



**SABRINA DE SOUZA NASCIMENTO**

**RESPOSTA DE *Staphylococcus aureus* INOCULADO  
EM QUEIJO ARTESANAL DE MINAS AO  
PROCESSO DE MATURAÇÃO**

**LAVRAS- MG  
2023**

**SABRINA NASCIMENTO DE SOUZA**

**RESPOSTA DE *Staphylococcus aureus* INOCULADO EM QUEIJO  
ARTESANAL DE MINAS AO PROCESSO DE MATURAÇÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Lavras, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Profa Dra Roberta Hilsdorf Piccoli  
Orientadora

Ms. Luiz Claudio Pepe Luz  
Co-orientador

**LAVRAS-MG**

**2023**

## Agradecimentos

### RESPOSTA DE *Staphylococcus aureus* INOCULADO EM QUEIJO ARTESANAL DE MINAS AO PROCESSO DE MATURAÇÃO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Lavras, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

APROVADA em      de dezembro de 2023

Dra. Michelle Carlota Gonçalves      UFLA

Ms Luiz Claudio Pepe Luz      UFLA

Profa Dra Roberta Hilsdorf Piccoli  
Orientadora

Ms. Luiz Claudio Pepe Luz  
Co-orientador

**LAVRAS-MG**

**2023**

## **Agradecimentos**

A Deus por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades.

A Universidade Federal de Lavras pela oportunidade de fazer o curso.

A minha orientadora Profa Dra Roberta Hilsdorf Piccoli, a professora mais incrível que algum dia eu conheci, pelo apoio e confiança.

A Dra. Michelle Carlota Gonçalves e Ms Luiz Claudio Pepe Luz pelo suporte, correção e incentivos na elaboração desse trabalho.

A técnica Eliane por não somente ter me ensinado, mas por ter me feito aprender e por toda paciência e incentivo ao longo do curso.

As minhas famílias pelo amor, incentivo e apoio incondicional.

Ao meu amigo Guilherme pelo companheirismo, cumplicidade e apoio ao longo do curso. Este foi fundamental no meu crescimento.

Aos meus queridos amigos, obrigada por todos os conselhos úteis, bem como palavras motivacionais e puxões de orelha. As risadas que compartilhei durante esse momento difícil na faculdade, também me ajudaram a passar o diaquero.

Aos meus amigos e companheiros de pesquisa do Laboratório de Microbiologia de Alimentos, pelas trocas de conhecimento e pelo ambiente de trabalho leve e alegre.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte de minha formação, o meu muito obrigada.

## RESUMO

Os queijos artesanais de Minas, se diferenciam dos Minas artesanais, pois, diferentes desses eles podem ser fabricados utilizando alguma tecnificação durante seu processamento, como, por exemplo a prensagem mecânica e não manual. Dentre os queijos artesanais de Minas destaca-se o da Mantiqueira de Minas. O queijo artesanal Mantiqueira de Minas, é um queijo artesanal de Minas que também deve ser elaborado com leite de vaca cru e ser submetido ao processo de maturação. Essa deve durar tempo suficiente para eliminar eventuais microrganismos patogênicos que contaminem o queijo em alguma etapa de sua elaboração. Dentre as bactérias que estão mais associadas às toxinoses veiculadas por queijos destaca-se *Staphylococcus aureus*. Sua presença em leite cru é muito comum, porém pode ser encontrada nas mais variadas etapas de produção dos queijos inclusive nos manipuladores. Para se garantir a inocuidade do queijo artesanal de Minas, referente a essa bactéria, o tempo de maturação deve ser adequado. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o comportamento de cepa de *Staphylococcus aureus* inoculado em queijo artesanal de Minas Mantiqueira de Minas logo após a salga, quantificar as bactérias lácticas e acompanhar as alterações no pH e atividade de água ao longo de sua maturação. Foram coletados 6 queijos de 5 kg logo após sua salga em uma propriedade de agricultura familiar da região da Mantiqueira. Os queijos foram subdivididos em 4 partes iguais de forma simulada, (sem divisão física dos queijos), sendo uma parte considerada controle e as outras 3 partes repetições. Em cada repetição, foram inoculadas cerca de  $10^{10}$  UFC/g da cepa de *Staphylococcus aureus* P90 produtora de enterotoxina estafilocócica tipo A, de forma aleatória. Os queijos foram mantidos em câmara de maturação por 42 dias, com amostras analisadas após 0, 7, 21, 28, 35 e 42 dias. Foi observada a queda do número de células viáveis de *S. aureus* P90 durante o período de maturação, com redução de cerca de 6 Log UFC/g, após 21 dias de maturação. O número de bactérias lácticas também apresentou redução durante o período de maturação, cerca de 3 Log UFC/g. Não foi observada alterações expressivas tanto no pH quanto na atividade de água. Os resultados, desse estudo preliminar, mostram que mesmo o queijo sendo de 5 kg, o período de sua maturação poderia ser reduzido em se tratando de *S. aureus*.

**Palavras-chave:** Queijo Artesanal de Minas. Qualidade microbiológica. Toxiinfecção Alimentar. Queijo Artesanal.

## ABSTRACT

Artisanal Minas cheeses differ from artisanal Minas cheeses because, unlike these, they can be manufactured using some technology during their processing, such as mechanical rather than manual pressing. Among the artisanal cheeses from Minas, Mantiqueira de Minas stands out. Mantiqueira de Minas artisanal cheese is an artisanal cheese from Minas Gerais that must also be made with raw cow's milk and subjected to the maturation process. This must last long enough to eliminate any pathogenic microorganisms that contaminate the cheese at some stage of its production. Among the bacteria that are most associated with toxins transmitted by cheese, *Staphylococcus aureus* stands out. Its presence in raw milk is very common, but it can be found in the most varied stages of cheese production, including in handlers. To guarantee the safety of artisanal Minas cheese from this bacteria, the maturation time must be adequate. Thus, the objective of this work was to evaluate the behavior of the *S. aureus* strain inoculated into artisanal cheese from Mantiqueira de Minas shortly after salting, quantify the lactic acid bacteria and monitor changes in pH and water activity throughout its maturation. Six cheeses of the 5 kg were collected shortly after salting on a family farm in the Mantiqueira region. The cheeses were subdivided into 4 equal parts in a simulated way (without physical division of the cheeses), with one part considered control and the other 3 parts being repetitions. In each replication, approximately  $10^{10}$  CFU/g of the *S. aureus* P90 strain that produces staphylococcal enterotoxin type A were inoculated randomly. The cheeses were kept in a ripening chamber for 42 days, with samples analyzed after 0, 7, 21, 28, 35 and 42 days. A drop in the number of viable *S. aureus* P90 cells was observed during the maturation period, with a reduction of approximately 6 Log CFU/g, after 21 days of maturation. The number of lactic acid bacteria also reduced during the maturation period, approximately 3 Log CFU/g. No significant changes were observed in either pH or water activity. The results of this preliminary study show that even though the cheese weighs 5 kg, the period of its maturation could be reduced in the case of *S. aureus*.

**Keywords:** Artisanal Cheese from Minas. Microbiological quality. Food poisoning. Artisanal Cheese

## SUMÁRIO

- 1 INTRODUÇÃO
- 2 OBJETIVOS
  - 2.1 Objetivo geral
  - 2.2 Objetivos específicos
- 3 REFERENCIAL TEÓRICO
  - 3.1 Queijo Minas Artesanal e Artesanal de Minas
    - 3.1.1 Região produtora do queijo artesanal Mantiqueira de Minas
    - 3.1.2 Caracterização da produção
    - 3.1.3 Legislação
    - 3.1.4 Selo Arte
  - 3.2 Segurança Microbiológica do Queijo Artesanal
    - 3.2.1 Qualidade do leite
    - 3.2.2 Boas Práticas de Fabricação
    - 3.2.3 Tempo e temperatura de Maturação
    - 3.2.4 *Staphylococcus aureus*
    - 3.2.5 Bactérias do Ácido Lático
  - 3.3 Caracterização do pingo
- 4 TRANSFORMAÇÕES QUE OCORREM DURANTE A MATURAÇÃO DOS QUEIJOS
  - 4.1 Glicóse
  - 4.2 Proteólise
  - 4.3 Lipólise
- 5 MATERIAIS E MÉTODOS
  - 5.1 Coleta das amostras
  - 5.2 Preparo e padronização do inóculo
  - 5.3 Inoculação de *Staphylococcus aureus* no queijo
  - 5.4 Quantificação de *Staphylococcus aureus* em Queijo Artesanal de Minas
  - 5.5 Quantificação de Bactérias Lácticas
  - 5.6 Qualidade Microbiológica dos queijos
  - 5.7 Coliformes Totais e Termotolerantes
  - 5.8 Umidade
  - 5.9 pH
  - 5.10 Atividade de água (A.a)
- 6 RESULTADO E DISCUSSÃO
- 7 CONCLUSÃO
- 8 REFERÊNCIAS

## 1 INTRODUÇÃO

O queijo é um dos alimentos mais antigos e populares do mundo e possui ampla variedade, cada qual com suas características e peculiaridades de sabor, textura e aroma. Suas classificações podem se dar de acordo com o teor de gordura, a origem do leite utilizado, o tempo de maturação e o processo de fabricação.

O Queijo Minas Artesanal (QMA) e Artesanal de Minas (QAM) são queijos tradicionais de Minas Gerais que têm ganhado cada vez mais reconhecimento no Brasil. Sua singularidade está relacionada às características sensoriais distintas conferidas pelos microrganismos naturais presentes no leite e na região de produção, que proporcionam diferentes sabores, texturas e aromas ao queijo (DORES, 2013). Esses microrganismos variam de acordo com fatores como o clima, a alimentação do rebanho e o processo de fabricação do queijo (EMBRAPA, 2019).

No Brasil, existe produção expressiva de queijos artesanais elaborados a partir de leite cru, cujas técnicas de produção são transmitidas de forma tradicional ao longo das gerações. Esses queijos não apenas garantem o sustento de muitas famílias que vivem em áreas rurais, mas também representam valioso patrimônio histórico cultural nas regiões onde são produzidos.

Conforme informações fornecidas pelo Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA), os QMA recebem o selo Arte, sendo considerados autênticos quando produzidos em determinadas microrregiões de Minas Gerais. Essas microrregiões, como Araxá, Campo das Vertentes, Canastra, Cerrado, Diamantina, Serra do Salitre, Serro, Triângulo Mineiro, Serras de Ibitipoca e Entre Serras da Piedade ao Caraça, possuem uma longa tradição na fabricação de queijos artesanais. Entretanto, os queijos artesanais de Alagoa, da Mantiqueira de Minas, o queijo Cabacinha, o queijo artesanal do Vale do Suaçuí, da Serra Geral e o requeijão artesanal ou requeijão Moreno, também são queijos artesanais e reconhecidos como QAM. Esses queijos possuem particularidades durante seu processo de fabricação, específica de sua variedade, que não são permitidas no QMA. Em suma, os queijos artesanais de Minas englobam os queijos Minas artesanais (QMA). Esses queijos também pertencem à história de Minas Gerais, porém, poucas publicações sobre eles estão disponíveis (SOBRAL *et al.*, 2022).

A autenticidade e tradição dessas regiões são comprovadas através de estudos históricos, agroecológicos e climáticos, que visam identificar, caracterizar e delimitar as áreas tradicionalmente reconhecidas como produtoras desses queijos (EMBRAPA, 2019).

Os QMA e QAM possuem características sensoriais distintas que estão diretamente



relacionadas à microrregião específica em que são produzidos. Isso se deve, em grande parte, às bactérias lácticas autóctones (bactérias nativas presentes na região), que exercem forte influência nessas características únicas (PEREIRA *et al.*, 2020). Entretanto, o fato desse produto ser produzido a partir de leite cru pode levar a surtos de toxinfecções alimentares nos seres humanos, se o mesmo não for elaborado empregando-se boas práticas de fabricação e se não for maturado por tempo suficiente para eliminar possíveis microrganismos patogênicos dentre eles *Staphylococcus aureus* que está frequentemente presentes em leite cru e, ou nas mais diversas etapas de produção do queijo, inclusive nas mãos, braços e mucosas dos manipuladores (ANDRETTA *et al.*, 2019; CASTRO, 2018).

*Staphylococcus aureus* é amplamente reconhecido como um dos principais responsáveis por casos de mastite, sendo identificado em até 85% dos rebanhos e resultando em danos à glândula mamária podendo afetar as características físico-químicas e microbiológicas do leite, mesmo sem ser perceptível ao produtor. Esse microrganismo tem capacidade de colonizar diversas áreas, incluindo a pele dos tetos, especialmente quando há lesões nas extremidades, no canal do teto e no interior da glândula mamária. Uma característica distintiva do *Staphylococcus aureus* é sua notável habilidade de se adaptar de forma eficaz ao ambiente da glândula mamária (Odelli, 2021).

A presença de *S. aureus* em alimentos é considerada um indicador de deficiências em termos de higiene durante o processo de produção, especialmente nas etapas de manipulação. Isso implica que a detecção deste microrganismo é um sinal de possíveis falhas nas práticas de higiene durante a obtenção do alimento (BORGES *et al.*, 2008). De acordo com Santos (2010), a maturação é uma das formas de melhorar a qualidade microbiológica de um queijo, pois, mesmo havendo uma contagem inicial de patógenos elevada, esse processo favorece a combinação de fatores físico-químicos e microbiológicos considerados de fundamental importância para a estabilidade e a segurança alimentar do queijo, para se garantir a ausência deste patógeno e a segurança do consumidor é necessário que o queijo seja maturado por tempo suficiente.

Sendo assim, o IMA estabeleceu que o tempo de maturação do queijo artesanal Mantiqueira de Minas de 5 kg deve ser de 60 dias, porém ainda se carece de estudos científicos que comprovem que esse período é o suficiente ou excessivo para eliminação de patógenos como o *S. aureus* (MINAS GERAIS, 2021).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Determinar o tempo de maturação necessário do queijo artesanal da Mantiqueira de Minas oriundos de uma propriedade cadastrada no Instituto Mineiro Agropecuário (IMA), da região da Serra da Mantiqueira, MG, para eliminação de *Staphylococcus aureus* inoculado em laboratório.

