



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**Efeitos do processo de maturação sobre a microbiota autóctone de  
queijo produzido com leite cru**

Laura Costa Borges

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Márcia de Aguiar Ferreira

Brasília - DF  
Dezembro/2015



**LAURA COSTA BORGES**

---

**Efeitos do processo de maturação sobre a microbiota autóctone de  
queijo produzido com leite cru**

Trabalho de conclusão de curso de graduação  
em Medicina Veterinária apresentado para a  
Faculdade de Agronomia e Medicina  
Veterinária da Universidade de Brasília.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Márcia de Aguiar Ferreira

Brasília - DF  
Dezembro/2015

Borges, Laura Costa

Efeitos do processo de maturação sobre a microbiota autóctone de queijo produzido com leite cru; orientação da Profa. Dra. Márcia de Aguiar Ferreira. – Brasília, 2015.

Nº de pag.: 26

Monografia - Universidade de Brasília / Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2015.

1. Queijo minas. 2. Leite cru. 3. Microrganismos indicadores.

### **Cessão de direitos**

Nome do autor: Laura Costa Borges

Título da monografia de conclusão de curso: Efeitos do processo de maturação sobre a microbiota autóctone de queijo produzido com leite cru

Ano: 2015

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta monografia e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta monografia pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

---

Laura Costa Borges  
e-mail: lcostaborges@gmail.com

Nome do autor: BORGES, Laura Costa

Título: Efeitos do processo de maturação sobre a microbiota autóctone de queijo produzido com leite cru

Trabalho de conclusão do curso de Medicina Veterinária apresentado à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília.

Aprovado em: 11 de dezembro de 2015.

Banca Examinadora

Prof. Dra. Márcia de Aguiar Ferreira

Instituição: Universidade de Brasília

Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Clayton Quirino Mendes

Instituição: Universidade de Brasília

Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Esp. Kamila Ferreira Costa Serafini

Instituição: Alliment Consultoria

Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente à minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Márcia Ferreira por estar sempre disponível a ensinar e pelo exemplo de pessoa e profissional.

À Jaqueline Lamounier por me auxiliar durante o experimento e sempre contagiar alegria àqueles que estão a sua volta.

Aos integrantes do LABLEITE, em especial ao Anderson Santos e Amanda Amorim, muito obrigada pelo convívio e todas as ajudas.

Ao setor de produção de leite da FAL/UnB por ceder a matéria prima utilizada para elaboração deste trabalho.

À Cap-Lab e Associação Brasileira das Indústrias de Queijo (ABIQ) por fornecerem materiais utilizados nesse experimento.

Aos profissionais do SIFISA/SFA/DF pelos ensinamentos, em especial ao meu supervisor, o M.V. Danilo Casotti.

Ao programa Ciência Sem Fronteiras do CNPq, por proporcionar a melhor experiência profissional e de vida que já tive.

À equipe Rancho da Capital e ao meio equestre pelo apoio, amizade e por me ensinar a ter disciplina para alcançar os objetivos na vida.

Aos amigos por todas as risadas e bons momentos.

À minha família, por tudo.

## RESUMO

Durante a maturação de queijos ocorrem diversas reações bioquímicas que resultam em alterações significativas de pH e da umidade, podendo influenciar diretamente no desenvolvimento de diversos microrganismos deteriorantes e patogênicos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da maturação sobre a microbiota autóctone de queijos produzidos com leite cru. Foi produzido um queijo do tipo minas, com leite cru, que foi mantido em temperatura ambiente por um período de 60 dias e submetido a análises no primeiro dia e a cada 10 dias (T0 a T6); também foram analisadas a matéria prima (leite cru) e a massa. As análises microbiológicas realizadas foram para contagens de bactérias ácido-láticas (BAL), microrganismos aeróbios mesófilos (AM), bolores e leveduras (B/L), coliformes a 35°C (CT), coliformes a 45°C (CTt), psicotróficos (PSI), *Staphylococcus* coagulase positiva (SCP) e para detecção de *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. Realizou-se determinação do teor de umidade das alíquotas do queijo. Os resultados obtidos mostraram que a matéria prima apresentou altas contagens dos microrganismos pesquisados (BAL  $7,5 \times 10^5$  UFC/mL; AM  $1,0 \times 10^6$  UFC/mL; B/L  $1,7 \times 10^3$  UFC/mL; CT  $4,3 \times 10^4$  NMP/mL; CTt  $1,5 \times 10^3$  NMP/mL; PSI  $8,4 \times 10^4$  UFC/mL). A massa do queijo apresentou contagens ainda mais elevadas:  $1,4 \times 10^7$  UFC/g para BAL;  $2,0 \times 10^9$  UFC/g para AM;  $1,1 \times 10^4$  UFC/g para B/L;  $>1,1 \times 10^7$  NMP/g para CT;  $2,1 \times 10^6$  NMP/g para CTt;  $5,5 \times 10^6$  UFC/g para PSI;  $9,3 \times 10^4$  UFC/g para SCP. Observou-se que até T2 as contagens desses microrganismos permaneceram elevadas, somente ocorrendo redução a partir de T3. Deve-se ressaltar que as contagens finais de T6 ainda foram altas (BAL  $9,0 \times 10^3$  UFC/g; AM  $2,1 \times 10^4$  UFC/g; B/L  $4,0 \times 10^5$  UFC/g; CT  $2,4 \times 10^4$  NMP/g; CTt  $2,4 \times 10^4$  NMP/g) e que não foi detectada a presença de *L. monocytogenes* e de *Salmonella* spp. Os resultados permitem concluir que o período de maturação, nas condições propostas por esta pesquisa, não garantiu a segurança microbiológica do produto e contribuiu para sua deterioração, inviabilizando o seu consumo.

**Palavras-chaves:** Coliformes, Bactérias Ácido-Láticas, Bolores e Leveduras, Psicotróficos, *Staphylococcus* coagulase positiva, Segurança alimentar.

## ABSTRACT

Borges, L.C. Effects of the maturation process on the indigenous microbiota of cheese made from raw milk. 2015.

