1389172319304505>. Acesso em: 25 jan. 2023

TEODORO, V. A. M.; MACHADO, G. D. M.; MIGUEL, E. M.; TEIXEIRA, S. A. *et al.* Importância da implementação de boas práticas na produção de leite para a fabricação de queijos artesanais de Minas Gerais. **Informe agropecuário- EPAMIG**, v. 34, n. 273, p. 17-29, 2013.

TIAN, M.; LIN, K.; YANG, L.; JIANG, B.; ZHANG, B.; ZHU, X.; REN, D.; YU, H. Characterization of key aroma compounds in gray sufu fermented using *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *Mesenteroides* F24 as a starter culture. **Food Chemistry**: x., [S.L.], v. 20, 100881, p.1-11, 2023.

TIWARI, U.; WALSH, D.; RIVAS, L.; JORDÃO, K.; DUFFY, G. Modelling the interaction of storage temperature, pH, and water activity on the growth behaviour of *Listeria monocytogenes* in raw and pasteurised semi-soft rind washed milk cheese during storage following ripening. **Food Control**, [S.L.], v. 42, p. 248–256, 2014.

TORTORELLO, M. L. Indicator organisms for safety and quality-uses and methods for detection: Minireview. **Journal of AOAC International**, [S.L.], v. 86, n. 6, p. 1208-1217, 2003.

VALIMAA, A. L.; HONKALAMPI-HAMALAINEN, U.; PIETARINEN, S.; WILLFOR, S. *et al.* Antimicrobial and cytotoxic knotwood extracts and related pure compounds and their effects on food-associated microorganisms. **International Journal of Food Microbiology**, [S.L.], v. 115, n. 2, p. 235-243, abr. 2007.

VALVERDE, M. Especial Mercosul-UE: Acordo pode favorecer produtos típicos de Minas. **DIÁRIO DO COMÉRCIO**, Belo Horizonte, 2019. Disponível em: <https://diariodocomercio.com.br/agronegocio/acordo-mercossul-ue-favorece-agronegocio/>. Acesso em: 07 out. 2022.

ZANGERL, P.; MATLSCHWEIGER, C.; DILLINGER, K.; ELISKASES-LECHNER, F. Holz als Reifungsunterlage für Käse-Überleben von *Listeria monocytogenes* nach Reinigung und Desinfektion. **European Journal of Wood and Wood Products**, [S.L.], v. 68, p. 415-419, 2010.

ZHENG, J.; WITTOUCK, S.; SALVETTI, E. *et al.* A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, [S.L.], v. 70, n. 4, p. 2782-2858, 2020.

WEMMENHOVE, E.; VALENBERG VAN, H.J.F.; HOOIJDONK VAN, A.C.M.; WELLS-BENNIK, M.H.J.; ZWIETERING, M.H. Factors that inhibit growth of *Listeria monocytogenes* in natureripened Gouda cheese: A major role for undissociated lactic acid. [S.L.],

WOLFSCHOON-POMBO, A. F.; LIMA, A. Extensão e profundidade de proteólise em queijo Minas Frescal. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, [S.L.], Juiz de Fora, v. 44, n. 261/266, p. 50-54, jan./dez. 1989.

XU, Y.; WANG, X.; LIU, X.; LI, X.; ZHANG, C.; LI, W. Discovery and development of a novel short-chain fatty acid ester synthetic biocatalyst under aqueous phase from *Monascus purpureus* isolated from Baijiu. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 338, 128025, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814620318872> . Acesso em: 20 jan. 2024.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Tabela 7 - Parâmetros físico-químicos da casca do queijo minas artesanal produzidos em diferentes fazendas da microrregião da campos das vertentes maturados por 22 dias.¹