### 2.2 Objetivos específicos

- a) Inocular *S. aureus* nos queijos coletados após a salga e acompanhar sua viabilidade durante 42 dias de maturação dos queijos;
- b) Quantificar as bactérias do ácido lático durante a maturação;
- c) Quantificar estafilococos coagulase positiva nos queijos;
- d) Avaliar a qualidade microbiológica do queijo durante sua maturação;
- e) Avaliar características físico-químicas dos queijos durante sua maturação.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Queijo Minas Artesanal e Artesanal de Minas

No estado de Minas Gerais, a produção de queijos teve início no século XVIII, durante a corrida do ouro, quando imigrantes portugueses trouxeram consigo a cultura de fabricação de queijos da Serra da Estrela, em Portugal. Nesse contexto, a produção artesanal de queijos se desenvolveu e se estabeleceu principalmente nas cidades do Serro e na região da Serra da Canastra, em Minas Gerais. Essa atividade tradicional se estende por vários municípios e desempenha papel fundamental na identidade cultural do estado, além de ter uma participação significativa na economia local (RAFAEL, 2017).

Conforme a Lei Mineira nº 23.157/2018 o queijo Minas artesanal é elaborado com leite cru fresco, coletado na propriedade própria ou próxima de pequenos produtores familiares, com características de identidade e qualidade específicas da região (MINAS GERAIS, 2018). O estado de Minas Gerais desempenhou papel fundamental na preservação e consolidação do queijo artesanal ao longo de sua história, transformando-o em herança cultural transmitida de geração em geração (SANTOS, CRUZ, MENASCHE, 2012). Em reconhecimento a essa tradição, em 2008, o "modo artesanal de fazer queijo de Minas" nas regiões do Serro e das Serras da Canastra e do Salitre foi oficialmente reconhecido como Patrimônio Cultural Imaterial Brasileiro pelo IPHAN - Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional (IPHAN, 2008).

Atualmente, são reconhecidas pelo IMA dez microrregiões queijeiras tradicionais no estado de Minas Gerais: Araxá, Campos das Vertentes, Canastra, Cerrado, Diamantina, Serra do Salitre, Serro, Triângulo Mineiro, Serras de Ibitipoca e Entre Serras da Piedade ao Caraça. Inicialmente, essas regiões foram identificadas e caracterizadas pela Emater MG e posteriormente reconhecidas pelo Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) através de uma portaria específica como produtoras de Queijo Minas Artesanal (IMA, 2021).

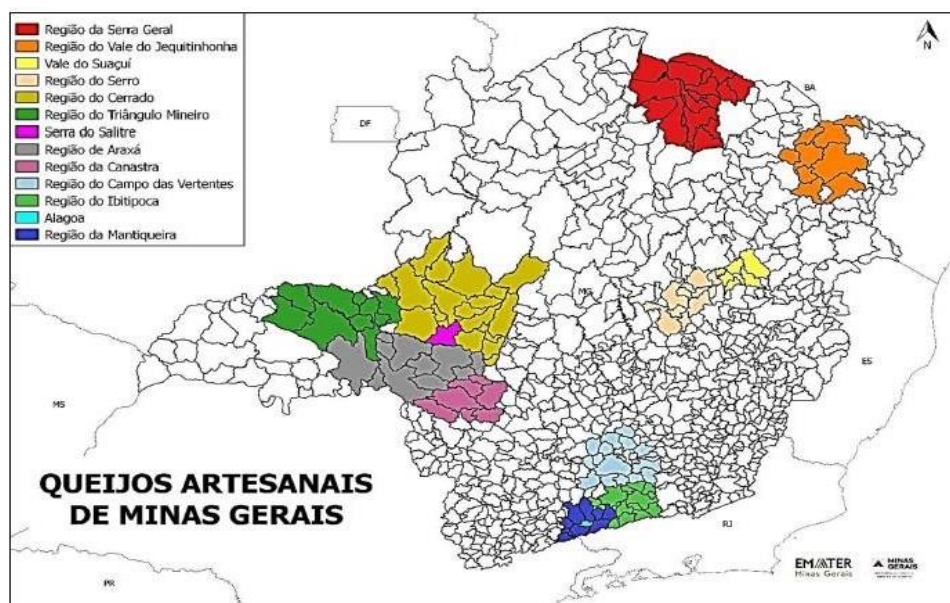
Além do reconhecimento da região produtora de queijo artesanal, o IMA também valoriza estudos científicos que visam caracterizar os queijos. Todos esses documentos compõem um processo pelo qual os queijos podem passar para obter a habilitação sanitária e a autorização legal para serem comercializados, possibilitando inclusive a obtenção do Selo Arte (COSTA *et al.*, 2022). Além das 10 regiões tradicionais reconhecidas como produtoras de QMA, a Lei 23.157, de 18 de dezembro de 2018, também reconhece e regulariza outras variedades de queijos artesanais, dentre eles o queijo artesanal de Alagoa, o queijo artesanal.

Mantiqueira de Minas, o queijo Cabacinha, o queijo artesanal do Vale do Suaçuí, o queijo artesanal da Serra Geral e o requeijão artesanal, conhecido como requeijão Moreno (MINAS GERAIS, 2018).

### 3.1.1 Região produtora do queijo artesanal Mantiqueira de Minas

Através da Portaria de IMA nº 1.985, de 16 de junho de 2020 (MINAS GERAIS, 2020) a região da Mantiqueira, aérea em destaque azul, foi reconhecida como produtora de QAM (FIGURA 1).

Figura 1- Mapa das regiões produtoras de queijos artesanais de Minas Gerais, com destaque para região da Mantiqueira.



Fonte: Adaptado de Sobral *et al.* (2022).

A área geográfica conhecida como Região Mantiqueira de Minas foi reconhecida como uma produtora do Queijo Artesanal Mantiqueira de Minas por meio de uma pesquisa de caracterização integrada realizada pela EMATER- MG, conforme previsto pela Portaria IMA nº 1985, de 16 de junho de 2020 (MINAS GERAIS, 2020b). Este local é caracterizado por apresentar microclimáticos variados e abriga diversas unidades de paisagem, oferecendo assim diversas alternativas para usos e ocupações do território. Destacam-se, nesse contexto, as práticas agrossilvipastoris, que incluem atividades como o cultivo de plantas e criação de

animais para produção de leite, como destaque especial para produção do Queijo Artesanal Mantiqueira de Minas (EMATER,2019b).

De acordo com a Portaria IMA nº2049, de 7 de abril de 2021, o Queijo Artesanal Mantiqueira de Minas é definido como um queijo produzido a partir de leite integral de vacas saudáveis, cru, de qualidade sanitária, proveniente da própria produção, e com a utilização de soro fermentado (MINAS GERAIS, 2021b). A região que produz este queijo artesanal está localizado na Serra da Mantiqueira e é composta por nove municípios: Aiuruca, Baependi, Bocaina de Minas, Carvalhos, Itamonte, Itanhandu, Liberdade, Passa Quatro e Pouso Alto. (EMATER,2019b).

O Queijo Artesanal Mantiqueira de Minas não representa apenas um legado histórico e cultural na região, mas também desempenha um papel crucial na economia, funcionando como uma fonte de renda significativa para numerosas famílias locais(EMATER, 2019b).

A extensão territorial abrange os nove municípios que formam a região do Queijo Mantiqueira de Minas totaliza aproximadamente 3,556 km<sup>2</sup>, com uma população conjunta de 75,176 habitantes. Dessas, 24,849 pessoas, equivalente a aproximadamente 33,05% da população, residem nas áreas rurais. Conforme os dados fornecidos pela EMATER- MG em 2017, os nove municípios dessa região foram responsáveis por uma produção expressiva de 119 milhões de litros de leite. Parte significativa dessa produção foi direcionada á fabricação de queijos artesanais, uma atividade predominante entre os familiares agricultores locais (EMATER, 2019b).

A Serra da Mantiqueira desempenhou um papel crucial como fator geopolítico na seleção dos municípios que seriam incluídos na região específica pela produção do Queijo Artesanal Mantiqueira de Minas. Isso deve á presença de ecossistemas na Serra da Mantiqueira que exercem influência nas características sensoriais distintas do queijo artesanal produzido nessa área, conforme ressaltado pela EMATTER em 2019. Em consonância com essas considerações, em 2020, a Portaria IMA nº 1985 oficializou o reconhecimento da região da Mantiqueira de Minas como produtora certificada do Queijo Artesanal Mantiqueira de Minas como produtora certificada do Queijo Artesanal Mantiqueira de Minas.

### **3.1.2 Caracterização da Produção**

A Portaria de nº 2049 de abril de 2021 (MINAS GERAIS, 2021) define o queijo artesanal da Mantiqueira como:

“[...] o queijo elaborado a partir do leite integral de vacas

sadias, cru, hígido, de produção própria, com utilização de soro fermento, e que o produto final apresente consistência dura, textura tendendo a fechada, cor interna intermediária entre o branco a amarelada, sabor moderadamente salgado suave a picante e odor moderadamente pronunciado, conforme a tradição histórica e cultural da região da Mantiqueira, onde é produzido.”

Sendo definido nesse mesma portaria o processo de elaboração do queijo. Esse constiuise em 12 etapas, como mostrado na Figura 2.

Figura 2 - Fluxograma de elaboração de queijo artesanal Mantiqueira de Minas.



Fonte: EMBRAPA (2018).

De acordo com a legislação, o processo de produção do Queijo Minas Artesanal (QMA) deve ser iniciado em um prazo de até 90 minutos após o início da ordenha. Além disso, o leite utilizado não pode ter passado por nenhum tratamento térmico, sendo necessário utilizar ingredientes naturais, como culturas lácticas tradicionais (pingo, soro fermentado/soro-

fermento, coalho e sal). A maturação do queijo deve ocorrer de acordo com o período específico estabelecido para cada microrregião, seguindo as diretrizes definidas pela legislação (MINAS GERAIS, 2021).

O período que compreende desde o início da fabricação do Queijo Minas Artesanal (QMA) até a fase de maturação do mesmo tem uma duração média de aproximadamente três dias. Após a obtenção do leite, que pode ser feita por meio de ordenha manual ou mecânica, é realizado o processo de filtragem utilizando suportes plásticos ou recipientes de aço inoxidável. A partir desse ponto, inicia-se efetivamente a elaboração dos queijos, incluindo a adição do coalho e do pingo. O pingo é uma substância salgada derivada do soro-fermento coletado da produção anterior, que é utilizado no processo de fabricação do queijo do dia (EMBRAPA, 2018).

Após a coagulação do leite, a massa é cortada e mexida para remover o excesso de soro acumulado. Em seguida, ocorre a etapa de enformagem e prensagem manual, na qual os queijos são colocados em moldes e pressionados. Na superfície dos queijos, é feita a aspensão de sal grosso. Após isso, os queijos são virados e o processo é repetido, e então são colocados sob uma bancada de ardósia para remover o excesso de sal. Posteriormente, os queijos são retirados dos moldes e colocados em prateleiras de madeira para iniciar a fase de maturação. Durante a maturação, ocorrem mudanças nas propriedades químicas e físicas da massa do queijo, o que influencia na textura e consistência, além de formar compostos responsáveis pelo desenvolvimento do sabor característico de cada variedade (MENESES, 2006; EMBRAPA, 2018).

O Queijo Artesanal Mantiqueira de Minas exibe características distintivas, apresentando uma consistência dura e uma textura tendendo a ser mais compacta. Internamente, sua cor varia entre branco e amarelo, entanto seu sabor é descrito como moderadamente salgado, com nuances que vão de suave a picante. O aroma é moderadamente pronunciado, tudo em conformidade com a tradição histórica e cultural da região onde é produzido (MINAS GERAIS, 2021).

De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos (BRASIL, 1996), este queijo é categorizado como gordo e de baixa umidade, com um teor de umidade de até 35,9%. Os ingredientes essenciais incluem leite integral cru, culturas lácticas naturais, coalho e sal. Além disso, são permitidos ingredientes adicionais, isolados ou em combinação, como condimentos, especiarias, azeite e vinho, desde ingredientes que estejam em conformidade com a legislação específica e prontos para consumo na forma em que se apresentam.

Na produção do Queijo Artesanal Mantiqueira de Minas, é autorizado o uso de resinas após o período de maturação, conforme previsto pelas regulamentações de Minas Gerais em 2021. No processo de fabricação desse queijo, é obrigatória a incorporação de culturas lácticas naturais ou fermento natural, conhecido como soro fermento. A proporção de soro fermentado utilizada varia de 3% a 6% em relação ao volume de leite empregado. Uma característica distintiva na fabricação deste queijo é o aquecimento da massa, que pode variar entre 45 °C e 51 °C, acompanhada de uma mistura constante por aproximadamente 40 minutos (MINAS GERAIS, 2021b).

A etapa de salga no processo de fabricação do Queijo Artesanal Mantiqueira de Minas difere do Queijo Minas Artesanal (QMA), pois é realizada em salmoura, enquanto no QMA a salga ocorre exclusivamente a seco. No caso do Queijo Artesanal Mantiqueira de Minas, é permitido utilizar salmoura em temperatura ambiente ou refrigerada, e também é possível realizar uma salga a seco posteriormente (MINAS GERAIS, 2021b).

O período mínimo de maturação para o Queijo Artesanal Mantiqueira de Minas é de 14 dias, podendo ocorrer tanto em temperatura ambiente quanto em ambientes climatizados, com temperaturas entre 12 °C e 14 °C. Além disso, o processo de defumação do queijo também é permitido, conforme indicado pelas regulamentações de Minas Gerais em 2021. Os critérios microbiológicos para inspeção da qualidade higiênico-sanitária do Queijo Artesanal Mantiqueira de Minas, estabelecidos pela Portaria IMA nº 2.049 de 7 de abril de 2021, baseia-se na Portaria MAPA 146/1996 (BRASIL, 1996).