During ripening of cheese several biochemical reactions occur that result in significant changes in pH and moisture that can directly influence the development of various spoilage and pathogenic microorganisms. The objective of this study was to evaluate the effect of maturation on the autochthonous microbiota of cheeses made from raw milk. A cheese, of type minas, was made with raw milk and kept at room temperature for 60 days and subjected to analyzes on the first day and every 10 days (T0 to T6); the raw material (raw milk) and curd were also analyzed. The microbiological analyzes conducted were to count lactic acid bacteria (LAB), mesophilic aerobic microorganisms (MA), yeasts and molds (YM), coliforms at 35°C (CT), coliforms at 45°C (CTt), psychrotrophic microorganisms (PSI), *Staphylococcus* positive coagulase (SPC) and for the detection of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. The moisture content of the cheese aliquots were also determined. The results showed that the raw material (milk) had high counts of microorganisms researched (LAB  $7,5 \times 10^5$  CFU/mL; MA  $1,0 \times 10^6$  CFU/mL; YM  $1,7 \times 10^3$  UFC/mL, CT  $4,3 \times 10^4$  MPN/mL, CTt  $1,5 \times 10^3$  MNP/mL; PSI  $8,4 \times 10^4$  CFU/mL). The curd of the cheese showed even higher scores:  $1,4 \times 10^7$  CFU/g for LAB;  $2,0 \times 10^9$  UFC/g for MA;  $1,1 \times 10^4$  UFC/g for YM;  $>1,1 \times 10^7$  MNP/g for CT;  $2,1 \times 10^6$  MNP/g for CTt;  $5,5 \times 10^6$  UFC/g for PSI;  $9,3 \times 10^4$  CFU/g for SPC. It was observed that these microorganisms' counts remained high until T2, only presenting reduction on T3. It should be noted that the final count of T6 were still high (LAB  $9,0 \times 10^3$  CFU/g, MA  $2,1 \times 10^4$  CFU/g, YM  $4,0 \times 10^5$  CFU/g, CT  $2,4 \times 10^4$  MNP/g, CTt  $2,4 \times 10^4$  MNP/g) and the presence of *L. monocytogenes* and *Salmonella* spp. were not detected. The results showed that the maturation period, on the conditions proposed by this research, did not guarantee the microbiological safety of the product and contributed to its deterioration, making it unsuitable for consumption.

**Keywords:** Coliforms, Lactic Acidic Bacteria, Yeast and Molds, Psicrotrophic microorganism, *Staphylococcus* Positive Coagulase, Food Security

## APRESENTAÇÃO: RELATÓRIO DE ESTÁGIO

No primeiro momento do estágio supervisionado acompanhei as atividades realizadas pelos agentes e fiscais agropecuários federais do Serviço de Saúde, Inspeção e Fiscalização Animal (Sifisa) da Superintendência Federal de Agricultura, Pecuária e Abastecimento no Distrito Federal (SFA-DF), vinculado ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), sob orientação do M.V. Danilo Casotti.

Durante um mês participei de supervisões de diversas empresas situadas no Distrito Federal – incluindo uma fábrica de ração, dois abatedouros de aves, um abatedouro de bovinos, dois entrepostos de carne bovina, dois entrepostos de pescados – e de coleta de água para análise de um laticínio e um abatedouro de aves caipiras para aquisição do registro no Serviço de Inspeção Federal (S.I.F).

Dentre os maiores problemas encontrados nas indústrias estavam a presença de contrafluxo de matéria prima, contaminação excessiva de carcaça, manutenção ineficiente das instalações e falta de controle de limpeza e higienização.

Nesse período também auxiliei na investigação de uma suspeita de gado que estaria se alimentando de “cama de frango”. Além disso, acompanhei as atividades do serviço de inspeção do Sistema de Vigilância Agropecuária Internacional (VigiAgro), no Aeroporto Internacional de Brasília Presidente Juscelino Kubitschek, em plantão de 22h. Durante o plantão participei da apreensão e destruição de diversos artigos, de origem animal e vegetal, proibidos por lei de adentrar o país. Houve também um caso de periquitos australianos que estavam sob a posse de um passageiro vindo dos Estados Unidos, porém a fronteira estava fechada para a entrada de qualquer ave em virtude dos recentes surtos de influenza nos países vizinhos ao Brasil, tendo que ser redirecionados ao país de origem.

Quando não estava a campo acompanhei um pouco do processo burocrático: aprovação de registro de rótulos de embalagens; processos de irregularidades e fraudes nos produtos; preenchimento de formulários e verificação de dados, além de processos para obtenção de registro no S.I.F.

A segunda parte do meu estágio supervisionado foi executada no Laboratório de Análises de Leite e Derivados (LabLeite) da Universidade de Brasília (UnB), com a realização de um projeto de pesquisa, o qual será descrito a seguir.



## EFEITOS DO PROCESSO DE MATURAÇÃO SOBRE A MICROBIOTA AUTÓCTONE DE QUEIJO PRODUZIDO COM LEITE CRU

### INTRODUÇÃO

A cada dia, as pessoas vêm buscando um estilo de vida mais saudável em contato com a natureza, adquirindo produtos direto do meio rural e com o menor processamento possível. Porém, o consumo de leite cru e seus derivados representam um grande risco à saúde humana, podendo causar doenças e levar à morte (CDC, 2015; MUNGAI et al., 2015).

O leite é um excelente meio de cultura e sua qualidade depende das condições higiênico-sanitárias do rebanho oferecidas durante sua produção. Tendo-se em vista a produção de leite e seus derivados, é necessário um rígido controle sanitário da fazenda ao garfo. Dentre os fatores que influenciam tanto positivamente quanto negativamente a qualidade do produto final estão: a sanidade do rebanho, a condição da ordenha, a manipulação e preparo do queijo, e o modo de comercialização (ORTOLANI, 2009; AMORIM et al, 2014).

O Brasil é o sexto maior produtor de queijos no mundo, tendo produzido mais de 800 mil toneladas em 2011 (SEBRAE, 2014). Entretanto, o consumo médio per capita é de 5,1 quilos/ano, ficando abaixo da Argentina (11Kg/ano) e de países europeus como França e Itália, nos quais o consumo per capita chega a 25kg/ano (MILK POINT, 2014).

No Brasil, de acordo com o Ministério da Saúde, mais de 250 diferentes tipos de doenças de origem alimentar têm sido descritos (BRASIL, 2005). O leite cru, assim como seus derivados, pode veicular diversos microrganismos patogênicos como *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium* spp., *Escherichia coli* O157H:7 e *Brucella* spp., entre outros. Diversas pesquisas relatam a ocorrência de contaminações por patógenos em queijos produzidos no Brasil, especialmente os queijos produzidos com leite cru (MARTINS, 2006; BORELLI et al., 2011; MENESES et al., 2012; VASEK et al., 2013; DORES et al., 2013)

No ano de 2013, nos Estados Unidos, 10% dos surtos de origem alimentar tiveram procedência de leite e seus derivados, sendo 81% originários de produtos

que não passaram por nenhum processo de pasteurização (CDC, 2015b). Nos últimos anos, os agentes etiológicos mais comumente encontrados nesses produtos foram *Campylobacter* spp, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (GOULD et al., 2014; AMORIM et al., 2014; CDC, 2015; MUNGAI et al., 2015).