Parâmetros físico-químicos	Produtor G				Produtor M			
	Inverno		Verão		Inverno		Verão	
	0	22	0	22	0	22	0	22
Aw	0.98±0.00 ^{Aa**}	0.97±0.00 ^{Ab*}	0.97±0.01 ^{Aa*}	0.96±0.00 ^{Bb*}	0.99±0.00 ^{Aa*}	0.97±0.00 ^{Ab*}	0.98±0.00 ^{Ba*}	0.96±0.00 ^{Bb*}
Extrato seco	52.44±1.49 ^{Aa*}	44.5±1.50 ^{Ba**}	47.63±0.72 ^{Bb*}	58.04±0.14 ^{Aa*}	58.90±0.09 ^{Aa*}	60.66±0.95 ^{Aa*}	51.22±2.10 ^{Aa*}	62.6±0.47 ^{Aa*}
Umidade	48.03±1.01 ^{Aa*}	55.50±3.00 ^{Aa*}	48.77±0.72 ^{Aa*}	41.95±0.13 ^{Ba*}	41.08±0.09 ^{Ba*}	37.38±0.95 ^{Aa*}	52.35±2.10 ^{Aa*}	39.33±0.47 ^{Aa**}
Lipídeos	20.00±2.73 ^{Ba**}	19.00±3.00 ^{Ba*}	30.00±0.00 ^{Aa*}	30.00±0.00 ^{Aa*}	25.50±1.00 ^{Aa*}	28.50±2.00 ^{Aa*}	27.00±0.00 ^{Aa*}	24.00±0.50 ^{Aa*}
Lipídeos (ES)	38.06±2.73 ^{Ba**}	42.51±5.32 ^{Ba*}	59.79±0.393 ^{Aa*}	51.68±0.22 ^{Ab*}	45.8±0.00 ^{Ba*}	39.62±1.77 ^{Aa*}	54.68±2.413.92 ^{Aa*}	44.72±0.33 ^{Ab*}
Cinzas	2.09±1.54 ^{Aa*}	2.97±0.29 ^{Aa*}	2.69±0.04 ^{Aa**}	2.82±0.03 ^{Aa**}	2.54±0.08 ^{Ba*}	3.50±0.03 ^{Aa*}	4.16±0.10 ^{Aa*}	4.53±0.04 ^{Aa*}
Proteína	21.05±2.15 ^{Aa*}	19.95±0.36 ^{Aa*}	16.43±0.36 ^{Aa*}	15.71±0.15 ^{Aa*}	13.50±0.70 ^{Ab**}	24.03±7.97 ^{Aa*}	19.64±0.72 ^{Aa*}	18.50±0.00 ^{Aa*}
pH	6.70±0.04 ^{Aa*}	6.47±0.04 ^{Aa**}	5.56±0.02 ^{Ba*}	5.40±0.02 ^{Ba*}	6.59±0.02 ^{Aa*}	6.74±0.09 ^{Aa*}	5.11±0.06 ^{Bb**}	5.49±0.00 ^{Ba*}
Sal na umidade	3.21±0.86 ^{Aa*}	1.97±0.13 ^{Ab**}	2.15±0.34 ^{Ba*}	2.62±0.23 ^{Aa*}	2.30±0.13 ^{Ab*}	3.42±0.30 ^{Aa*}	2.00±0.18 ^{Aa*}	3.21±0.04 ^{Ab*}
Extensão da proteína (EP)	15.40±1.37 ^{Aa*}	9.14±0.27 ^{Bb*}	12.34±2.16 ^{Aa*}	14.03±2.83 ^{Ba*}	10.21±2.79 ^{Ba**}	11.76±0.34 ^{Aa*}	14.03±2.63 ^{Aa*}	11.70±0.75 ^{Aa*}
Profundidade da proteína (PP)	9.60±1.75 ^{Aa*}	6.57±0.77 ^{Ab**}	8.87±0.31 ^{Aa*}	7.70±0.53 ^{Aa*}	8.51±0.40 ^{Aa*}	9.70±3.70 ^{Aa*}	10.57±2.57 ^{Aa*}	8.00±1.03 ^{Aa*}

¹Média±Desvio padrão são apresentados. Letras maiúsculas apresentam diferença estatística pelo teste T- Student (p<0.05) quando avaliam a influência das estações do ano sob o produtor e o tempo. Letras minúsculas apresentam diferença estatística pelo teste T- Student (p<0.05) quando avaliam a influência dos tempos de maturação sob o produtor e as estações do ano. Os asteriscos apresentam diferença estatística pelo teste T- Student (p<0.05) quando avaliam a influência do produtor sob o as estações do ano e o tempo de maturação do queijo. 0= Queijo Fresco; 22= Queijo maturado por 22 dias.

Fonte: Da autora (2024).