### **3.1.3 Legislação**

O estado de Minas Gerais lidera a produção de queijos no Brasil, contribuindo com aproximadamente um quarto do total da produção nacional, conforme dados da Associação Brasileira de Supermercados (ABRAS) em 2019. Essa proeminência na produção foi um dos principais motivadores por trás da formulação de uma legislação específica e dedicada à fabricação de queijos a partir de leite cru (Quadro 1) (MINAS GERAIS, 2002a).

Anteriormente, o estado seguia as diretrizes do Regulamento nº7, promulgado em 28 de novembro de 2000, pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que regulamentava a produção e comercialização de Queijos Artesanais (QA) no país. Este regulamento era supervisionado pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF), conforme estipulado pelo Regulamento e Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). Contudo, para a produção de queijos ser permitida sob essas regulamentações, era necessário



que os queijos fossem elaborados a partir de leite submetido a tratamento térmico e que passassem por um processo de maturação mínimo de 21 dias (BRASIL, 2000).

Quadro 1 - Leis, Decretos, Portarias e Ins do QMA e QAM.

<b>Leis, Decretos Portarias e INs</b>	<b>Disposição</b>	<b>Importância para o QMA</b>	<b>Revogação</b>
<b>Lei Estadual n° 14.185, de 31 de janeiro de 2002.</b>	Dispõe sobre o processo de produção do Queijo Minas Artesanal e dá outras providências (BRASIL, 2002).	Esta foi a primeira Lei Estadual que regulamentava a produção de queijo à base de leite cru no Brasil. Essa lei também abrange todas as fases envolvidas na criação do QMA, incluindo requisitos para a criação da fábrica de queijo, padrões de qualidade da água e outros elementos para garantir a segurança e qualidade do produto.	Revogada em 2012 pela Lei n° 20.549, de 18 de dezembro, a qual posteriormente foi revogada pela Lei n° 23.157 de 2018.
<b>Decreto n° 42.645, de 05 de junho de 2002.</b>	Aprovou e distribuiu regras para a implementação da Lei Estadual n° 14.185, datada de 31 de janeiro do mesmo ano, que trata do procedimento de fabricação do Queijo Minas Artesanal.	Dentro das definições no decreto, é estipulado que o leite cru precisa ser adquirido de um rebanho saudável e que, no momento da utilização, deve cumprir critérios específicos relacionados à sua composição microbiológica e características físico-químicas.	No entanto, através do Decreto n° 44.864, emitido em 1 de agosto de 2008, uma nova condição foi introduzida, estipulando que os queijos produzidos a partir de leite cru só serão permitidos para embalagem após atingirem um nível de umidade indicado com base na porcentagem de umidade (não excedendo 45,9%).
<b>Portaria IMA n° 517, de 14 de junho de 2002.</b>	Estabelece as normas sanitárias para os rebanhos fornecedores de leite	Na primeira seção, são abordadas as questões relacionadas	

	<p>para produção de Queijo Minas Artesanal (BRASIL, 2002).</p>	<p>à imunização dos animais no rebanho, estabelecendo a obrigatoriedade de vacinação contra doenças como febre aftosa, raiva e brucelose. Isso inclui a necessidade de apresentar comprovação das vacinações no escritório regional do IMA, situado na área. Determina também a identificação dos animais dos rebanhos por meio de brincos com códigos de barras exclusivos, fornecidos pelo IMA para evitar duplicações. Um segundo aspecto trata das diretrizes para administração de medicamentos aos animais, com ênfase na necessidade de respeitar um intervalo protetor entre o tratamento e a produção de leite. Isso é essencial para evitar a presença de resíduos indesejados no leite, garantindo, assim, a segurança do produto final.</p>	
<p><b>Portaria IMA n° 518, de 14 de junho de 2002.</b></p>	<p>Dispõe sobre os requisitos básicos das instalações, materiais e equipamentos para a fabricação do Queijo Minas Artesanal (BRASIL, 2002).</p>	<p>Dentre as normas estão a instalação correta no curral, sala de ordenha e da queijaria e os equipamentos necessários, como tanques, cubas, formas, mesas e prateleiras, assim como o material</p>	

		recomendado.	
<b>Portaria IMA n° 523, de 3 de julho de 2002.</b>	Institui as condições higiênico-sanitárias e boas práticas na manipulação e fabricação do Queijo Minas Artesanal (BRASIL, 2002).	Essa Portaria estabelece diretrizes para garantir a higiene durante a coleta da matéria-prima. Isso inclui práticas como a infecção do local onde os animais são mantidos, a eliminação dos primeiros jatos de leite, o correto armazenamento do leite cru e as medidas específicas a serem tomadas quando um animal apresenta sinais de doença. Os capítulos IV e V abordam a higiene durante a fabricação do Queijo Minas Artesanal e estabelecem as condições higiênico-sanitárias que os estabelecimentos que produzem o QMA devem atender.	
<b>Portaria do MAPA n° 366, de 04 de maio de 2012</b>	Através da Gerência de Inspeção de Produtos do IMA, foi reconhecido que o Serviço de Inspeção de Produtos de Origem Animal, pertencente à Secretaria de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento de Minas Gerais, é considerado equivalente. Esse reconhecimento ocorreu mediante uma comparação dos	Em termos práticos, esta Portaria confere ao Serviço de Inspeção de Produtos de Origem Animal, ligado à Secretaria de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento de Minas Gerais, a mesma autoridade que o Ministério da Agricultura. Isso se trata de avaliar a qualidade de produtos de origem animal e concessão de aprovação sanitária	

	<p>serviços com o Sistema Brasileiro de Inspeção de Produtos de Origem Animal (SISBI-POA), que faz parte do Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária (SUASA) (BRASIL, 2012).</p>	<p>para possibilitar o comércio entre estados. Portanto, essa medida inaugura uma nova fase com perspectivas promissoras para os produtores de Queijo Minas Artesanal, oferecendo a oportunidade de participar no mercado formal de comércio interessante no Brasil (Embrapa, 2018).</p>	
<p><b>Portaria IMA nº 1.305, de 30 de abril de 2013.</b></p>	<p>O Artigo nº 2 permite a fabricação do queijo minas artesanal maturado pelo tempo necessário indicado pela pesquisa científica para o alcance dessa condição visando à garantia da qualidade e inocuidade dos produtos (BRASIL, 2013).</p>	<p>O Queijo Minas Artesanal não precisaria maturar por no mínimo 60 dias e fica definido o período de maturação de no mínimo 17 dias para a microrregião do Serro, e mínimo 22 dias para as microrregiões da Canastra, do Cerrado, do Campo das Vertentes e Araxá. Em 2017, a Portaria IMA nº 1.736, datada de 27 de julho, promoveu modificações nas regulamentações. Essas mudanças incluíram a incorporação de duas novas microrregiões e uma alteração no período de maturação do QMA na microrregião de Araxá (BRASIL, 2017). Como resultado, foi previsto que o período mínimo de maturação fosse de</p>	<p>Esta Portaria foi posteriormente revogada pela Portaria IMA nº 1.969, de 26 de março de 2020.</p>

		<p>14 dias para a microrregião de Araxá, 17 dias para a microrregião do Serro e um mínimo de 22 dias para as microrregiões da Canastra, Cerrado, Campo das Vertentes, Serra do Salitre e Triângulo Mineiro. Além disso foi determinado que os rebanhos presentes nas propriedades que fabricam o Queijo Minas Artesanal (QMA) devem ser submetidos a medidas de controle contra doenças como brucelose e tuberculose.</p>	
<p><b>Instrução Normativa n° 30, de 7 de agosto de 2013.</b></p>	<p>Revoga a IN n° 57 de 2011. Apesar de ainda ser aceitável um tempo de maturação inferior a 60 dias, a nova IN agora permite que não apenas o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), mas também os órgãos de nível municipal e estadual, que são credenciados pelo Sistema Brasileiro de Inspeção de Produtos de Origem Animal (SISBI-POA), têm a autoridade de permitir a redução do período mínimo de maturação (BRASIL, 2013).</p>	<p>Enquanto a Instrução Normativa número 57 estabelece as obrigações de garantir a ausência de tuberculose e brucelose nos animais de gado leiteiro, a Instrução Normativa número 30 aprofundou essa exigência ao especificar que a validação dessas classificações deve ser alcançada por meio da implementação do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT).</p>	

<p><b>Decreto n° 9.013, de 29 de março de 2017.</b></p>	<p>É o novo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), a qual foi originalmente criada em 1952 e desde então sofreu diversas alterações a fim de se adaptar e atender as necessidades do mercado.</p>	<p>Nesta mais recente edição do RIISPOA, é formalizada no Artigo 373 a legitimidade da prática de maturação por menos de 60 dias para os Estabelecimentos de pequeno Porte (EPP), como já anteriormente autorizado pela Instrução Normativa n° 30.</p>	
<p><b>Lei n° 13.680, de 14 de junho de 2018.</b></p>	<p>Altera a Lei n° 1.283, de 18 de dezembro de 1950, acrescentando o processo de fiscalização de produtos alimentícios de origem animal produzidos de forma artesanal (BRASIL, 2018).</p>	<p>Um novo acréscimo, denominado Artigo n° 10-A, é introduzido na legislação de 1950, abrindo caminho para a venda entre estados de produtos alimentícios confeccionados de maneira artesanal, seguindo métodos e particularidades tradicionais ou regionais. Para que isso seja possível, é requer a adoção de boas práticas na agricultura e pecuária, bem como na produção, e é essencial que as instâncias de saúde pública nos estados e no Distrito Federal exerçam vigilância tanto sobre os estabelecimentos quanto sobre os produtos de caráter artesanal.</p>	
<p><b>Lei n° 23.157, de 18 de dezembro de 2018.</b></p>	<p>Revoga a Lei n° 20.549/2012 e dispõe sobre a produção e comercialização dos</p>	<p>A lei considera que o queijo produzido de forma artesanal é somente aquele feito a</p>	

	<p>Queijos Minas Artesanais. A legislação promulgada em 2012 abordava minuciosamente a utilização do "pingo" na fabricação do QMA. Contudo, essa lei enfrentou dificuldades em distinguir entre as diversas categorias de queijos, o que por consequência resultou em perplexidade no processo de formulação de regulamentações precisas e direcionadas.</p>	<p>partir de leite integral fresco e não pasteurizado, tendo características específicas de identidade e qualidade (BRASIL, 2018). Dentro das configurações desta lei, o Artigo nº 7 permite a criação de variações diferentes de um certo tipo de queijo artesanal, desde que sejam mantidas respeitadas as características de qualidade delineadas no regulamento específico.</p>	
<p><b>Decreto nº 9.918, de 18 de julho de 2019.</b></p>	<p>Este Decreto tem como propósito estabelecer diretrizes para a implementação do Artigo nº 10-A da Lei nº 13.680, datada de 14 de junho de 2018. Ele especifica que os produtos de origem animal produzidos de maneira artesanal, para além da aprovação do serviço de inspeção oficial, também deverá exibir um selo contendo a designação "ARTE". A configuração e o símbolo desse selo serão definidos pelo Ministro de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2019).</p>	<p>Para viabilizar a venda dos produtos de Queijo Minas Artesanal em diferentes estados do país, é necessário que esses produtos obtenham registro junto ao órgão de inspeção estadual, conforme orientação pelo IMA. Além disso, é fundamental que esses produtos estejam em conformidade com todas as diretrizes condicionais pelas normas de boas práticas agropecuárias e de produção artesanal.</p>	
<p><b>Lei nº 13.860, de 18 de julho de</b></p>	<p>Dispõe sobre a elaboração e a</p>	<p>Nesta lei ficou vetado vários parágrafos e</p>	

<b>2019.</b>	comercialização de queijos artesanais e dá outras providências (BRASIL, 2019).	Artigos ao decorrer do documento, o que o deixou a Lei bem mais enxuta que as prévias.	
<b>Instrução Normativa n° 28, de 23 de julho de 2019.</b>	Ficou definido que o formato do Selo ARTE, que só será concedido aos estabelecimentos oficialmente registrados como artesanais e deverá aderir às diretrizes delineadas no Manual de Criação e Uso do Selo ARTE, disponibilizado no portal eletrônico do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2019).	O Manual de Criação e Aplicação fornece orientações para a aplicação correta do Selo ARTE. Isso inclui detalhes sobre posicionamento, espaçamento, borda, fonte de texto e centralização para garantir uma apresentação uniforme. O selo deve ser colocado em um grau 6x6 de quadrados, inclinado a 45°, com três elementos: o texto "Artesanal do Brasil", o grafismo "Arte" e um número de identificação. O selo pode ser impresso em várias cores, desde que seja legível e contenha apenas uma cor. A altura mínima do selo é 10 mm.	
<b>Portaria IMA n° 1.937, de 14 de agosto de 2019.</b>	Dispõe sobre a habilitação sanitária dos queijos artesanais e da concessão do selo ARTE às queijarias com habilitação sanitária no IMA (IMA, 2019).	A criação desta Portaria decorreu da urgência de criar um conjunto de normas transitórias para a adequação em termos de saúde das queijarias que já possuem certificados pela Gerência de Certificação (GEC), além de estabelecer orientações para os novos fabricantes de Queijo Minas	



		Artesanal que ainda não detêm o selo ARTE.	
<b>Instrução Normativa n° 73, de 23 de dezembro de 2019.</b>	Estabelece o Regulamento Técnico de Boas Práticas Agropecuárias destinadas aos produtores rurais fornecedores de leite para a fabricação de produtos lácteos artesanais, as quais necessitam do selo ARTE (BRASIL, 2019).	O Regulamento Técnico de Boas Práticas Agropecuárias estabelece orientações fundamentais para garantir os padrões mínimos de higiene e segurança nas propriedades rurais que fornecem leite. Isso tem como objetivo garantir a saúde dos animais, bem como a saúde e segurança das pessoas envolvidas nesse processo.	
<b>Portaria IMA n° 1.969, de 26 de março de 2020.</b>	Revoga a Portaria IMA n° 1.305, de 30 de abril de 2013 e dispõe sobre a produção de Queijo Minas Artesanal em queijarias e entrepostos localizados em microrregiões definidas e para as demais regiões do Estado, caracterizadas ou não como produtora de QMA (BRASIL, 2020).	A Portaria estabelece os critérios que determinam a classificação do Queijo Minas Artesanal, delineando as fases essenciais no seu processo de produção. Além disso, reafirma a importância do tempo mínimo de maturação específico para diferentes microrregiões: 14 dias para a microrregião de Araxá, 17 dias para a microrregião do Serro e um mínimo de 22 dias para todas as outras regiões do Estado, independentemente de serem identificados como áreas de produção do QMA ou não. A portaria	

		<p>estipula também que a identificação da microrregião exige que o queijo seja maturado na queijaria de origem ou em um entreposto da mesma microrregião. Assim, o nome do produto será “Queijo Minas Artesanal”, acompanhado pelo nome da microrregião. Caso os queijos sejam produzidos fora das microrregiões designadas em portarias eles serão denominados apenas como "Queijo Minas Artesanal".</p>	
--	--	---	--

Fonte: Do autor 2023.