No Brasil, dentre os queijos produzidos com leite cru, destaca-se o queijo minas padrão tradicional, que pode ser artesanal ou informal. Os queijos artesanais são produzidos em queijarias credenciadas no estado de Minas Gerais com base em receitas passadas de geração para geração, sendo caracterizadas pela utilização do pingo, fermento endógeno coletado da dessora da produção de queijos do dia anterior (MARTINS, 2006; DORES et al., 2012). Já os queijos informais não passam por nenhum tipo de controle de qualidade, sendo normalmente comercializados em pequenas propriedades rurais, feiras e por vendedores ambulantes (MENESES et al., 2012; AMORIM et al., 2014).

De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos (RTIQQ) da Portaria Nº 146/1996 do MAPA (BRASIL, 1996), queijos produzidos com leite cru só podem ser comercializados após 60 dias de maturação, com exceção do queijo minas artesanal em Minas Gerais que atende legislação específica do estado, Lei Nº 20.549/2012 (MINAS GERAIS, 2012). De acordo com a Portaria nº 1305/2013 do IMA, o período mínimo de maturação do queijo minas artesanal é de 17 dias para a microrregião do Serro e mínimo de 22 dias para as microrregiões da Canastra, do Cerrado, de Araxá e do Campo das Vertentes, até que novas pesquisas sejam realizadas e alterem os tempos de maturação (MINAS GERAIS, 2013). Durante esse período, no qual acontece a maturação, a temperatura e umidade são fatores importantes, tendo em vista que influenciam a atividade de água, fundamental para o crescimento bacteriano (DORES et al, 2012).

No processo de maturação ocorrem várias alterações físicas, químicas e microbiológicas na massa do queijo, influenciando suas características organolépticas finais e a qualidade do produto (MARTINS, 2006). Costa Júnior (2014) relata que a proteólise é o mais importante e complexo processo bioquímico da maturação, responsável por transformar a textura do coágulo em algo macio e diferenciado, que é o queijo curado.

A microbiota autóctone do leite é a principal responsável pelas transformações que ocorrem durante a maturação, especialmente as bactérias ácido

láticas (BAL). As BAL atuam nos processos de lipólise e proteólise, produzindo compostos que fornecem textura e sabor ao produto, além de reduzirem o pH e liberarem bacteriocinas, capazes de eliminar microrganismos patogênicos (MARTINS et al., 2015).

O principal argumento daqueles que defendem a fabricação de queijos com leite cru é que, apesar de a pasteurização eliminar os microrganismos patogênicos e deteriorantes, ela alteraria a composição proteica do leite e comprometeria a diversidade de sabores e textura da massa; também, que justamente a diversidade da microbiota presente no leite cru é a principal responsável pela manutenção das características sensoriais desses queijos.

Pesquisas têm sido conduzidas com o objetivo de estudar o efeito da maturação sobre as características físico-químicas e microbiológicas dos queijos produzidos com leite cru, de forma a avaliar se, durante o processo, o produto adquire segurança para consumo, além de fornecer subsídios científicos para a elaboração de normas para a regulamentação da produção.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da maturação sobre a microbiota autóctone de queijos minas produzidos com leite cru em condições informais.

## **OBJETIVOS**

### Objetivo geral

- Avaliar o efeito da maturação sobre a microbiota autóctone de queijos produzidos com leite cru em condições informais.

### Objetivos específicos

- Avaliar o efeito da período de maturação de 60 dias sobre as contagens de microrganismos deteriorantes do grupo aeróbios mesófilos, coliformes totais, coliformes termotolerantes, psicrotóxicos, bolores e leveduras.
- Avaliar o efeito do período de maturação de 60 dias sobre as contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva, *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*.
- Avaliar a qualidade físico-química e microbiológica da matéria prima (leite cru)

- Determinar o teor de umidade dos queijos durante todo o período de maturação proposto.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Origem da matéria prima

O leite cru (cerca de oito litros) foi coletado diretamente do tanque de resfriamento da propriedade Fazenda Água Limpa, da UnB (FAL/UnB), e acondicionado em recipientes plásticos devidamente higienizados, sendo transportados refrigerados, em caixa térmica com gelo reciclável, até o LabLeite da Faculdade de Agronomia e Veterinária (FAV) da UnB para as análises e a produção do queijo.

### Produção do queijo

Foi produzido um queijo de massa tipo minas frescal, classificado como de muita alta umidade (> 55%), a partir do seguinte protocolo: foram aquecidos quatro litros de leite cru a 40°C, adicionados 60g de cloreto de sódio<sup>1</sup> e 1,2mL de coalho<sup>2</sup>. Após homogeneização para garantir uma distribuição uniforme, a massa foi deixada em repouso por 50 minutos em estufa a 40°C, para a coagulação. Em seguida, realizou-se o corte da massa, de forma a se obter grãos de aproximadamente 1,5cm<sup>3</sup> e a mexedura para liberação do soro. Após a dessoragem, a massa foi acondicionada em formas específicas e o queijo foi desenformado após 24 horas e mantido a temperatura ambiente, pelo período de 60 dias, e analisado no primeiro dia (T0) e, depois, a cada 10 dias (T1, T2, T3, T4, T5 e T6). Todos os utensílios utilizados foram higienizados adequadamente antes do uso.

### Análises

O leite cru foi submetido a análises físico-químicas para determinação dos teores de: densidade, gordura, proteínas, sólidos não gordurosos e lactose em equipamento ultrassônico EKOMILK®. Realizou-se também determinação da acidez

---

<sup>1</sup> Vetec Química Fina LTDA, Sigma-Aldrich, Rio de Janeiro, Brasil.

<sup>2</sup> Queijos no Brasil, Juiz de Fora, Brasil.

pelo método Dornic, do índice crioscópico pelo ponto de congelamento, em equipamento crioscópio LAKTRON, e pesquisa de anticorpos anti *Brucella abortus* por meio do *Ring test*, utilizando antígeno da TECPAR, sendo essa análise realizada no Laboratório de Microbiologia Médica Veterinária da FAV/UnB.