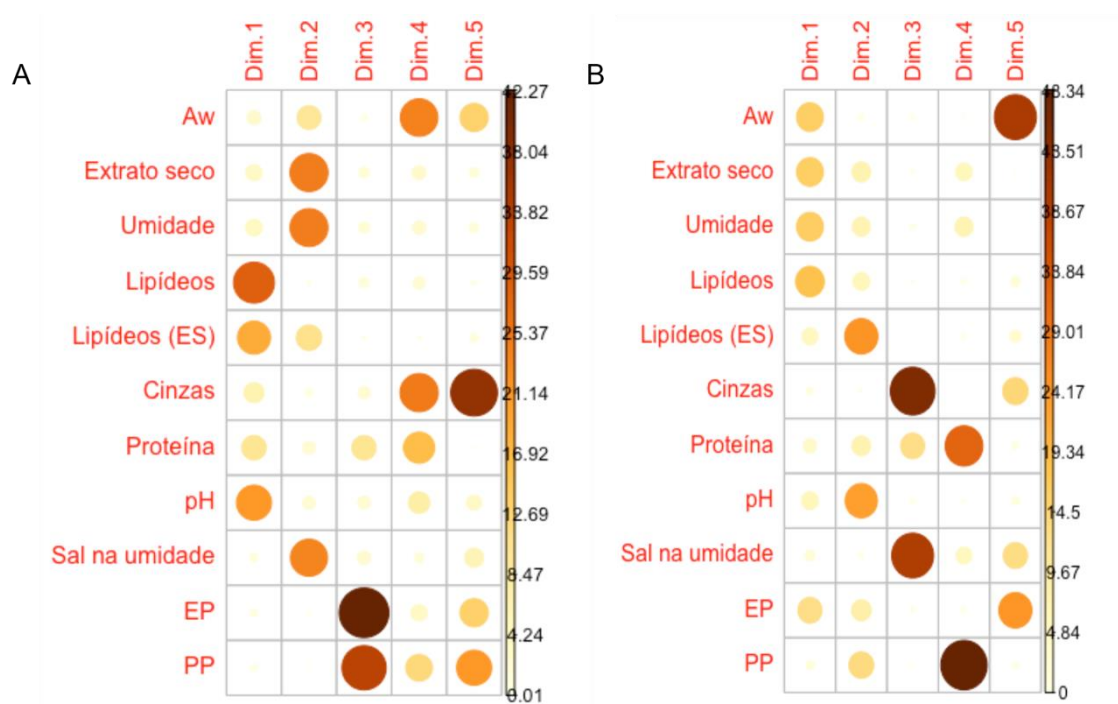
APÊNDICE B - Tabela 8 - Parâmetros físico-químicos do centro do queijo minas artesanal produzido em diferentes fazendas da microrregião da campus da vertentes maturados por 22 dias.¹