### 3.1.4 Selo Arte

A Lei nº 13.680, promulgada em 14 de junho de 2018, trouxe a autorização importante para a comercialização de produtos alimentícios produzidos de forma artesanal em todo o território nacional. Essa lei revogou a Lei nº 1.283, datada de 18 de dezembro de 1950. Com essa mudança, tornou-se possível a venda interestadual desses produtos, desde que sejam submetidos à fiscalização dos órgãos de saúde pública de cada estado. Para garantir a identificação desses produtos, foi estabelecido um selo único com a indicação "ARTE". Essa medida proporciona novas oportunidades para os produtores artesanais comercializarem seus produtos em diferentes regiões do país (BRASIL, 2018).

O Selo Arte (Figura 3) é 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. Ele pode ser concedido a produtos lácteos, cárneos, pescados e seus derivados e produtos de abelhas.

Conforme estabelecido pelo Decreto nº 9.918, de 18 de julho de 2019, as diretrizes para a obtenção do Selo Arte são definidas pelo Instituto Mineiro Agropecuário (IMA). Portanto, os

produtores de queijo em Minas Gerais devem estar devidamente registrados no serviço de inspeção estadual e cumprir as normas relacionadas às boas práticas agropecuárias e boas práticas de fabricação artesanal. Essas medidas são necessárias para que os produtores possam realizar a comercialização do Queijo Minas Artesanal (QMA) em âmbito interestadual. Dessa forma, é fundamental que os produtores atendam a todas as exigências e regulamentações estabelecidas pelo IMA para obter o Selo Arte e expandir suas vendas para outras regiões do país (BRASIL, 2018).

**Figura 3-** Selo arte em versão negativa institucionalizado pelo IMA a partir da Lei estadual nº 13.680 de 14 de julho de 2018.



Fonte: IMA (2018).

Essa certificação tira o segmento produtivo da informalidade e faz com que produtores artesanais não fiquem limitados e possam levar seus produtos a mercados melhores e aumentar sua renda. Para os pequenos produtores familiares o Selo Arte agrega valor aos queijos produzidos, e para os consumidores se garante inocuidade dos queijos consumidos.

### **3.2 Segurança Microbiológica do Queijo Minas Artesanal e artesanal de Minas**

Um alimento é considerado seguro quando não representa nenhum risco para a saúde do consumidor. Isso significa que o produto foi fabricado seguindo todas as medidas necessárias de higiene e sanitização, garantindo que esteja livre de qualquer perigo físico, químico ou biológico. Em outras palavras, um alimento seguro é aquele que foi produzido com todos os cuidados e procedimentos adequados para evitar qualquer tipo de contaminação ou dano à saúde

daqueles que o consomem (RESENDE, 2014).

Tanto o QMA quanto o QAM possuem uma série de fatores relacionados ao processo de fabricação que desempenham papel crucial no controle da microbiota indesejável e são fundamentais para garantir a segurança do consumo desses queijos. Alguns desses fatores incluem a qualidade da matéria-prima utilizada, a aplicação das Boas Práticas de Fabricação (BPF), a adição de cloreto de sódio durante o processo de fabricação, a temperatura e o tempo de maturação, bem como a presença da microbiota endógena rica em bactérias lácticas. Essa microbiota é encontrada tanto no leite cru quanto no fermento endógeno. Esse último fator é particularmente importante, pois desempenha papel essencial na determinação das características sensoriais e na segurança do produto final. Esses elementos combinados são essenciais para assegurar a qualidade e a segurança dos queijos (DORES; FERREIRA, 2012).

A utilização de leite cru na fabricação dos queijos e a falta de aplicação das boas práticas de fabricação estão diretamente relacionadas à presença de contaminantes patogênicos. Como resultado, surtos de doenças transmitidas por alimentos têm sido associados ao consumo de queijos artesanais, o que levantou preocupações quanto à segurança microbiológica desses produtos. É essencial adotar cuidados rigorosos em termos de higiene e saneamento durante o manejo dos animais, a manutenção do ambiente, o uso de equipamentos de ordenha, a produção e comercialização do queijo, a fim de minimizar o risco de contaminação e garantir a segurança microbiológica do QMA. Essas precauções são importantes para proteger a saúde dos consumidores e evitar possíveis doenças transmitidas por alimentos relacionadas ao consumo de queijo artesanal (GRACE *et al.*, 2020).

Diversos estudos realizados em várias regiões do estado de Minas Gerais revelaram a presença de microrganismos patogênicos em Queijo Minas Artesanal (QMA) acima dos limites estabelecidos pela legislação. Esses estudos, conduzidos por pesquisadores como Allaion *et al.* (2021), Campagnollo *et al.* (2018), Campos *et al.* (2021), Pinto *et al.* (2016), Resende *et al.* (2011), Santos *et al.* (2017), Soares *et al.* (2018) e Yamanaka *et al.* (2016), apontaram que contagens elevadas de *Staphylococcus aureus* podem indicar falhas na higiene, uma vez que as principais fontes de contaminação do queijo são a matéria-prima utilizada e a manipulação realizada por pessoas portadoras desse microrganismo. Esses estudos destacam a importância de medidas adequadas de higiene e controle durante todo o processo de produção do queijo, visando reduzir os riscos de contaminação e garantir a segurança microbiológica do produto.

### 3.2.1 Qualidade do Leite

A qualidade da matéria-prima utilizada na produção dos queijos artesanais é fator crucial para garantir a qualidade do produto final (DORES; FERREIRA, 2012). O leite utilizado deve ser proveniente de rebanho saudável, sem sinais clínicos de doenças infectocontagiosas, e deve ser submetido a testes oficiais que comprovem a ausência de zoonoses. Além disso, o leite deve ser obtido e processado no estabelecimento rural de origem, ou, caso seja produzido em outras propriedades, o responsável pela queijaria deve assumir a responsabilidade pela qualidade do leite processado e do queijo produzido. Essas diretrizes estão de acordo com o estabelecido na Lei Estadual nº 20.549/2012, que visa assegurar a qualidade e a segurança dos QMA e QAM por meio do controle adequado da matéria-prima utilizada.

A ordenha deve ser higiênica podendo ser manual ou mecânica e devem ser seguidas as boas práticas de ordenha recomendadas pela Embrapa incluindo a retirada dos primeiros jatos de leite de cada um dos quatro tetos em uma caneca de fundo preto e a desinfecção dos tetos após a ordenha. Além disso, os utensílios e equipamentos utilizados na ordenha devem ser limpos e desinfetados com solução clorada antes e após a atividade. Para detalhes ver recomendações da cartilha da Embrapa (EMBRAPA, 2018).

### **3.2.2 Boas Práticas de Fabricação (BPF)**

As Boas Práticas de Fabricação (BPF) consistem em diretrizes e padrões para garantir a qualidade, segurança e eficácia dos produtos fabricados em diferentes setores industriais, como alimentos, medicamentos, cosméticos e outros. A implementação das BPF por produtores agrícolas desempenham um papel fundamental na melhoria do meio ambiente e na preservação dos recursos naturais. Além disso, o BPF criou um padrão de qualidade mais elevado na produção de produtos, proporcionando maior segurança e melhorando a qualidade de vida das pessoas que os consomem. Ao seguir o BPF, os produtos agrícolas garantem processos qualificados, higiene, controle de contaminação e boas práticas no manejo, adquiridos em produtos mantidos, seguros e de alta qualidade (DORES; FERREIRA, 2012).

A manipulação inadequada é uma das principais causas de contaminação de alimentos, afetando tanto a matéria-prima quanto os utensílios utilizados durante o processo de preparação. Isso ocorre devido à falta de higiene adequada dos equipamentos e das pessoas envolvidas, como a má higiene das mãos, a conversa ou a tosse durante a manipulação dos alimentos e a falta de uso de Equipamentos de Proteção Individual (EPI), como toucas, aventais, máscaras e luvas. Essas práticas podem resultar na transferência de microrganismos patogênicos para os alimentos, aumentando o risco de contaminação e de infecções transmitidas por alimentos (SILVA, 2010).

No que se refere à produção do queijo artesanal, as BPF são abordadas em três portarias internas pelo IMA. A Portaria n.º 517, de 14 de junho de 2002, estabelece como normas de defesa sanitária a vigilância aos rebanhos fornecedores de leite para a produção do queijo; a Portaria n.º 518, também de 14 de junho de 2002, que trata dos requisitos básicos das instalações, materiais e equipamentos utilizados na fabricação do queijo e a Portaria n.º 523, de 23 de julho de 2002, estabelece as normas referentes às condições higiênico-sanitárias e às boas práticas de manipulação e fabricação dos queijos. Essas portarias são instrumentos normativos que estabelecem diretrizes e requisitos a serem seguidos pelos produtores de QMA e QAM para garantia da qualidade (IMA, 2002).

É fundamental iniciar os procedimentos para a aplicação correta das BPF no momento da ordenha. Todos os envolvidos nessa etapa, incluindo os ordenhadores e demais funcionários responsáveis pelo manejo do estábulo e sala de ordenha, devem apresentar atestados de saúde atualizados, que incluem exames clínicos e de tuberculose. Além disso, é de extrema importância que todos utilizem os equipamentos de proteção individuais adequados. A ordenha pode ser realizada de forma manual ou mecânica, contanto que seja realizada de maneira higiênica. (EMBRAPA, 2018).

As Boas Práticas de Fabricação também abrangem a higiene minuciosa das instalações, equipamentos e utensílios utilizados durante o processo de ordenha. Esse procedimento deve ser executado adequadamente, a fim de garantir a ausência de infecção cruzada e a preservação da qualidade do leite. Além disso, é necessário implementar medidas eficazes de controle de pragas e vetores nas instalações, a fim de prevenir a sua presença e a disseminação de agentes prejudiciais (PINTO *et al.* 2009).

A adoção das BPF é de extrema importância, não só para estar em conformidade com as leis e regulamentos, mas principalmente para assegurar a produção e fornecimento de alimentos seguros. A pesquisa microbiológica desempenha um papel crucial ao permitir que se faça implicações sobre as condições em que um produto foi fabricado, fornecendo uma contribuição fundamental para garantir a saúde do consumidor (PINTO *et al.* 2009).

### **3.2.3 Tempo e Temperatura de Maturação**

A maturação do queijo é um processo natural de envelhecimento que desempenha papel crucial na melhoria das características específicas, estabilização e obtenção da consistência desejada. Durante essa etapa, ocorrem alterações físico-químicas fundamentais que influenciam

o crescimento de microrganismos nos queijos. Essas mudanças são resultado da interação entre o teor de água, a concentração de sal e o pH do ambiente. A ação de enzimas lipolíticas e proteolíticas desencadeia uma série de eventos biológicos, químicos e bioquímicos em uma sequência complexa (CASTRO *et al.*, 2016).

Diversos estudos demonstram que a temperatura ambiente e a umidade relativa do ar exercem influência direta na formação da microbiota dos queijos mineiros e no tempo necessário para o controle. Além disso, os fatores físico-químicos, como a atividade antimicrobiana das bactérias lácticas, são cruciais para garantir a qualidade microbiológica adequada dos queijos artesanais. O entendimento desses fatores e a implementação de condições ambientais ajustadas são essenciais para produzir queijos seguros e de alta qualidade (MARTINS, 2006).

A partir do segundo dia de fabricação, após serem retirados das formas, os queijos são colocados em prateleiras de madeira, permitindo que desenvolvam suas características. Durante esse período, é essencial realizar a viragem dos queijos para garantir a maturação uniforme. Essa viragem consiste em movimentar os queijos, geralmente girando-os, para evitar o acúmulo de umidade em um único ponto. A lavagem dos queijos com água corrente é prática que pode ocorrer a cada dois ou três dias, sendo adaptada conforme a temperatura e a umidade presentes no ambiente. Essa lavagem contribui para a remoção de impurezas e o controle adequado do desenvolvimento de microrganismos (EMBRAPA, 2018).

A legislação vigente estabelece que a maturação dos queijos artesanais ocorra em temperatura ambiente, o que permite a ocorrência de processos microbiológicos e bioquímicos essenciais para o desenvolvimento das características do queijo. Além disso, a temperatura ambiente contribui para a redução nas contagens de coliformes e bactérias dos gêneros *Staphylococcus*, *Salmonella* e *Listeria*. No entanto, para garantir um controle mais preciso do processo de fermentação, muitos produtores optam por utilizar câmaras com temperatura e umidade controladas (EMBRAPA, 2018; OLIVEIRA, 2014).

De acordo com a Portaria IMA nº 2.501, datada de 07 de abril de 2022, foi estabelecido um período de maturação mínimo de inverno de 14 dias para as regiões de Araxá, Canastra e Serra do Salitre, enquanto que para a região do Serro o período mínimo é de 17 dias. Nas demais regiões do Estado, independentemente de serem produtores de QMA ou não, o período mínimo de maturação é de 22 dias, ou o período máximo especificado em estudos científicos. Essa diferença de tempo resulta principalmente do processo de prensagem da massa. Nos queijos prensados com tecido, há maior concentração de lactose, que serve como fonte de energia para as bactérias lácteas, o que acidifica o ambiente e dificulta o desenvolvimento de patógenos



(RESENDE, 2014).