#### Processamento das amostras

O leite cru foi analisado antes da produção do queijo; as análises da massa foram realizadas imediatamente após a dessoragem; e as análises do queijo, no primeiro dia (T0) e a cada 10 dias (T1, T2, T3, T4, T5 e T6).

Alíquotas da massa e do queijos (5g) eram homogeneizadas em 45mL de água peptonada<sup>3</sup> em bags estéreis, sendo estas à diluição  $10^{-1}$ . Para o preparo das demais diluições, 1 mL desta diluição inicial era inoculado em 9mL de solução salina 0,85%<sup>4</sup> e homogeneizado (diluição  $10^{-2}$ ). O processo foi repetido até obtenção das demais diluições decimais seriadas.

#### Análises microbiológicas

As análises microbiológicas para contagens de, coliformes totais (CT), coliformes termotolerantes (CTt), psicrotóxicos (PSI), bactérias ácido lácticas (BAL), *Staphylococcus* coagulase positiva (SCP) e detecção de *Listeria monocytogenes* e de *Salmonella* spp. conforme preconizado pela Instrução Normativa N<sup>o</sup>. 62/2003 do MAPA (BRASIL, 2003). Para a contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos (AM) e bolores e leveduras (B/L) utilizou-se o sistema Rida®Count Aerobic Count Plates<sup>5</sup> e Rida®Count Yeast & Mold<sup>5</sup>, respectivamente, conforme indicações do fabricante.

#### Perda por dessecação (Umidade)

O teor de umidade do queijo foi determinado através do método de secagem em estufa a 105°C por 24h para atingir peso constante (IAL, 2004). As amostras foram analisadas em triplicata e calculada a média dos pesos.

---

<sup>3</sup> OXOID, Hampshire, England.

<sup>4</sup> Vetec Química Fina LTDA, Sigma-Aldrich, Rio de Janeiro, Brasil.

<sup>5</sup> R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises físico-químicas do leite cru apresentaram-se dentro dos padrões exigidos pela Instrução Normativa Nº. 62/2011 do MAPA. O resultado do Ring Test, utilizado para pesquisa de anticorpos anti *Brucella abortus*, foi negativo.

As análises microbiológicas do leite cru apresentaram as seguintes contagens: BAL  $7,5 \times 10^5$  UFC/mL; AM  $1,0 \times 10^6$  UFC/mL; B/L  $1,7 \times 10^3$  UFC/mL; CT  $4,3 \times 10^4$  NMP/mL; CTt  $1,5 \times 10^3$  NMP/mL; PSI  $8,4 \times 10^4$  UFC/mL e ausência de *Salmonella* spp. e de *L. monocytogenes* (Tabela 1).

As altas contagens dos vários microrganismos pesquisados indicam qualidade higiênica e sanitária insatisfatória da matéria prima. E, de acordo com o estabelecido na Instrução Normativa Nº. 62/2011 do MAPA, este leite cru não poderia ser aceito para beneficiamento apenas por apresentar contagem de AM acima de  $3 \times 10^5$  UFC/mL.

Em pesquisa sobre a produção do queijo artesanal de Corrientes, Vasek et al. (2013) observaram que o leite cru apresentou contagens de  $10^6$  UFC/mL para BAL, de  $10^2$  UFC/mL para bolores e leveduras, de  $10^3$  NMP/mL para CT,  $10^3$  NMP/mL para *E. coli* e de  $10^2$  UFC/mL para *Staphylococcus aureus*. Cichoski et al. (2008) relataram contagens de BAL entre  $10^5$  e  $10^7$  UFC/mL na produção de queijo prato. Lima et al. (2009) relataram a presença de diferentes leveduras no leite utilizado para fabricação de queijo minas frescal artesanal da Serra do Salitre, com contagens médias de  $10^2$  UFC/g.

As contagens observadas na massa foram: BAL  $1,4 \times 10^7$  UFC/g; AM  $2,0 \times 10^9$  UFC/g; B/L  $1,1 \times 10^4$  UFC/g; CT  $>1,1 \times 10^7$  NMP/g; CTt  $2,1 \times 10^6$  NMP/g; PSI  $5,5 \times 10^6$  UFC/g; SCP  $9,3 \times 10^4$  UFC/g, demonstrando um aumento expressivo em relação ao leite cru (Tabela 1). Isso pode ser explicado pelo maior agrupamento dos constituintes do leite que, conseqüentemente, promoveu concentração dos microrganismos durante a formação do coágulo no processo de fabricação do queijo. Não houve desenvolvimento de *Salmonella* spp e de *L. monocytogenes*

Vasek et al. (2013) observaram aumento nas contagens de BAL na massa do queijo artesanal (de  $10^7$  UFC/g), de leveduras ( $10^4$  UFC/g) e de *E. coli* ( $10^3$  UFC/g).

Com relação aos resultados das contagens no queijo com 24h de fabricação (T0), não foram observadas alterações significativas em relação à massa:  $6,0 \times 10^8$  UFC/g para BAL;  $1,5 \times 10^9$  UFC/g para AM;  $1,2 \times 10^4$  UFC/g para B/L;  $>1,1 \times 10^7$  NMP/g para CT;  $>1,1 \times 10^7$  NMP/g para CTt;  $7,0 \times 10^6$  UFC/g para PSI;  $2,1 \times 10^4$  UFC/g para SCP. Em nenhuma das análises do queijo foi observado desenvolvimento de *Salmonella* spp. ou de *Listeria monocytogenes*.

Dapkevicius et al. (2009), ao analisarem queijos do Pico, produzidos em Açores, no primeiro dia de maturação encontraram contagens para BAL de  $10^8$  UFC/g. Vasek et al. (2013) também encontraram contagens de  $10^8$  UFC/g para BAL, de  $10^2$  UFC/g para bolores e de  $10^5$  UFC/g para leveduras no primeiro dia de maturação; aos sete dias de maturação os autores observaram aumento nas contagens de BAL e manutenção das contagens de bolores e leveduras.

Por outro lado, Sangaletti (2007) observou contagens de  $10^3$  UFC/g para PSI em queijos minas frescal, durante o armazenamento a  $4^\circ\text{C}$  no primeiro dia e de  $10^7$  UFC/g no décimo dia. Já Borelli et al. (2011) encontraram, em queijos artesanais da Serra da Canastra, contagens de SCP de  $5,0 \times 10^3$ ,  $4,4 \times 10^5$  e  $<10^3$  UFC/g nas três propriedades pesquisadas.