Parâmetros físico-químicos	Produtor G				Produtor M			
	Inverno		Verão		Inverno		Verão	
	0	22	0	22	0	22	0	22
Aw	0.98±0.00 ^{Aa*}	0.97±0.00 ^{Ab*}	0.97±0.00 ^{Ba*}	0.96±0.00 ^{Bb*}	0.98±0.00 ^{Aa*}	0.97±0.00 ^{Ab*}	0.98±0.00 ^{Aa**}	0.96±0.00 ^{Bb*}
Extrato seco	48.56±0.00 ^{Ba*}	59.25±0.00 ^{Bb*}	52.24±0.00 ^{Ab*}	63.21±0.00 ^{Aa*}	44.34±0.00 ^{Bb**}	60.78±0.00 ^{Aa*}	49.00±0.00 ^{Ab**}	58.91±0.00 ^{Aa*}
Umidade	51.43±0.00 ^{Aa*}	40.74±0.00 ^{Ab*}	47.76±0.00 ^{Ba**}	36.78±0.00 ^{Bb**}	56.66±0.00 ^{Aa*}	39.21±0.00 ^{Ab*}	50.99±0.00 ^{Ba*}	41.08±0.00 ^{Ab*}
Lipídeos	19.00±0.00 ^{Bb*}	26.00±0.00 ^{Ba*}	28.00±0.00 ^{Ab*}	34.00±0.00 ^{Aa*}	18.00±0.00 ^{Bb*}	22.00±0.00 ^{Ba**}	30.00±0.00 ^{Aa*}	28.00±0.00 ^{Aa**}
Lipídeos (ES)	39.12±0.00 ^{Ba*}	43.88±0.00 ^{Ba*}	53.59±0.00 ^{Aa**}	53.78±0.00 ^{Aa*}	40.59±0.00 ^{Ba*}	36.20±0.00 ^{Ba**}	61.22±0.00 ^{Aa*}	47.53±0.00 ^{Ab*}
Cinzas	0.98±0.00 ^{Bb**}	2.60±0.00 ^{Aa**}	2.47±0.00 ^{Aa**}	2.79±0.00 ^{Aa**}	4.02±0.00 ^{Aa*}	3.84±0.00 ^{Aa*}	3.30±0.00 ^{Ba*}	3.84±0.00 ^{Aa*}
Proteína	17.80±0.00 ^{Aa*}	13.50±0.00 ^{Aa**}	17.14±0.00 ^{Aa*}	15.36±0.00 ^{Aa*}	22.30±0.00 ^{Aa*}	32.40±0.00 ^{Aa*}	16.43 ±0.00 ^{Aa*}	13.93±0.00 ^{Ba*}
pH	6.51±0.00 ^{Aa*}	6.61±0.00 ^{Aa*}	5.44±0.00 ^{Ba*}	5.48±0.00 ^{Ba*}	6.51±0.00 ^{Ab*}	6.83±0.00 ^{Aa*}	5.02±0.00 ^{Bb**}	5.56±0.00 ^{Ba*}
Sal na umidade	1.94±0.00 ^{Aa**}	2.45±0.00 ^{Ab*}	2.51±0.00 ^{Ba*}	2.44±0.00 ^{Aa*}	4.32±0.00 ^{Aa*}	2.55±0.00 ^{Aa*}	2.32±0.00 ^{Aa*}	2.92±0.00 ^{Aa*}
Extensão da proteína (EP)	15.09±0.00 ^{Aa*}	10.22±0.00 ^{Ab**}	13.51±0.00 ^{Ba**}	10.32±0.00 ^{Ab**}	15.30±0.00 ^{Aa*}	12.33±0.00 ^{Bb*}	15.20±0.00 ^{Aa**}	13.70±0.00 ^{Ab*}
Profundidade da proteína (PP)	6.39±0.00 ^{Bb**}	6.38±0.00 ^{Ab**}	10.35±0.00 ^{Aa*}	6.40±0.00 ^{Ab*}	9.40±0.00 ^{Aa*}	9.40±0.00 ^{Aa*}	12.50±0.00 ^{Aa*}	7.58±0.00 ^{Ab*}

¹Média±Desvio padrão são apresentados. Letras maiúsculas apresentam diferença estatística pelo teste T- Student (p<0.05) quando avaliam a influência das estações do ano sob o produtor e o tempo. Letras minúsculas apresentam diferença estatística pelo teste T- Student (p<0.05) quando avaliam a influência dos tempos de maturação sob o produtor e as estações do ano. Os asteriscos apresentam diferença estatística pelo teste T- Student (p<0.05) quando avaliam a influência do produtor sob o as estações do ano e o tempo de maturação do queijo. 0= Queijo Fresco; 22= Queijo maturado por 22 dias.

Fonte: Da autora (2024).

APÊNDICE C - Figura 8 - Variáveis que contribuem para a construção das dimensões da análise de componentes principais (PCA) da casca (A) e do centro do queijo (B).



Fonte: Da autora (2024).

APÊNDICE D - Tabela 9 - Resumo dos resultados da análise de componentes principais (PCA) do centro do queijo minas artesanal.

Componentes	<i>Loadings</i>				
	PC1	PC2	PC 3	PC 4	PC 5
Aw	0,836	0,136	0,082	-0,027	-0,517
Extrato seco	-0,837	-0,480	-0,077	0,246	-0,018
Umidade	0,838	0,461	0,103	-0,268	0,020
Lipídeos	-0,889	0,428	-0,043	0,071	-0,114
Lipídeos (ES)	-0,489	0,858	0,035	-0,004	-0,136
Cinzas	-0,206	-0,077	0,922	-0,007	0,309
Proteína	0,408	-0,475	0,493	0,568	-0,081
pH	0,515	-0,832	-0,094	-0,039	-0,095
Sal na umidade	0,306	-0,116	-0,864	0,233	0,298
Extensão da proteína (EP)	0,751	0,504	0,096	0,070	0,406
Profundidade da proteína (PP)	0,254	0,639	-0,044	0,699	-0,071