Embora a legislação determine um período de controle de 22 dias para os queijos minas artesanais, foram identificadas produções que não estavam em conformidade com essas diretrizes, tanto por parte de produtos registrados quanto de produtos não registrados (CAMPOS *et al.*, 2021).

### 3.3 *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus*, muitas vezes referido como "staph", é uma bactéria gram-positiva esférica, aeróbia ou anaeróbia facultativa, que cresce na forma de cachos de uva. Membro da família Staphylococcaceae, pode causar uma ampla gama de infecções em humanos.

O gênero *Staphylococcus* abriga várias espécies com características bioquímicas distintas, permitindo uma forma de diferenciação entre elas. Um exemplo notável é a capacidade de certas espécies produzirem a enzima coagulase, responsável pela conversão do fibrinogênio plasmático em fibrina, gerada na formação de um coágulo visível. Essas bactérias são conhecidas como *Staphylococcus* coagulase-positivos (SCP) e incluem espécies importantes como *S. aureus* e *S. pseudintermedius*, sendo encontradas principalmente em humanos e animais, respectivamente. Além disso, uma espécie emergente, intimamente relacionada ao *S. aureus*, chamada *Staphylococcus argenteus* tem sido encontrada inclusive em produtos lácteos (AGUIAR, 2022).

*Staphylococcus aureus* coagulase positiva é a principal responsável por intoxicações alimentares devido à produção de toxinas, que, mesmo após a destruição da bactéria, pelo tratamento térmico, permanecem ativas nos alimentos (RESENDE, 2014; AMORIM, 2013).

Dentre os alimentos associados a surtos e ocorrências de intoxicação causadas pela bactéria *S. aureus*, merecem destaque o leite não tratado termicamente, o leite submetido à pasteurização e diferentes tipos de queijos, sendo estes últimos considerados os produtos lácteos mais frequentemente implicados. A presença indesejável deste micro-organismo nos produtos lácteos pode advir tanto de excreções originadas por casos de mastite, tanto em suas formas clínicas quanto subclínicas, quanto de práticas de higiene inadequadas durante as etapas de processamento e manipulação dos alimentos (DORES, 2013). O QMA é um produto muito manipulado e, além disso é feito com leite cru, o que facilita a presença desse microrganismo (CASTRO *et al.*, 2016; PINTO *et al.*, 2009).

A produção de toxinas pelo microrganismo *Staphylococcus* spp. requer uma

concentração inicial mínima de aproximadamente  $10^6$  Unidades Formadoras de Colônia (UFC) por grama no produto. Entretanto, relatos indicam que contagens de *Staphylococcus* spp. na ordem de  $2 \times 10^3$  UFC/g já foram capazes de gerar enterotoxinas (OLIVEIRA, 2014).

*Staphylococcus aureus* é responsável pelo terceiro maior número de casos de intoxicação alimentar em todo o mundo, já que pode se desenvolver em diversos alimentos devido sua capacidade de crescer em diferentes condições ambientais e nutricionais, principalmente em alimentos muito manipulados e mantidos à temperatura ambiente por longos períodos (RESENDE, 2014).

De acordo com informações fornecidas pela Vigilância Epidemiológica do Ministério da Saúde no ano de 2022, no Brasil, durante o período compreendido entre 2012 e 2021, foram documentados um total de 6.347 episódios de surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs), que resultaram em aproximadamente 13.466 hospitalizações. Nas situações em que foi possível identificar a causa subjacente, as bactérias emergiram como os agentes mais prevalentes, incluindo *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Bacillus cereus* e coliformes. Uma categoria notável entre os grupos de alimentos implicados nesses surtos é a compreendida pelo leite e seus derivados, respondendo por cerca de 7,1% dos casos. Por outro lado, a bactéria *Staphylococcus aureus* foi associada a aproximadamente 12,9% dos casos, figurando entre os agentes etiológicos mais frequentemente identificados em tais surtos (BRASIL, 2022).

A intoxicação alimentar resultante do consumo de alimentos contendo toxinas previamente formadas pelo micro-organismo manifesta seus sintomas de maneira rápida, geralmente entre 30 minutos e 5 horas após a ingestão dos alimentos contaminados. Entretanto, o período de incubação varia de acordo com a quantidade de toxina presente no alimento. Estudos indicam que mesmo uma concentração mínima de 0,5 ng/g da toxina no alimento pode desencadear o quadro de intoxicação (PINEDA, 2022).

Adicionalmente, é importante notar que o desenvolvimento do *S. aureus* e a produção de suas toxinas estão sujeitos a influências de fatores físico-químicos. Estes fatores incluem características como temperatura, nível de acidez (pH), atividade da água, quantidade de sal (NaCl) e disponibilidade de oxigênio. Estas condições desempenham um papel significativo na regulação do crescimento bacteriano e na geração das toxinas responsáveis pelo desencadeamento dos sintomas de intoxicação (PINEDA, 2022).

A intoxicação alimentar causada por *S. aureus* muitas vezes passa despercebida, principalmente devido à breve duração dos sintomas associados. Isso resulta em menor busca por atendimento médico por parte das pessoas afetadas, o que, por sua vez, contribui para a

baixa taxa de notificações e hospitalizações relacionadas a esse tipo de intoxicação. Além desse fator, a carência de estudos abrangentes e recursos em várias regiões do país contribuem para a escassez de dados oficiais sobre a doença, frequentemente levando a diagnósticos equivocados por parte dos profissionais de saúde (NERO; NOGUEIRA, 2007).

### 3.4 Bactérias do ácido lático

As bactérias lácticas (BAL) são um conjunto de microrganismos que exibem formas variáveis, como cocos ou bacilos, e têm estruturas celulares simples, duplas ou agrupadas em tétrades, podendo formar cadeias curtas ou longas. São caracterizadas como Gram positivas, não possuem a capacidade de gerar esporos e não apresentam atividade da enzima catalase. Estes microrganismos têm a capacidade de produzir ácido lático como um dos principais produtos metabólicos resultantes da fermentação de açúcares. Podem ser classificados em dois grupos: as homofermentativas, que geram predominantemente ácido lático como produto principal da fermentação da glicose; e as heterofermentativas, que além do ácido lático também podem produzir outras substâncias, como dióxido de carbono, ácido acético e etanol, durante o processo fermentativo (VIEIRA, 2022).

O conjunto de gêneros pertencentes às BAL inclui *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Weissella* e o gênero *Lactobacillus*. De maneira natural, as BAL têm a capacidade de absorver o controle da comunidade microbiana em diversos alimentos onde ocorrem naturalmente. Isso se deve à sua habilidade de converter carboidratos em ácido lático através de processos metabólicos, gerado na formação de compostos biologicamente ativos, tais como preparados orgânicos, diacetil, peróxido de hidrogênio, peptídeos antibacterianos e precursores de sabores distintos. única atribuída uma voz tecnológica significativa a esse grupo, tornando-as frequentemente empregadas como culturas iniciadoras ou preservadoras em processos alimentares (MARTÍN *et al.*, 2022).

Nos queijos artesanais, que são elaborados utilizando leite cru e não contam com a adição de culturas iniciadoras comerciais, as preparações lácticas presentes no próprio leite e no soro (pingo) desempenham um papel fundamental em todo o processo de fermentação do produto (COGAN *et al.*, 1997 ). Esses microrganismos possuem a habilidade de exercer funções ao longo do processo de produção de queijos. Algumas variedades desempenham um papel ativo durante a fermentação inicial, enquanto outras se tornam mais proeminentes ao longo da maturação.

Além de serem responsáveis pelas características organolépticas, as bactérias lácticas

(BAL) desempenham um papel fundamental na segurança microbiológica do queijo. Durante o processo de maturação, essas bactérias toleram diversas substâncias, incluindo compostos antimicrobianos que atuam de forma antagonista contra microrganismos patogênicos (ANTÔNIO; BORELLI, 2021).

As bacteriocinas geradas pelas bactérias lácticas têm a função de controlar e inibir o crescimento de patógenos indesejados. Além disso, o ácido láctico produzido por essas bactérias desempenham um papel importante na preservação dos alimentos, ao mesmo tempo, em que contribui para acelerar a coagulação do leite durante a fermentação (RAFAEL, 2017).

### 3.5 Caracterização do pingo

No processo de elaboração do QMA e alguns QAM, empregam-se o termo "pingo" para se referir ao soro separado da massa coagulada, que escorre pela superfície da bancada e é recolhido em um recipiente para uso posterior. Este termo deriva do fato de que o soro é coletado enquanto goteja, como se estivesse pingando. O soro coletado de um lote de queijo produzido em um dia é utilizado como inóculo fermentativo para a produção do lote subsequente no dia seguinte. O "pingo" é rico em cloreto de sódio e contém uma alta concentração de bactérias lácticas naturais, que desempenham um papel fundamental na definição das características de cor, sabor, aroma e textura distintas do produto final (EMBRAPA, 2018).

O fermento natural presente internamente no processo engloba grupos de microrganismos, predominantemente composto por bactérias lácticas. Esses grupos desempenham um papel crucial na condução dos processos de fermentação e maturação do queijo. Entre as bactérias lácticas presentes nesse fermento natural estão: *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc spp.*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* e *Lactobacillus helveticus* (FOX *et al.*, 2004).

Abreu (2015) mencionou que, segundo as observações de um produtor localizado na região do Serro, o momento ideal para coletar o pingo se dá entre o segundo e o terceiro dia do processo de dessoragem. Nesse intervalo, o pingo é retirado durante o período da manhã do terceiro dia após a separação na bancada.

De acordo com as diretrizes do Regulamento para a utilização do Queijo Minas Artesanal (QMA) proveniente da região da Serra da Canastra, é estabelecido que a quantidade de pingo a ser incorporada varie de 100 mL a 500 mL para cada 100 litros de leite, conforme as informações fornecidas pela Associação dos Produtores de Queijo da Canastra (Aprocan) em 2017. Geralmente, a adição do pingo ocorre simultaneamente com a inclusão do coalho, que é

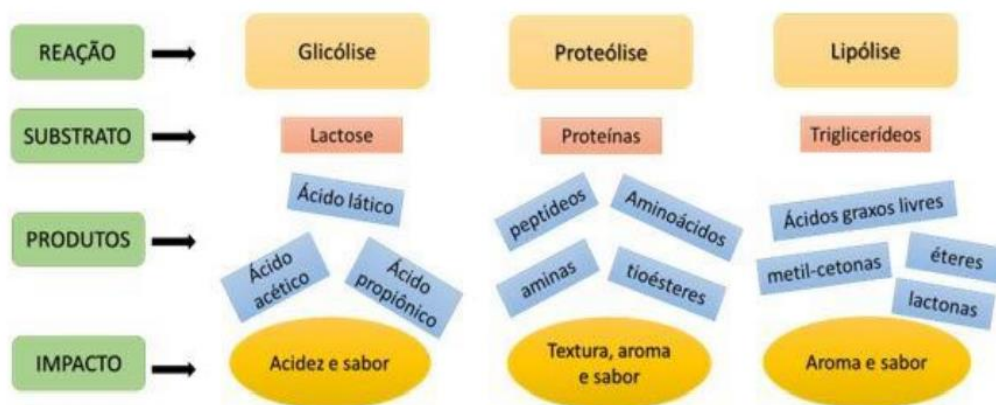
um coagulante enzimático comercial composto predominantemente por proteases.

A quantidade de coalho é controlada de forma a permitir a coagulação do leite durante um período de 45 a 60 minutos, dentro do próprio tanque, enquanto o leite repousa. Essa ação está alinhada com as orientações do fabricante. Tanto o coalho industrial em forma de pó quanto em estado líquido podem ser empregados para essa finalidade. Notavelmente, na região do Serro, identificou-se o uso médio de 200 mL a 300 mL de pingo por cada 100 litros de leite durante esse processo (EMBRAPA, 2018).

#### 4 TRANSFORMAÇÕES QUE OCORREM DURANTE A MATURAÇÃO DOS QUEIJOS

Durante o processo de Maturação, ocorrem três eventos bioquímicos fundamentais: glicólise, proteólise e lipólise (FIGURA 5). Nesse contexto, diversas reações primárias e secundárias dos constituintes do leite contribuem para a formação de compostos que desempenham um papel significativo na aparência e no sabor do produto final. Essas reações são mediadas principalmente por enzimas, que podem ter origem nas bactérias intencionalmente adicionadas, conhecidas como as enzimas da microbiota láctica do leite e do coagulante utilizado durante o processo de fabricação (FOX; Mc SWEENEY, 1998).

Figura 5 - Vias Metabólicas de Importância na Maturação de Queijos.



Fonte: Da autora (2023).

##### 4.1 Glicose

A etapa inicial da maturação, conhecida como fermentação láctea ou glicose, é responsável pela conservação de lactose. O principal carboidrato presente no leite, em ácido láctico (SCOTT; ROBINSON; WILBEY; 1998). A lactose, um dissacarídeo composto por glicose e galactose, passa por um processo de fermentação durante a produção de queijos,

liderado por bactérias conhecidas como BAL (bactérias do ácido lático). Essas bactérias transformam uma molécula de lactose em quatro moléculas de ácido lático (FOX *et al.*, 2000).

A glicose desempenha um papel crucial ao evitar a proliferação de microrganismos indesejados que poderiam contaminar rapidamente a coalhada caso o pH permanecesse elevado demais. Além disso, contribui significativamente para o desenvolvimento do sabor do queijo, uma vez que não apenas gera ácido lático, mas também produz outros compostos secundários que desempenham um papel fundamental na formação do aroma característico do produto (VIESSEYRE, 1988).

A lactose, presente no meio extracelular, é conduzida para o interior da célula de forma íntegra, mediada por proteínas transportadoras como a permease ou a fosdotranferase, sendo essencial o consumo de ATP para esse processo. Uma vez dentro da célula, ocorre a transferência de um grupo fosfato para a lactose, formando lactose- P, sob influência da fosfotransferase.