No décimo dia de maturação (T1), as contagens dos microrganismos pesquisados foram de:  $1,0 \times 10^9$  UFC/g para BAL;  $1,1 \times 10^{10}$  UFC/g para AM;  $3,0 \times 10^8$  UFC/g para B/L;  $>1,1 \times 10^7$  NMP/g para CT;  $>1,1 \times 10^7$  NMP/g para CTt;  $5,9 \times 10^6$  UFC/g para PSI;  $1,2 \times 10^4$  UFC/g para SCP.

Observou-se aumento nas contagens de BAL, AM e B/L, sendo que nesses últimos as contagens aumentaram significativamente; por outro lado, ocorreu ligeira redução nas contagens de PSI e SCP. A redução de PSI pode ser devida à diminuição do teor de umidade de 55% em T0 para 31%, já que a principal representante do grupo dos PSI é a bactéria *Pseudomonas* spp., que é Gram negativa e, portanto, mais exigente em relação à atividade de água do que bactérias Gram positivas. Já a redução nas contagens de SCP pode ter sido causada pelo aumento dos demais microrganismos, em especial bolores e leveduras, pois os estafilococos são considerados mal competidores (FRANCO e LANDGRAF, 2005).

É importante destacar que, já em T1, o teor de umidade desclassificaria o produto, pois o queijo já seria classificado como de baixa umidade por apresentar umidade inferior a 36%. Nesse período o queijo apresentou crescimento de fungos na sua superfície sendo necessária a realização de toailete.

Vasek et al. (2013) encontraram contagens de BAL, aos cinco e sete dias de maturação, de  $10^9$  UFC/g; contagens de leveduras de  $10^5$  UFC/g e  $10^6$  UFC/g, com sete e 15 dias de maturação, respectivamente. Além disso, descreveram contagens de SCP em queijos com cinco, sete e 15 dias de  $10^3$  UFC/g.

Martins (2006) relata contagens de AM de  $10^8$  UFC/g em queijos Minas artesanais da região do Serro, aos oito dias de maturação e mantidos a temperatura ambiente. Em queijos da Serra da Canastra maturados por oito e 15 dias em temperatura ambiente no período de seca, as contagens de AM foram de  $10^8$  e  $10^7$  UFC/g, respectivamente (DORES et al., 2013). Já para PSI, Sangaletti (2007) encontrou em queijos com 10 dias, média das contagens totais de  $10^7$  UFC/g.

Pesquisa realizada por Borelli et al. (2011), apresentou contagens de SCP a  $<10^3$  e  $4,4 \times 10^6$  UFC/g em queijos de duas propriedades pesquisadas com sete dias de maturação e  $5,0 \times 10^3$  e  $4,2 \times 10^6$  aos 15 dias de maturação, apresentando contagens abaixo de  $10^3$  no restante das análises até completar 60 dias de maturação.

Em T2, correspondente ao vigésimo dia, observou-se aumento nas contagens de BAL ( $5,9 \times 10^9$  UFC/g), de AM ( $3,6 \times 10^{11}$  UFC/g) e de B/L ( $4,6 \times 10^9$  UFC/g); manutenção das contagens de  $>1,1 \times 10^7$  NMP/g para CT;  $>1,1 \times 10^7$  NMP/g para CTt e redução para  $7,6 \times 10^5$  UFC/g nas contagens de PSI, demonstrando que esses últimos podem ter sido afetados pela redução na atividade de água do produto, já que o teor de umidade do queijo foi de 16%. Nesse período de maturação o desenvolvimento de colônias típicas ou atípicas de estafilococos (negras com halos ou sem halos) foi menor, ocorrendo em maior quantidade o desenvolvimento de colônias de coloração branca, que à coloração de Gram, evidenciou-se serem leveduras. Como nas análises seguintes, referentes ao período de T3 a T6 não se observou mais o desenvolvimento de colônias de SCP, pode-se presumir que tenha ocorrido inibição desses microrganismo por parte das leveduras.

Dapkevicius et al. (2009) relatam que em queijos típicos de Açores, as contagens de BAL aos 21 dias de maturação foi de  $10^9$  UFC/g. Já Vasek et al, (2013) relataram contagens de BAL de  $10^7$  UFC/g aos 22 dias de maturação.

Dores et al. (2013) e Martins (2006) em pesquisas realizadas, apresentaram resultados de contagens de AM de  $10^8$  UFC/g e  $10^7$  UFC/g em queijos maturados por 22 dias, a temperatura ambiente. Sangaletti (2007) encontrou aos 20 dias, média das contagens totais de PSI de  $10^{10}$  UFC/g. Dores et al. (2012) relataram alcance



das contagens mínimas exigidas pela legislação para SCP com 22 e 17 dias de maturação em temperatura ambiente.

A partir de T3 (30 dias de maturação) observou-se redução mais acentuada nas contagens de BAL ( $5,3 \times 10^6$  UFC/g) e de AM ( $5,0 \times 10^9$  UFC/g) e a mesma tendência de redução dos demais microrganismos ( $3,0 \times 10^8$  UFC/g para B/L;  $2,3 \times 10^6$  NMP/g para CT;  $2,3 \times 10^6$  NMP/g para CTt;  $3,0 \times 10^4$  UFC/g para PSI). O teor de umidade do queijo foi de 14%. O queijo já apresentava sinais de deterioração como odor desagradável e endurecimento da casca.

Em estudo realizado por Cichoski et al. (2008) as BAL apresentaram com 30 dias de armazenamento a 6°C com 85% de umidade relativa do ar, contagens de  $10^6$  UFC/g, sendo que aos 60 dias as contagens aumentaram para  $10^7$  UFC/g e mantiveram-se até os 90 dias. Vasek et al. (2013) relataram que ao final de 30 dias de maturação, as contagens de BAL, leveduras e SCP foram de  $10^8$  UFC/g,  $10^7$  UFC/g e  $<10^2$  UFC/g, respectivamente. Sangaletti (2007) encontrou média das contagens totais de PSI de  $10^{11}$  UFC/g, resultado superior ao encontrado no presente estudo em T3.

No período de maturação T4 correspondente a 40 dias de maturação, a tendência de redução permaneceu para BAL ( $2,5 \times 10^5$  UFC/g), CT ( $9,2 \times 10^4$  NMP/g) e CTt ( $< 3,0 \times 10^4$  NMP/g) mas, foi acentuada para AM verificando-se contagem de  $4,0 \times 10^6$  UFC/g. Por outro lado, as contagens de B/L ( $2,0 \times 10^8$  UFC/g) e de PSI ( $1,3 \times 10^4$  UFC/g) permaneceram estáveis. O teor de umidade foi de 12% com odor mais acentuado.