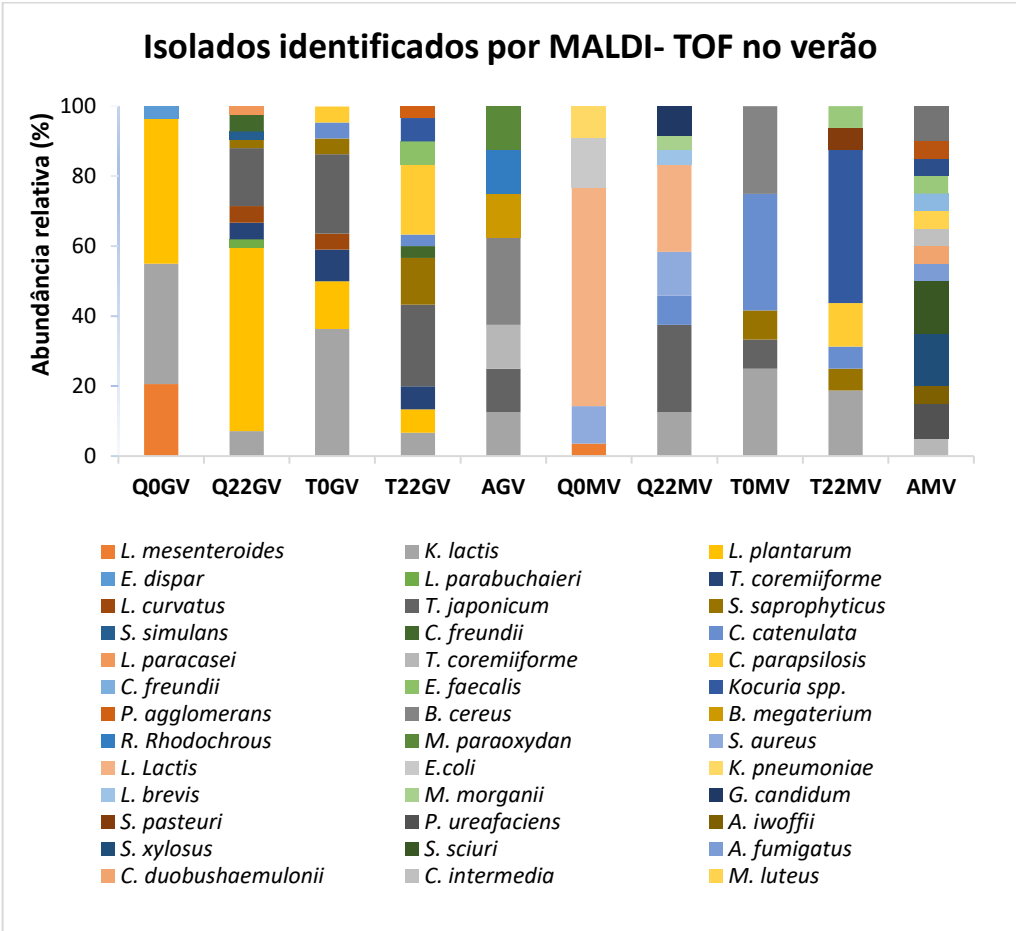
Fonte: Da autora (2024).

APÊNDICE E - Tabela 10 - Resumo dos resultados da análise de componentes principais (PCA) da casca do queijo minas artesanal.

Componentes	<i>Loadings</i>				
	PC1	PC2	PC 3	PC 4	PC 5
Aw	-0,314	-0,543	-0,095	0,595	0,330
Extrato seco	0,370	0,869	-0,172	0,216	0,115
Umidade	-0,377	-0,866	0,182	-0,209	-0,111
Lipídeos	0,948	0,094	-0,165	0,186	-0,052
Lipídeos (ES)	0,764	-0,579	0,015	0,056	-0,100
Cinzas	0,457	0,173	0,199	-0,606	0,549
Proteína	-0,564	0,286	0,401	-0,493	0,023
pH	-0,811	0,279	-0,207	0,336	0,173
Sal na umidade	-0,186	0,847	0,214	0,151	-0,219
Extensão da proteína (EP)	0,172	0,047	0,822	0,252	-0,331
Profundidade da proteína (PP)	0,155	-0,043	0,732	0,422	0,411

Fonte: Da autora (2024).