No caso específico da fosfotranferase, a lactose- P é subsequentemente hidrolisada pela enzima P-  $\beta$  – galactosidase. Esse processo enzimático resulta na quebra da lactose- P em glicose e galactose. Essa transformação é vital para a célula, permitindo a utilização desses açúcares como fonte de energia ou para participar de outras vias metabólicas intracelulares.

#### 4.2 Proteólise

A etapa de proteólise desencadeia modificação na textura do queijo, sendo sua intensidade influenciada pela extensão da proteólise, além do tempo e temperatura durante o processo de maturação. A hidrólise de caseína, a principal proteína presente no leite, desempenha um papel crucial em diversas produções de queijos. Além de afetar a textura do alimento, ela contribui para a formação de sabor, elasticidade, capacidade de derretimento e propriedades emulsificantes (FOX, 1993; FOX *et al.*; 2000).

Para que atividades enzimáticas ocorram, diversos fatores precisam ser considerados, como teor de água, concentração de ácidos e sódio, pH, temperatura de armazenamento e atividade de água. As proteinases e enzimas provenientes de bactérias desempenham um papel crucial na hidrólise da caseína, sendo que os lactobacilos termofílicos exibem uma ação mais intensa no efeito proteolítico em comparação aos mesófilos (FOX, 1993). As bactérias iniciadoras possuem um sistema proteolítico capaz de decompor a caseína, resultando na formação de aminoácidos.

No sistema operado pelas bactérias lactococos, há uma interação entre parede celular e o transporte da proteinase, uma enzima iniciadora, junto com aminoácidos e peptídeos. Essas bactérias são capazes de gerar pequenos peptídeos e aminoácidos livres através de enzimas proteolíticas provenientes do coalho, como a quimosina, ou da plasmina, que requer um pH elevado para favorecer sua reação. Os coagulantes desempenham uma função essencial na

hidrólise da k- caseína, desde que estejam em condições propícias.

A quimosina ou a plasmina atuam na quebra da ligação da k- caseína, resultando na produção de para-k-caseína e glicomacropéptídeos (que são perdidos no soro). A para-k-caseína, no entanto, permanece ligada às micelas de caseína e é incorporada ao queijo. A s1-caseína, s-2 caseína e a caseína-  $\beta$  são hidrolisadas apenas durante o período de maturação (FOX *et al.*, 2000).

Enquanto a para-k-caseína é insípida, os produtos resultantes de sua hidrólise formam péptídeos que apresentam sabor amargo. Por outro lado, os aminoácidos produzem sabores tanto doces quanto amargos. Esses compostos desempenham um papel essencial na formação dos sabores fundamentais do queijo (FOX, 1993).

Defeitos que surgem em queijos muitas vezes são atribuídos à atividade bacteriana. Por exemplo, podem ocorrer odores desagradáveis, textura pegajosa, falta de firmeza na casca e colorações inadequadas, inclusive tons fluorescentes. Em alguns casos, essas atividades bacterianas podem ser erroneamente associadas à proteólise durante a maturação. Se os produtores não estiverem cientes dessas condições, tais defeitos podem surgir, especialmente quando há o uso de água contaminada durante o processo de maturação (BOARI, 2020).

## 4.2 Lipólise

Na fase conhecida como lipólise, que ocorre quando o queijo está em condições propícias, há uma influência significativa no sabor e na textura, semelhante à proteólise. Durante esse processo, os lipídios podem ser transformados em ácidos graxos, que, por sua vez, podem ser convertidos em compostos aromáticos, como metilcetonas e lactonas (FOX *et al.*, 2000; HAYLOGLU; MC SWEENEY, 2014).

A lipólise tem início com a ação das lipases enzimas que hidrolisam os ésteres de ácidos carboxílicos. Vale destacar que essas enzimas atuam na interface entre óleo e água, independentemente do tipo de ligação presente. As lipases são ativadas em pH neutro ou ácido, promovendo a hidrólise dos ésteres de diglicerídeos ou triglicerídeos. Esse processo resulta na formação de glicerol e três ácidos graxos, que podem ser convertidos em metilcetonas e lactonas, contribuindo para o desenvolvimento do sabor característico do queijo.

Os níveis de ácidos graxos livres (AGLs) em um queijo podem variar ao longo do período de maturação, resultando em valores distintos entre o início e o final desse processo. Por exemplo, em queijos como o Queijo Pico, essa diferença pode ser observada em maturações de até 21 dias. A utilização de leite cru permite o desenvolvimento dessas características, pois o leite contém uma enzima ativa que contribui para o surgimento do sabor. Entretanto, essa enzima fica ausente quando o leite é submetido a processos térmicos em temperaturas elevadas (HAYLOGLU; MC SWEENEY, 2014; TEKIN; GÜLER, 2019).

Os ácidos graxos livres (AGLs) desempenham um papel na formação de sabores, incluindo o picante. No entanto, se esses ácidos graxos não apresentarem o sabor básico adequado, podem resultar em um sabor rançoso (FOX, 1993). Durante o processo de lipólise, ocorre a conversão dos ácidos graxos em compostos voláteis, como ésteres, cetonas, aldeídos e hidrocarbonetos, que contribuem para o perfil de sabor (BEZERRA, 2015). No entanto, se a lipólise ocorrer sem o devido controle dos processos, em vez de agregar novos sabores desejados, pode resultar em defeitos, sendo sabor de ranço um exemplo, o que impacta negativamente o produto final e sua comercialização (SOBRAL *et al.*, 2017).

O teor de lipídeos e proteínas em um queijo podem variar no resultado final, dependendo da elaboração do queijo e dos ingredientes adicionados durante o processo (CORRÊA, 2014).

## **5 MATERIAL E MÉTODOS**

O projeto foi executado na Universidade Federal de Lavras sendo as amostras coletadas em uma queijaria registrada no Programa Queijo Minas Artesanal (PQMA), situada na microrregião da serra da Mantiqueira.

### **5.1 Coleta das amostras**

Foram coletadas 6 unidades de queijos diretamente de uma queijaria no primeiro dia de fabricação, de 5 kg cada. As amostras foram transportadas em caixas isotérmicas, contendo gelo, para o laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras.

### **5.2 Preparo e padronização do inóculo**

Foi utilizada a cepa P90 de *Staphylococcus aureus* produtora de enterotoxina A, isolada de leite bovino de animais com mastite cedida pelo Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras. O inóculo foi padronizado utilizando curva de crescimento, realizada em caldo BHI (infusão cérebro coração) e incubada a 37 °C. O crescimento microbiano foi acompanhado pela absorbância da cultura (DO 600 nm) e por contagem em placas empregando-se ágar BHI, com incubação a 37 °C por 24h. As culturas foram padronizadas em 10<sup>10</sup> UFC/mL.

### **5.3 Inoculação de *Staphylococcus aureus* no queijo**

Os queijos foram inoculados com *S. aureus* (10<sup>10</sup> UFC/g) e maturados em câmara de maturação na temperatura média de 19 a 21 °C e umidade entre 70 e 80%, em prateleiras de madeira pinus tratado (140 mm x 400 mm), durante o período de 42 dias. Cada queijo (amostra) teve sua superfície marcada de forma a se obter quatro partes iguais (unidades experimentais) três das quais foram inoculadas com *S. aureus*. A inoculação foi realizada em pontos aleatórios



do queijo e em diversas profundidades com auxílio de seringa descartável. Após o tempo de maturação adequado, as unidades experimentais foram raladas assepticamente em multiprocessador para posterior análises. Foram avaliados os tempos de maturação de 0, 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias.

#### **5.4 Quantificação de *Staphylococcus aureus* em Queijo Artesanal de Minas**

De cada amostra de queijo inoculada com *S.aureus* foram retiradas 25 g de que foram adicionadas em 225 mL de solução de citrato de sódio (2%, m/v) e homogeneizados em homogeneizador tipo Stomacher Metroterm® (490 golpes/min.) por 5 minutos. Em seguida foram realizadas as diluições seriadas em água peptonada (0,1% m/v) das quais alíquotas de 0,1 mL das diluições adequadas foram inoculadas em placas contendo ágar Baird-Parker (BP) e incubadas a 37 °C por 24h. Após esse período, as colônias típicas foram quantificadas e isoladas para identificação (SILVA *et al.*, 2010).

#### **5.5 Quantificação de bactérias ácido lácticas**

Alíquotas de 25 g das amostras, com e sem inoculação, foram homogeneizadas em Stomacher (490 golpes/min.) por 3 minutos em 225 mL de solução de citrato de sódio a 2% (m/v). Após homogeneização, foram realizadas diluições seriadas em água peptonada 0,1% (m/v). Alíquotas de 1mL das diluições adequadas foram plaqueadas em ágar MRS (Man Rogosa & Sharp) e incubadas 30 °C por 48h em condições anaeróbicas geradas por gerador de anaerobiose (Anaerobac®, Probac do Brasil®). Após o cultivo, as colônias foram quantificadas (SILVA *et al.*,2010).

#### **5.6 Qualidade microbiológica dos queijos**

Amostras de 25 g de cada unidade experimental dos queijos não inoculados foram adicionados em 225 mL de solução de citrato de sódio 2% (m/v) e homogeneizados em homogeneizador tipo stomacher (490 golpes/min.) por 5 min. Seguido da realização de diluições seriadas em água peptonada 0,1% (m/v).

#### **4. 6.1 Coliformes totais e termotolerantes**

As análises foram feitas seguindo 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 realizado 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 48h, serão 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 apresentarem turvação e formação de gás.

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 de repicagem para tubos contendo o meio de cultura caldo *Escherichia coli* (EC) adicionado de tubos de Durhan. Os tubos foram incubados em estufa a 45 °C, por 48h e foram considerados positivos aqueles que apresentarem turvação e formação de gás (SILVA *et al.*, 2010)

#### **4.6.2 Presença/ausência de *Salmonella* spp.**

Amostras de 25 g de cada unidade experimental dos queijos foram adicionados em 225 mL de água peptonada tamponada e incubadas a 37 °C por 18 horas. após esse período alíquotas de 1 mL foram transferidas para tubos contendo caldo Rappaport-Vassiliadis e caldo Tetrionato e incubados a 37 °C por 24h, após a etapa de enriquecimento alíquotas de cada cultura foram estriadas em ágar entérico Hecktoen e incubados a 37 °C por 24h.

#### **4.6.3 Presença/ausência de *Listeria monocytogenes***

Amostras de 25 g de cada unidade experimental dos queijos foram adicionados em 225mL de caldo Fraser e incubadas por 24h. Após esse período alíquotas das culturas foram estriadas em ágar Palcam e incubadas a 37 °C por 24h.

### **5.7 pH**

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

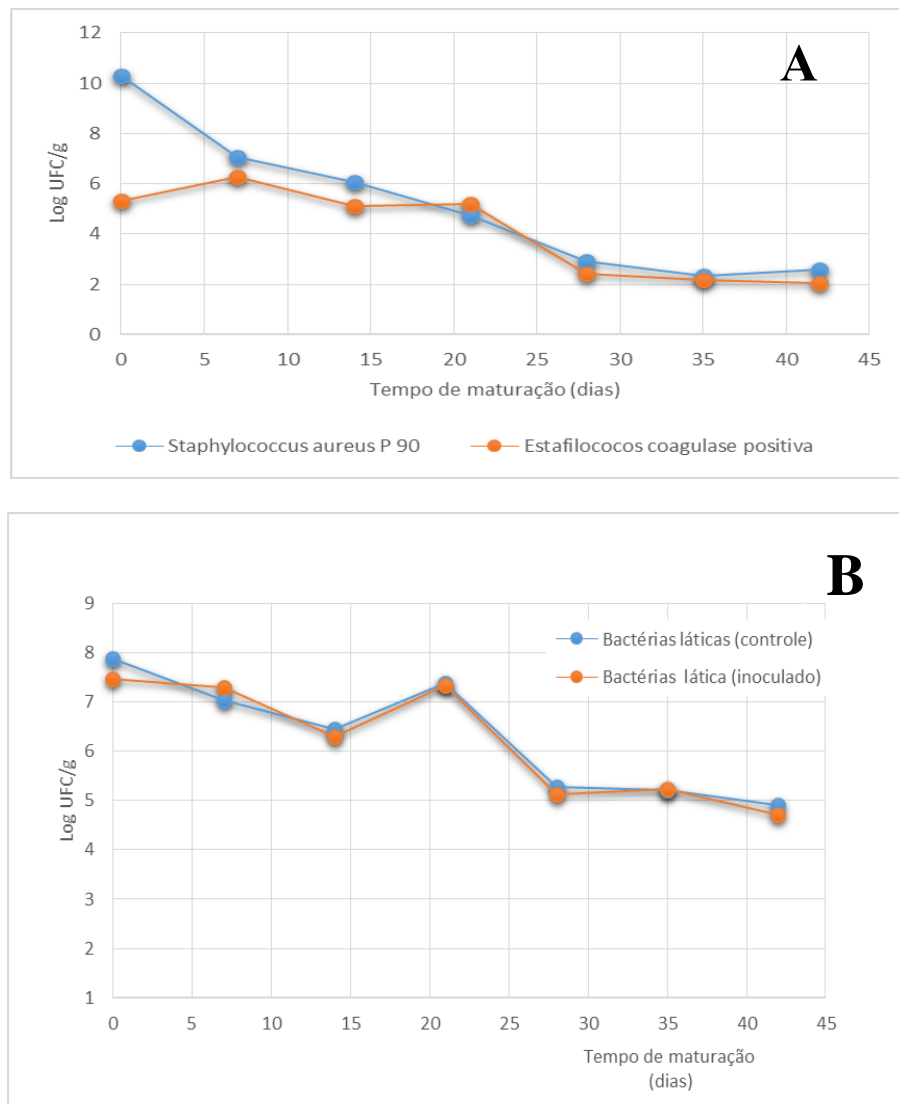
### **5.8 Atividade de água (Aa)**

A determinação da atividade de água foi realizada utilizando-se medidor digital. Aqualab modelo CX2T - Decagon Devices, Inc., Washington, USA, conduzida a  $25 \pm 0.3$  °C, utilizando-se amostras coletadas em toda extensão dos queijos (IAL,2008).