No estudo realizado por Cichoski et al. (2008), o queijo prato apresentou contagens superiores ao do presente estudo, de  $10^7$  UFC/g para BAL com 45 dias de armazenamento. Martins (2006), para as contagens de AM, apresentou contagens de  $10^6$  UFC/g aos 36 dias de maturação a temperatura ambiente. Já Dores et al. (2013) relataram contagens de  $10^7$  UFC/g para AM no mesmo período de maturação.

Com relação a T5 (50 dias de maturação) as reduções foram mais acentuadas nas contagens de B/L ( $7,0 \times 10^6$  UFC/g) e de PSI ( $3,0 \times 10$  UFC/g), e praticamente permaneceram estáveis para CT e CTt ( $2,4 \times 10^4$  NMP/g para ambos) em comparação com T4. As bactérias do grupo dos coliformes ocorrem nos processos de deterioração dos alimentos, são Gram negativas, sendo particularmente mais sensíveis à diminuição da atividade de água dos alimentos; e

destes, a maioria das enterobactérias paralisam sua multiplicação em atividade de água abaixo de 0,95 (NISSEN e HOLCK, 1998; PARDI et al., 2001).

Ao final do período, que correspondeu aos 60 dias (T6), também se observou redução das contagens de BAL, AM e B/L ( $9,0 \times 10^3$  UFC/g,  $2,1 \times 10^4$  UFC/g e  $4,0 \times 10^5$  UFC/g, respectivamente), e manutenção das mesmas contagens de coliformes ( $2,4 \times 10^4$  NMP/g para CT e CTt). PSI não apresentou desenvolvimento. Deve-se ressaltar que as contagens de B/L, CT e CTt, nesse período, ainda foram superiores às do leite cru. O teor de umidade foi de 9%.

A legislação federal do MAPA não estabelece padrões microbiológicos para queijos produzidos com leite cru e maturados por período inferior a 60 dias, entretanto se fossem aplicados os critérios contidos na Portaria N<sup>o</sup>. 146/1996 esse queijo produzido estaria em desacordo com a maioria dos parâmetros microbiológicos desde o primeiro dia de maturação. Da mesma forma, estaria em desacordo com os padrões determinados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), do Ministério da Saúde (BRASIL, 2001).

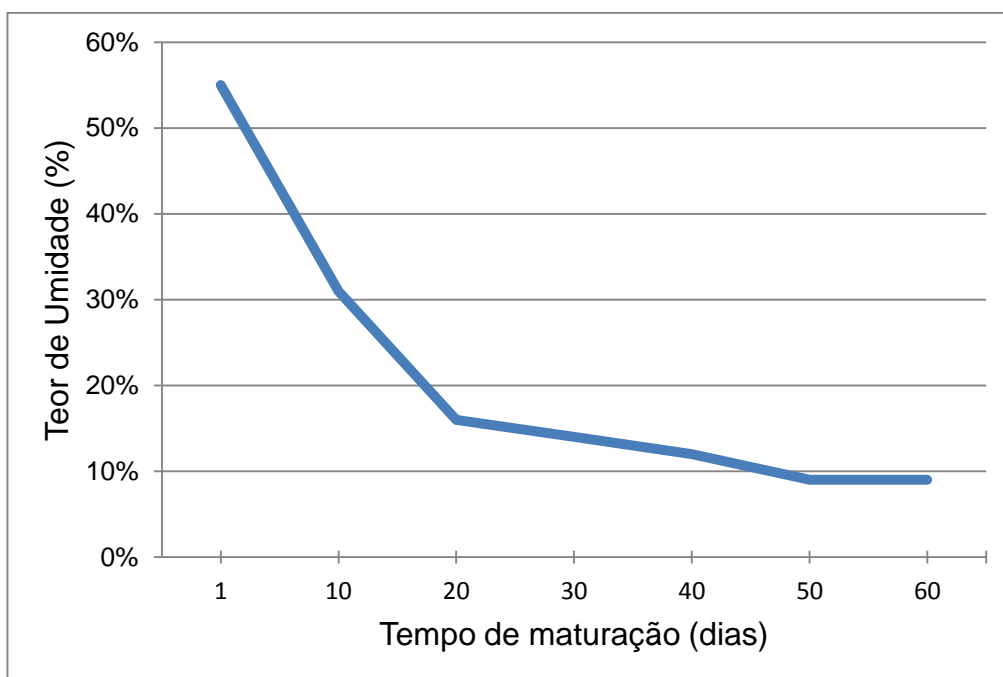
A proposta de manter o queijo em condições não controladas em relação à temperatura e umidade teve como objetivo simular as condições em que queijos informais são produzidos e, avaliar se algumas recomendações para maturação de queijos artesanais em temperatura ambiente (MARTINS, 2006; DORES et al., 2013) seriam aplicáveis no clima do Distrito Federal. Já a partir de T1 o queijo apresentou teor de umidade incompatível com as classificações estabelecidas pela legislação (Gráfico 1). Na época em que a pesquisa foi conduzida (setembro e outubro), a temperatura média foi de 26,2°C e a média da umidade foi de 39% (INMET, 2015). E o que se observou já a partir de T1 foi a perda das características organolépticas do produto, com odor desagradável bastante pronunciado e, coloração branco-amarelada com pontos de crescimento de fungos, além de textura extremamente rígida.

De acordo com Costa Júnior et al. (2014), os queijos minas artesanais da microrregião do Campo das Vertentes apresentaram durante os períodos de secas e chuvas, teor de umidade médio de 35,84% e ao final de 30 dias de maturação os queijos artesanais apresentaram média do teor de umidade de 28,78%, o dobro da umidade do queijo avaliado no presente estudo no mesmo período de maturação.

De acordo com a legislação brasileira, é proibida a comercialização de queijos feitos com leite cru com menos de 60 dias de maturação. Porém, de acordo com

Martins et al. (2006) e Dores et al. (2012) esses queijos são comercializados, em sua maioria, frescos ou com até 21 dias de maturação em virtude da preferência dos consumidores.

**Gráfico 1.** Teor de umidade (%) observados em queijo tipo minas durante período de maturação de 60 dias mantido em temperatura ambiente e umidade relativa do ar não controlada.