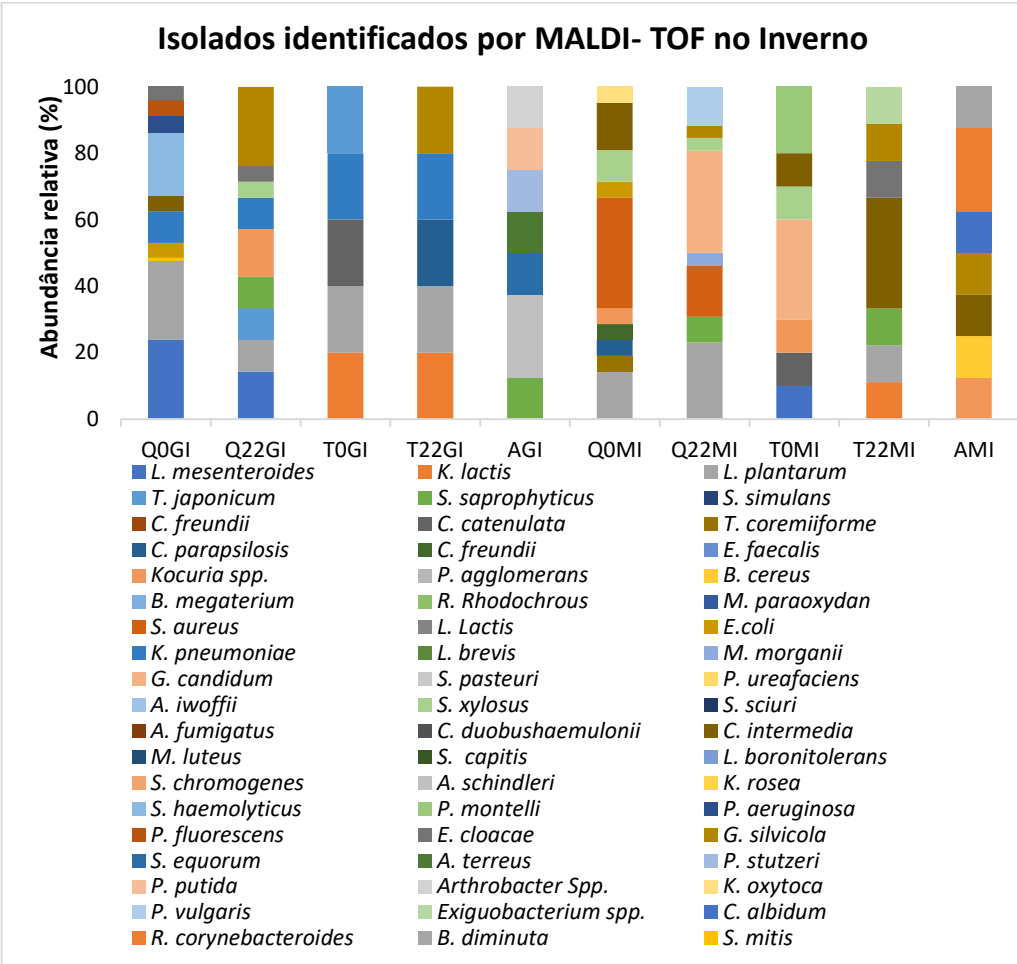
APÊNDICE F - Ampliação da Figura 9A - Isolados identificados por MALDI-TOF, em cada ponto amostral* e tempo de análise (verão e inverno).



*Siglas da legenda- Q:queijo; T: tábua de maturação; G:produtor G; M: produtor; 0: referente ao queijo fresco; 22: referente ao queijo maturado; A: ambiente de maturação; V: verão ou período chuvoso; I: inverno ou período seco.

Fonte: Da autora (2024).

APÊNDICE G - Ampliação da Figura 9B - Isolados identificados por MALDI-TOF, em cada ponto amostral* e tempo de análise (verão e inverno).



*Siglas da legenda- Q:queijo; T: tábua de maturação; G:produtor G; M: produtor; 0: referente ao queijo fresco; 22: referente ao queijo maturado; A: ambiente de maturação; V: verão ou período chuvoso; I: inverno ou período seco.

Fonte: Da autora (2024).