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 4 mostra o comportamento de *Staphylococcus* e bactérias lácticas durante o processo de maturação do queijo Artesanal de Minas da região da Mantiqueira, sendo que a Figura 4A mostra o decaimento tanto de *Staphylococcus aureus* P90 quanto estafilococos coagulase positiva presente nos queijos e a Figura 4B mostra o comportamento das bactérias lácticas no queijo durante a maturação.

Figura 4 - Comportamento de *Staphylococcus* e bactérias lácticas durante o processo de maturação do queijo Artesanal de Minas da região da Mantiqueira



(A) *Staphylococcus aureus* P90 e *Staphylococcus* coagulase positiva. (B) Contagem total de bactérias lácticas.

Fonte: Da Autora (2023).

Pode-se observar que durante todo o período de maturação ocorre queda tanto do número de estafilococos coagulase positiva quanto de *S. aureus* P90 (Figura 4A), cepaprodutora de enterotoxina A inoculada no queijo após sua salga. Após 21 dias de maturação a redução de *S. aureus* P90 foi de cerca de 4 Log UFC/g, já estafilococos coagulase positiva, quantificado no queijo controle, apresentou queda acentuada na sua viabilidade após 21 dias dematuração. Esse comportamento, de redução do número de microrganismos patogênicos durante a maturação dos queijos, é observado nos mais variados tipos de queijos. vários fatores contribuem para o decaimento do número de células viáveis, podendo ser às modificações físico químicas que ocorrem durante a maturação do queijo, que levam à lise celular (HICKEY *et al.*, 2015), a presença das BAL, dentre outros.

As BAL são de extrema importância na fabricação dos queijos artesanais pois a elas são atribuídos o desenvolvimento do sabor e textura do queijo, além da produção de vários metabólitos, como bacteriocinas, peróxido de hidrogênio, peptídeos bioativos, dentre outros que vão, ao final do processo de maturação garantir a inocuidade microbiológica do queijo artesanal. Além disso, com a lise celular, enzimas proteolíticas que auxiliaram no processo de desenvolvimento do sabor e na regulação do processo de maturação (FOX *et al.*, 2017). A atuação das BAL sobre as bactérias patogênicas foi mostrada por Margalho *et al.* (2020), em que 94,1% e 95,9% dos isolados de BAL de queijos artesanais de quatro regiões diferentes apresentaram ação antagônica sobre *S. aureus* e *Listeria monocytogenes*, respectivamente. Assim, a redução de *S. aureus* no queijo pode estar associada à produção desses antimicrobianos pelas BAL.

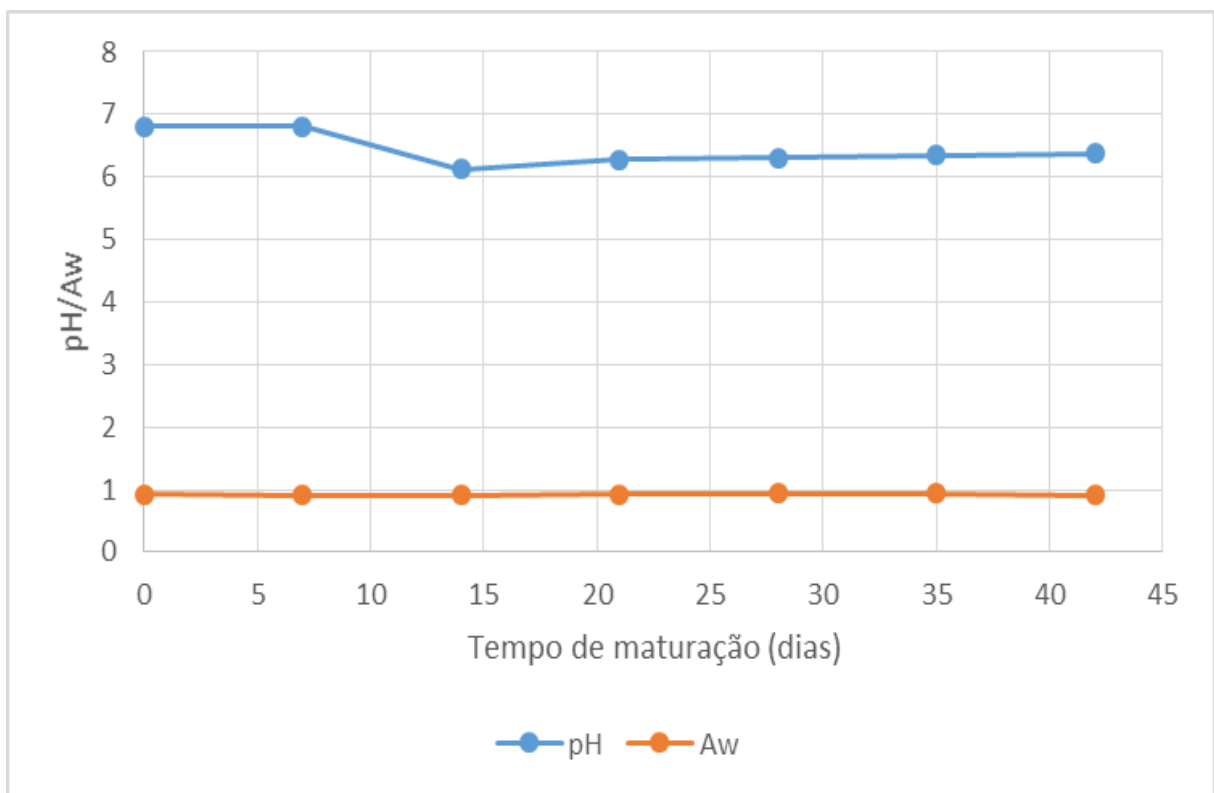
Observando a Figura 4B, o número de BAL tanto no controle quanto no tratamento foram semelhantes, sugerindo que a inoculação de *S. aureus*, mesmo em grande número, não influenciou em seu número.

Nos primeiros 15 dias foi observada a queda de cerca de dois ciclos logarítmicos no número das BAL, sugerindo que essas, ao serem submetidas às modificações físico-químicas ocorridas durante a maturação, ficam expostas a condições de estresse, podendo estar perdendo sua viabilidade, ou estarem entrando num estado viável porém não cultivável. Após 20 dias de maturação observou-se o aumento das BAL, sugerindo que as BAL não iniciadoras, aquelas mais tolerantes às condições estressante, retomam seu crescimento. Entretanto, após esse período ocorreu após 21 dias de maturação, no dia 28 foi observada a queda do número dessas células, cerca de 2 Log UFC/g, que se mantiveram praticamente estáveis até o último dia de maturação (42 dias).

Quanto à qualidade microbiológica em termos de microrganismos de segurança e contaminação fecal, não foi detectado em nenhum tempo avaliado a presença de coliformes totais e termotolerantes. O mesmo ocorreu tanto para *Salmonella* spp. quanto *Listeria monocytogenes*. Esses resultados mostram que tanto a obtenção do leite quanto a manipulação durante todo o processo produtivo foi realizado empregando-se devidamente as Boas Práticas de Fabricação.

A Figura 5 mostra a variação do pH e da atividade de água dos queijos durante a maturação.

**Figura 5:** Variação de pH e atividade de água dos queijos durante a maturação dos queijos.



Fonte: Da Autora (2023).

Houve pequena variação do pH do queijo durante a maturação, entretanto a atividade de água praticamente permaneceu a mesma, com média de 0,921.

A pouca alteração do pH do queijo normalmente ocorre devido a proteólise que acontece durante a maturação na qual ocorre a formação de  $\text{NH}_3^+$  que alcaliniza o meio (HICKEY *et al.*, 2015). Já a Aa pode ter permanecido quase sem alteração devido às condições ambientais nas quais o queijo foi maturado, com umidade relativa média de 70 a 80%, o que favoreceu a formação rápida de casca dura, mesmo o queijo sendo virado todos os dias. Dessa forma a perda

de água para o ambiente foi reduzido, interferindo na Aa.

## **7 CONCLUSÃO**

O queijo que foi utilizado neste trabalho, em particular, é produzido em peças de 5 kg, dessa forma, segundo o produtor, é exigido que sua maturação ocorra por 60 dias, para garantir sua segurança microbiológica. Entretanto, os dados preliminares obtidos nesse trabalho, mostram que, para *S. aureus* o tempo de maturação pode ser reduzido. Sua qualidade microbiológica foi considerada adequada, não sendo detectado bactérias do grupo dos coliformes, *Salmonell* spp. e *Listeria monocytogenes* durante todo o tempo de maturação. Não houve alterações expressivas do pH nem da atividade de água do produto durante sua maturação.

## 8 REFERÊNCIAS

ABREU, E. S. de. **Produção do queijo minas artesanal da microrregião do Serro: tradição, legislação e controvérsias**. 2015. 139 f. Dissertação (Mestrado em Extensão Rural). - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

AGUIAR, F. R. M. **Presença de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) em queijos de coalho produzidos no estado do Ceará e seu perfil de resistência e genes de virulência**. 2022. 149 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2022. Disponível em: <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/65022>.

ALLAION, J. R.; BARRIONUEVO, K. G.; FRANCO, B. D. G. M. Assessing the microbiological safety parameters of minas artisanal cheese samples in retail environments in São Paulo, Brazil. **Applied Sciences**, v. 11, n. 19, p. 9331, 2021.

AMORIM, A. L. B. C. **Avaliação da qualidade higiênica e sanitária de queijos tipo Minas Padrão de fabricação industrial, artesanal e informal**. Orientador: Márcia de Aguiar Ferreira. 2013. 53 f. Monografia (Curso de Medicina Veterinária) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

ANDRETTA, M. *et al.* Microbial safety status of Serro artisanal cheese produced in Brazil. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 12, p. 10790–10798, 1 dez. 2019. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030219308562>.

ANTÔNIO, M. B. D.; BORELLI, B. The role of lactic acid bacteria in the safety and quality of Minas artisanal cheeses. **Journal of CandidoTostes Dairy Institute**, v. 75, n. 3, 2021-03-25 2021.

BARUQUI, A. M.; NAIME, U. J.; MOTTA, P. E. F. da, & Carvalho Filho, A. de (2006). **Levantamento de reconhecimento de média intensidade dos solos da zona Campos das Vertentes – Dados eletrônicos**. 96p. Rio de Janeiro: Embrapa Solos.

BEZERRA, F. C. **Estudo das interações de moléculas orgânicas com imunoglobulinas G**. 2015. 60 f. Dissertação (Mestrado em Física) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2015.

BOARI, C. A. **Queijos Artesanais. Higienização em queijarias artesanais**. Boletim de Extensão, Teófilo Otoni, n. 2, 2020.

BORGES, M. F.; ARCURI, E. F.; PEREIRA, J. L.; FEITOSA, T.; KUAYE, A. Y. *Staphylococcus* Enterotoxigênicos em leite e produtos lácteos, suas enterotoxinas e genes associados: revisão. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v.34, n.1, p.70-86, 2008.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. **Instrução Normativa nº 30, de 07 de agosto de 2013**. Permite que os Queijos Artesanais tradicionalmente elaborados a partir de leite cru sejam maturados por um período inferior a 60 dias, quando estudos técnico-científicos comprovarem que a redução do período de maturação não compromete a qualidade e a inocuidade do produto. Brasília, 2013

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. **Instrução Normativa nº 28, de 23 de julho de 2019**. Define conforme estabelecido no Manual de Construção e Aplicação do selo ARTE. Brasília, 2019.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. **Portaria nº 366, de 04 de maio de 2012**. Reconhecer a equivalência do Serviço de Inspeção de Produtos de Origem Animal da Secretaria de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento de Minas Gerais.

Brasília, 2012.



BRASIL. **Decreto nº 9.918, de 18 de julho de 2019. Regulamento o art. 10-A da Lei nº 1.238, de 18 de dezembro de 1950**, que dispõe sobre o processo de fiscalização de produtos alimentícios de origem animal produzidos de forma artesanal. Brasília, 2019.

BRASIL. **Lei nº 13.680, de 14 de junho de 2018. Altera a Lei nº 1.238, de 18 de dezembro de 1950**, para dispor sobre o processo de fiscalização de produtos alimentícios de origem animal produzidos de forma artesanal. Brasília, 2018. Disponível em: <https://prespublica.jusbrasil.com.br/legislacao/590019163/lei-13680-18>.

BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. Portaria nº 146, de 7 de março de 1996. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**: seção 1, Brasília, DF, n. 48, p. 3977, 11 mar. 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 73, de 23 de dezembro de 2019**. Estabelece, em todo território nacional, o Regulamento Técnico de Boas Práticas Agropecuárias destinadas aos produtores rurais fornecedores de leite para a fabricação de produtos lácteos artesanais, necessárias à concessão do selo ARTE. Brasília, 2019.

BRASIL. **Resolução Nº 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. **Surtos de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar no Brasil**. Brasília-Brasil: 2022.

CAMPAGNOLLO, F. B. *et al.* Quantitative risk assessment of *Listeria monocytogenes* in traditional Minas cheeses: the cases of artisanal semi-hard and fresh soft cheeses. **Food control**, v. 92, p. 370-379, 2018.

CAMPOS, G. Z. *et al.* Microbiological characteristics of Canastra cheese during manufacturing and ripening. **Food Control**, v. 121, p. 107598, 2021.

CASTRO, Mariana Tôrres. **A maturação e a qualidade microbiológica de queijos**. Food Safety Brasil, 2018. Disponível em: < <https://foodsafetybrazil.org/maturacao-e-qualidade-microbiologica-de-queijos/>>.