**Tabela 1.** Resultados das análises microbiológicas do leite cru, da massa e do queijo durante período de maturação de 60 dias e teor de umidade (%)

Microrganismos	Leite Cru	Massa	Queijo 1 dia (T0)	Queijo 10 dias (T1)	Queijo 20 dias (T2)	Queijo 30 dias (T3)	Queijo 40 dias (T4)	Queijo 50 dias (T5)	Queijo 60 dias (T6)
Bactérias Ácido-Láticas (UFC/mL/g)	$7,5 \times 10^5$	$1,4 \times 10^7$	$6,0 \times 10^8$	$1,0 \times 10^9$	$5,9 \times 10^9$	$5,3 \times 10^6$	$2,5 \times 10^5$	$2,4 \times 10^4$	$9,0 \times 10^3$
Aeróbios Mesófilos (UFC/mL/g)	$1,0 \times 10^6$	$2,0 \times 10^9$	$1,5 \times 10^9$	$1,1 \times 10^{10}$	$3,6 \times 10^{11}$	$5,0 \times 10^9$	$4,0 \times 10^6$	$3,0 \times 10^5$	$2,1 \times 10^4$
Bolores e Leveduras (UFC/mL/g)	$1,7 \times 10^3$	$1,1 \times 10^4$	$1,2 \times 10^4$	$3,0 \times 10^8$	$4,6 \times 10^9$	$3,0 \times 10^8$	$2,0 \times 10^8$	$7,0 \times 10^6$	$4,0 \times 10^5$
Coliformes totais (NMP/mL/g)	$4,3 \times 10^4$	$>1,1 \times 10^7$	$>1,1 \times 10^7$	$>1,1 \times 10^7$	$>1,1 \times 10^7$	$2,3 \times 10^6$	$9,2 \times 10^4$	$2,4 \times 10^4$	$2,4 \times 10^4$
Coliformes termotolerantes (NMP/mL/g)	$1,5 \times 10^3$	$2,1 \times 10^6$	$>1,1 \times 10^7$	$>1,1 \times 10^7$	$>1,1 \times 10^7$	$2,3 \times 10^6$	$<3 \times 10^4$	$2,4 \times 10^4$	$2,4 \times 10^4$
Psicrotróficos (UFC/mL/g)	$8,4 \times 10^4$	$5,5 \times 10^6$	$7,0 \times 10^6$	$5,9 \times 10^6$	$7,6 \times 10^5$	$3,0 \times 10^4$	$1,3 \times 10^4$	$3,0 \times 10$	--
<i>Staphylococcus coagulase +</i> (UFC/mL/g)	--	$9,3 \times 10^4$	$2,1 \times 10^4$	$1,2 \times 10^4$	--	--	--	--	--
<i>Salmonella</i> spp.	aus.	aus.	aus.	aus.	aus.	aus.	aus.	aus.	aus.
<i>Listeria monocytogenes</i>	aus.	aus.	aus.	aus.	aus.	aus.	aus.	aus.	aus.
Umidade (%)	N.R.	N.R.	55	31	16	14	12	9	9

Legenda: N.R.: não realizada; aus. : ausência; -- : sem desenvolvimento do microrganismo.

## CONCLUSÃO

Os resultados permitem concluir que, nas condições da presente pesquisa, o período de maturação até 60 dias foi insuficiente para garantir a inocuidade do queijo produzido, e responsável por causar alterações organolépticas indesejáveis como consequência da deterioração do produto, tornando-o inviável para consumo. Mais estudos devem ser realizados, relacionando o efeito da maturação e a influência do clima típico da região do Distrito Federal sobre a microbiota de queijos produzidos com leite cru.

## REFERÊNCIAS

AMORIM, A. L. B. C. et al. Avaliação da qualidade microbiológica de queijos do tipo minas padrão de produção industrial, artesanal e informal. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, [S.l.], v. 73, n. 4, p. 364-367, oct. 2014. ISSN 1983-3814. Disponível em: <<http://revistas.bvs-vet.org.br/rialutz/article/view/27656>>.

Acesso em: 11/11/15.

BORELLI, B.M., LACERDA, I.C.A., BRANDÃO, L.R., VIANNA, C.R., FERREIRA, M.C., GOMES, F.C.O., CARMO, L.S., HENEINE, L.G.D., & ROSA, C.A. Identification of *Staphylococcus* spp. isolated during the ripening process of a traditional minas cheese. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 63, n. 2, p. 481-487. 2011 Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-09352011000200028&lng=en&tng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352011000200028&lng=en&tng=en). Acesso em: 10/11/2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 18 de set, 2003. Seção 1, p.14

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº 62 de 29 de dezembro de 2011. Aprova o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento

Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 31 de dez, 2011. Seção 1, p. 6.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Portaria nº 146 de 07 de março de 1996. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, 07 mar. 1996. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=1218> Acesso em: 02/11/15.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. Brasília, 2001. Disponível em: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2001/res0012\\_02\\_01\\_2001.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2001/res0012_02_01_2001.html). Acesso em: 11 nov. 2015.

BRASIL. Ministério da saúde. Vigilância epidemiológica das doenças transmitidas por alimentos no brasil, 1999 – 2004. Secretaria de Vigilância em Saúde. *Boletim eletrônico epidemiológico*. Ano 5, n. 06, 28/12/2005. Disponível em: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/periodicos/boletim\\_eletronico\\_epi\\_ano05\\_n06.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/periodicos/boletim_eletronico_epi_ano05_n06.pdf) Acesso em: 02 dez. 2015.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Food safety and raw milk. 2015. Disponível em: <http://www.cdc.gov/foodsafety/rawmilk/raw-milk-index.html>. Acesso em: 10 nov. 2015.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks, United States, 2013, Annual Report. Atlanta, Georgia: US Department of Health and Human Services, CDC, 2015.

Disponível em: < <http://www.cdc.gov/foodsafety/pdfs/foodborne-disease-outbreaks-annual-report-2013-508c.pdf>> Acesso em: 03 dez. 2015.

CICHOSKI, A. J., CUNICO, C., DI LUCCIO, M., ZITKOSKI, J. L., & CARVALHO, R. T. D. Efeito da adição de probióticos sobre as características de queijo prato com reduzido teor de gordura fabricado com fibras e lactato de potássio. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 28, n.1, p. 214-219. 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v28n1/29.pdf>> Acesso em: 13 nov. 2015.

COSTA JÚNIOR, L. C. G. C.; MORENO, V. J., MAGALHÃES, F. A. R., COSTA, R. G. B., RESENDE, E. C. & CARVALHO, K. B. A. Maturação do queijo minas artesanal da microrregião Campo das Vertentes e os efeitos dos períodos seco e chuvoso. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, [S.l.], v. 69, n. 2, p. 111-120, maio 2014. ISSN 2238-6416. Disponível em: <<http://www.revistadoilct.com.br/rilct/article/view/326>>. Acesso em: 20 out. 2015.