CASTRO, R.; OLIVEIRA, L.; SANT'ANNA, F.; LUIZ, L. M. P.; SANDES, S. H. C.; SILVA, C. I.F.; SILVA, A. M.; NUNES, A. C.; PENNA, C. F. A. M.; SOUZA, M. R. Lactic acid microbiota identification in water, raw milk, endogenous starter culture, and fresh Minas artisanal cheese from the Campo das Vertentes region of Brazil during the dry and rainy seasons. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 8, p. 6086-6096, 2016.

COGAN, T. M. *et al.* **Characterization of the lactic acid bacteria in artisanal dairy products**. **Journal of Dairy Research**, v. 64, n. 3, p. 409-421, 1997.

COSTA, RGB, SOBRAL, D., PAIVA, CS, RODRIGUES, RF, LIMA, M. DE S., PAULA, JCI DE,... MARTINS, M. DOS S. (2022). **Os queijos Minas artesanais – uma breve revisão**. Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento , 11 (8), e16911830012. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i8.30012>

DORES, M. T.; FERREIRA, C. L. L. F. **Queijo minas artesanal, tradição centenária: ameaças e desafios**. Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável, 2012.

DORES, M. T.; NOBREGA, J. E.; FERREIRA, C. L. L. F. Room temperature aging to guarantee microbiological safety of Brazilian artisan Canastra cheese. **Food Science and**

**Technology**, v. 33, p. 180-185, 2013.

DORES, Milene Therezinha das. **Enterotoxigenicity of Staphylococcus aureus isolated of the Minas Artisanal Cheese from Canastra**. 2013. 78 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos; Tecnologia de Alimentos; Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

EMATER – Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Minas Gerais. **Caracterização integrada de municípios na região da Mantiqueira como produtores de queijo artesanal**. Belo Horizonte: Emater, 2019b. 132 p.

EMATER. **Mapa do Queijo Minas Artesanal**. Belo Horizonte, (2011).

EMBRAPA. **O Mercado Consumidor de Leite e Derivados**. Juiz de Fora, MG: Circular Técnica 120, 2019. 17 p.

EMBRAPA. **Queijo Minas Artesanal: Valorizando a Agroindústria Familiar**. Brasília, DF, 2018. 23 ed. 102 p.: il. color. ISBN 978-85-7035-869-1.

FOX, P. F. **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology**. v. 1. General Aspects. **Published by Chapman e Hall**, 2-6 Boundary Row. 2 nd. ed. 577p. 1993.

FOX, P. F. *et al.* **Cheese: An Overview**. In: - ---, **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology**. 3 ed., Elsevier Academic Press. Vol. 1, pp. 1-2. London. 2004.

FOX, P. F.; GUINEE, T. P.; COGAN, T. M.; McSWEENEY, P. L. H. **Fundamentals of cheese science**. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland. 2000. 544 p.

FOX, P. F.; McSWEENEY, P. L. H. **Dairy Chemistry and Biochemistry**. **Published by Blackie Academic & Professional, an imprint of Thomson Science**, 2-6 Boundary Row, London SE1 8UK. First ed. 1998. 478p.

FOX, Patrick F. e colab. **Microbiology of Cheese Ripening**. **Fundamentals of Cheese Science**. **Boston, MA**: Springer US, 2017. p. 333–390. Disponível em: <[http://link.springer.com/10.1007/978-1-4899-7681-9\\_11](http://link.springer.com/10.1007/978-1-4899-7681-9_11)>.

GRACE, D.; WU, F.; HAVELAAR, A. H. MILK Symposium review: Foodborne diseases from milk and milk products in developing countries—Review of causes and health and economic implications. **Journal of dairy science**, v. 103, n. 11, p. 9715-9729, 2020.

HAYALOGLU, A; MC SWEENEY, P. **Primary Biochemical Events During Cheese Ripening**. In: **Dairy microbiology and biochemistry**. [S. l.]: CRC Press, 2014. p. 134–166.

HICKEY, C. D. *et al.* The influence of cheese manufacture parameters on cheese microstructure, microbial localisation and their interactions during ripening: A review. **Trends in food science & technology**, v. 41, n. 2, p. 135-148, 2015.

IAF, Instituto Adolfo Lutz (2008) Normas analíticas do IAL: **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, 1020 p.

IMA, Instituto Mineiro de Agropecuária. **Regiões produtoras de queijo Minas artesanal**, 2021. Disponível em: <<http://www.ima.mg.gov.br/certificacao/queijo-minas-artesanal>> .

INSTITUTO DO PATRIMÔNIO HISTÓRICO E ARTÍSTICO NACIONAL – IPHAN. Ministério da Cultura. Serviço Público Federal. **Certidão do Registro do modo artesanal de fazer queijo de Minas, nas Regiões do Serro e nas Serras da Canastra e do Salitre**. Data do Registro: 13 jun. 2008. Brasília: Departamento do Patrimônio Imaterial do Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional, 2 p., 2008.

**INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria nº 1.305, de 30 de abril de 2013.**  
Estabelece as Diretrizes para a produção de Queijo Minas Artesanal. Belo Horizonte, 2013.

**INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria nº 1.937, de 14 de agosto de 2019.**  
Dispõe sobre a habilitação sanitária dos queijos artesanais e da concessão do selo Arte às queijarias com habilitação sanitária no IMA. Belo Horizonte, 2019.

**INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria nº 1.969, de 26 de março de 2020.**  
Dispõe sobre a produção de Queijo Minas Artesanal em queijarias e entrepostos localizados dentro de microrregiões definidas e para as demais regiões do Estado, caracterizadas ou não como produtora de Queijo Minas Artesanal – QMA. Belo Horizonte, 2019.

**INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria nº 517, de 14 de junho de 2002.**

Estabelece normas de defesa sanitária para rebanhos fornecedores de leite para a produção de Queijo Minas Artesanal. Belo Horizonte, 2002. Disponível em: <http://www.ima.mg.gov.br/institucional/portarias#ano-2002>.

INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. **Portaria nº 518, de 14 de junho de 2002.** Dispõe sobre requisitos básicos das instalações, materiais e equipamentos para a fabricação do Queijo Minas Artesanal. Belo Horizonte, 2002. Disponível em: <http://www.ima.mg.gov.br/institucional/portarias#ano-2002>.

INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. **Portaria nº 523, de 03 de julho de 2002.** Dispõe sobre as condições higiênico-sanitárias e boas práticas na manipulação e fabricação do Queijo Minas Artesanal. Belo Horizonte, 2002. Disponível em: <http://www.ima.mg.gov.br/institucional/portarias#ano-2002>.

MAGALHÃES. 2014. 114 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia do leite) **Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2014.**

MARGALHO, L.P. *et al.* Brazilian artisanal cheeses are rich and diverse sources of nonstarter lactic acid bacteria regarding technological, biopreservative, and safety properties—Insights through multivariate analysis. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 9, p. 7908-7926, 2020.

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*, v.11, n. 4, 2022. Review.

MARTINS, José Manoel. **Características físico-químicas e microbiológicas durante a maturação do queijo minas artesanal da região do Serro.** 2006.

McSweeney, P.; FOX, P.; COTTER, P.; EVERETT, D. **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology.** Academic press, ed. 4, 2017.

MEDEIROS, Jovilma Maria Soares de. **Incidência do *Staphylococcus aureus* na produção do queijo de coalho artesanal e qualidade de novas formulações.** 2020. Tese (Programa de Pós- Graduação em Ciência Animal) - Universidade Federal Rural do Semi- Árido, Mossoró/RN, 2020.

MENESES, J. N. C. **Queijo Artesanal de Minas: patrimônio cultural do Brasil.** v. 1, p. 156, 2006

MINAS GERAIS (Estado). **Decreto no 42.645, de 5 de junho de 2002. Aprova o regulamento da lei nº 14.185, de 31 janeiro de 2002,** que dispõe sobre o processo de produção de queijo minas artesanal. Diário do Executivo, Belo Horizonte, 2002.

MINAS GERAIS (Estado). **Lei no 14.185, de 31 de janeiro de 2002.** Dispõe sobre o processo de produção do queijo minas artesanal e dá outras providências. Diário do Executivo, Belo Horizonte, 2002. **Revogada pelo art. 28 da Lei nº 167 20.549, de 18 de dezembro de 2012.**

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>.

MINAS GERAIS. Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA). **Portaria IMA nº2.051, 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, 07 de abril de 2021.

MINAS GERAIS. Instituto Mineiro de Agropecuária. Portaria nº 2049, de 07 de abril de 2021. Estabelece o regulamento técnico de identidade e qualidade do queijo artesanal Mantiqueira de Minas. **Diário Oficial do Estado de Minas Gerais**, Belo Horizonte, MG, 07 abr. 2021b.

MINAS GERAIS. Instituto Mineiro de Agropecuária. Portaria nº 2049, de 07 de abril de 2021. Estabelece o regulamento técnico de identidade e qualidade do queijo artesanal Mantiqueira de Minas. **Diário Oficial do Estado de Minas Gerais**, Belo Horizonte, MG, 07 abr. 2021b.

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, 18 de dezembro de 2012.

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.

NERO, L. A; NOGUEIRA, G. **Análises Moleculares Para Avaliação Do Potencial Enterotoxigênico de *Staphylococcus aureus* isolados De Leite E Queijo**. IV Simpósio Nacional de Bovinocultura de Leite, 2007.

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, Belo Horizonte, 2014 .

PEREIRA, M. T; SANTANA, E. H. W; SANTOS, J. S. **Importância das bactérias ácido láticas e não Starter (NSLAB) na tecnologia de produção de derivados lácteos**. Ensaios, v. 24, n. 4, p. 348-352, 2020.

PINEDA, Ana Paulina Arellano. **Caracterização molecular de *Staphylococcus aureus* isolados de queijos artesanais da Serra da Canastra**. 2022. Tese (Doutorado em Bromatologia) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022. doi:10.11606/T.9.2022.tde-13102022-150737. Acesso em: 2023-07-09.

PINTO, M. S. *et al.* Características físico-químicas e microbiológicas do queijo artesanal produzido na microrregião de Montes Claros-MG. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, 2016.

PINTO, MS, FERREIRA, CL DE LF, MARTINS, JM, TEODORO, VAM, PIRES, AC DOS S., FONTES, LBA, & VARGAS, PIR (2009). **Segurança Alimentar do Queijo Minas Artesanal do Serro, Minas Gerais, em Função da Adoção de Boas Práticas de Fabricação**. Pesquisa Agropecuária Tropical , 39 (4), 342–347.

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. 158 f. Tese (Ciência e Tecnologia de Alimento)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2017. Disponível em: <https://www.locus.ufv.br/handle/123456789/17195>.

RESENDE, E. C. **Aspectos sensoriais e microbiológicos do queijo Minas artesanal da microrregião Campo das Vertentes**. 2014. 114p. Dissertação (Mestrado Profissional) –

Programa de Pós-Graduação em ciência e Tecnologia de leite e derivados. Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2014.

R Andrew Wilbey, J E Scott, Richard K Robinson No preview available - 1998 ... **Springer Science & Business Media**, 1998. ISBN, 0751404179, 9780751404173.

RESENDE, M. F. S. *et al.* Queijo de minas artesanal da Serra da Canastra: influência da altitude das queijarias nas populações de bactérias ácido lácticas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, p. 1567-1573, 2011.

SANTOS, A.S.. **Queijo minas artesanal da microrregião do Serro-Mg**: efeito da sazonalidade sobre a microbiota do leite cru e comportamento microbiológico durante a maturação. 2010. 67 p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2010.

SANTOS, C. G. *et al.* Condições higiênico-sanitárias na produção de queijo artesanal produzido em Uberaba–MG. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 72, n. 2, p. 96-107, 2017.

SANTOS, J. S.; CRUZ, F. T.; MENASCHE, R. **O mineiro, o queijo e os conflitos (nada poéticos) em torno dos alimentos tradicionais produzidos artesanalmente no Brasil**. In: ENCONTRO DA REDE DE ESTUDOS RURAIS: DESENVOLVIMENTO, RURALIDADES E AMBIENTALIZAÇÃO: Paradigmas e atores em conflito, 5º, 2012, Belém. Conference Paper. UFPA, Belém (PA), 2012, 15p.

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: 2010. 624 p.

SOARES Pinto, M. *et al.* (2009). **Segurança alimentar do queijo minas artesanal do serro, minas gerais, em função da adoção de boas práticas de fabricação**. Pesquisa Agropecuária Tropical, 39 (4), 342-347.

SOARES, D. B. *et al.* Sanitary and physicochemical analysis and bacteriological adequacy of minas artisanal cheese produced in two properties. **Ciência Animal Brasileira**, v. 19, 2018.

SOBRAL, D. *et al.* Queijos artesanais de Minas, nem todos são QMA: uma breve revisão. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 77, n. 1, p. 55-67, 2022.

SOBRAL, Denise *et al.* **Principais Defeitos Em Queijo Minas Artesanal: Uma Revisão**. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, [s. l.], v. 72, n. 2, p. 108–120, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.14295/2238-6416.v72i2.600>

SOUZA, A. O. V.. **Caracterização fenotípica e genotípica de *Staphylococcus aureus* proveniente de leite**. 2020. Dissertação (Programa de Pós- Graduação em Produção Animal) - Universidade Federal do Semi- Árido, Mossoró/ RN, 2020.

TEKIN, Ali; GÜLER, Zehra. **Glycolysis, lipolysis and proteolysis in raw sheep milk Tulum cheese during production and ripening: Effect of ripening materials**. Food Chemistry, [s. l.], v. 286, p. 160–169, 2019.

VEISSEYRE, Roger. **Lactología Técnica: composición, recogida, tratamiento y transformacion de la leche**. 2.ed. Espanha: Editora Acríbia S.A, 1988. 629 p.

VIEIRA, A.C.A.. **Avaliação in vitro de propriedades probióticas e tecnológicas de bactérias ácido-lácticas isoladas de queijo artesanal da Serra Geral (MG)**. Dissertação Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal - Universidade Federal de Minas Gerais, 2022.

YAMANAKA, E. H. U. *et al.* Qualidade microbiológica de queijos e salames artesanais brasileiros. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 75, p. 01-09, 2016.