DAPKEVICIUS, M. L. N. E.; DAPKEVICIUS, A., SILVA, C. C. G., & REGO, O. A. *Biodiversidade do queijo do pico*. Bactérias lácticas. Conference paper. Abril, 2009. Disponível em: [http://www.researchgate.net/profile/Maria\\_Dapkevicius/publication/236212580\\_Biodiversity\\_in\\_Pico\\_cheese.\\_The\\_lactic\\_acid\\_bacteria/links/0c96051b0ab7c8740e000000.pdf](http://www.researchgate.net/profile/Maria_Dapkevicius/publication/236212580_Biodiversity_in_Pico_cheese._The_lactic_acid_bacteria/links/0c96051b0ab7c8740e000000.pdf) Acesso em: 13 nov. 2015

DORES, M. T., & FERREIRA, C. L. L. F. Queijo minas artesanal, tradição centenária: ameaças e desafios. *Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável* (RBAS), v.2, n.2, p. 26-34. Dez 2012. Disponível em: <<http://www.rbas.ufv.br/index.php/rbas/article/view/163>> Acesso em: 09 nov. 2015

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 Technology*, Campinas, v. 33, n. 1, p. 180-

185, Mar. 2013. Disponível em:

<[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612013000100026&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612013000100026&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 08 nov. 2015.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF M. *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo: Editora Atheneu, 182p. 4 ed 1996.

GOULD, L. H.; MUNGAI E. A.; BEHAVESH C. B. Outbreaks Attributed to Cheese: Differences Between Outbreaks Caused by Unpasteurized and Pasteurized Dairy Products, United States, 1998–2011. *Foodborne Pathogens and Disease*. July 2014, v.11, n.7, p. 545-551. doi:10.1089/fpd.2013.1650. Disponível em: <http://online.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/fpd.2013.1650>. Acesso em: 09 nov. 2015.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*. 4 ed. 1 ed. digital. Cap. 4. 2004. Disponível em: [http://www.ial.sp.gov.br/index.php?option=com\\_remository&Itemid=20&func=filinfo&id=5](http://www.ial.sp.gov.br/index.php?option=com_remository&Itemid=20&func=filinfo&id=5) Acesso em: 23 nov. 2015

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA (INMET). *Dados de temperaturas mínimas, máximas e umidade relativa diária nos meses de setembro e outubro em Brasília* [mensagem pessoal]. Mensagem recebida por <[lcostaborges@gmail.com](mailto:lcostaborges@gmail.com)> em 03 dez. 2015.

LIMA, C. D. L. C.; LIMA, L. A.; CERQUEIRA, M. M. O. P.; FERREIRA, E. G.; ROSA, C. A. Lactic acid bacteria and yeasts associated with the artisanal minas cheese produced in the region of Serra do Salitre, Minas Gerais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 61, n.1, p. 266-272. 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v61n1/v61n1a37.pdf>> Acesso em: 13 nov. 2015.

MARTINS, J. M. *Características físico-químicas e microbiológicas durante a maturação do queijo minas artesanal da região do Serro*. Tese – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade



Federal de Viçosa. 2006. Disponível em:

<<http://www.locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/499/texto%20completo.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 09 nov. 2015.

MARTINS, J. M., GALINARI, É., PIMENTEL-FILHO, N. J., RIBEIRO JR, J. I., FURTADO, M. M., & FERREIRA, C. L. Determining the minimum ripening time of artisanal minas cheese, a traditional Brazilian cheese. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.46, n.1, p. 219-230. 2015. Disponível em:

<[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1517-83822015000100219&script=sci\\_arttext&lng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1517-83822015000100219&script=sci_arttext&lng=pt)> Acesso em: 23 nov. 2015.

MENESES, R. B. et al. O comércio de queijo de coalho na orla de Salvador, Bahia: trabalho infantil e segurança de alimentos. *Revista de Nutrição*, Campinas, v. 25, n. 3, p. 381-392, Junho 2012. Disponível em:

<[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1415-52732012000300008&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-52732012000300008&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 11/11/15.

MILK POINT. *Mercado de queijos cresce no país e atrai estrangeiros*. 2014.

Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/cadeia-do-leite/giro-lacteo/mercado-de-queijos-cresce-no-pais-e-atrai-estrangeiros-91686n.aspx>>. Acesso em: 03 dez. 2015.

MINAS GERAIS. Lei nº 20549, de 18 de dezembro de 2012. Dispõe sobre a produção e a comercialização dos queijos Artesanais de Minas Gerais. *Diário do Executivo*. 19 de dez. 2012. Acesso em: 03 dez. 2015.

MINAS GERAIS. Portaria nº 1305, de 30 de abril de 2013 do Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA). Estabelece diretrizes para a produção do queijo minas artesanal. *Diário Oficial do Executivo*. 1 de mar. 2013. Acesso em: 14 dez. 2015.

MUNGAI, E. A.; BEHRAVESH, C. B.; GOULD, L. H. Increased outbreaks associated with nonpasteurized milk, United States, 2007–2012. *Emerging Infectious Diseases* [Internet]. v. 21, n. 1, Janeiro 2015. Disponível em:

<http://dx.doi.org/10.3201/eid2101.140447>. Acesso em 09 nov. 2015.

NISSEN, H.; HOLCK, A. Survival of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Kentucky in Norwegian fermented, dry sausage. *Food Microbiology*, v. 15, p. 273-279, 1998.

ORTOLANI, M. B. T. *Bactérias ácido lácticas autóctones de leite cru e queijo minas frescal: isolamento de culturas bacteriocinogênicas, caracterização da atividade antagonista e identificação molecular*. Dissertação – Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa. 2009. Disponível em: <<http://www.locus.ufv.br/handle/123456789/4974>> Acesso em: 13 nov. 2015.

PARDI, M. C.; SANTOS, I. F.; SOUZA, E. R.; PARDI, H. S. *Ciência e Tecnologia da Carne*. 2. ed. Goiânia: Editora da UFG, 2001. 2 v.

SANGALETTI, N. *Estudo da vida útil do queijo minas frescal disponível no mercado*. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11141/tde-19102007-100720/>>. Acesso em: 22 nov. 2015.

SEBRAE. *Resposta Técnica: Técnicas e boas práticas na produção de queijo*. 2014. Disponível em: <[http://sustentabilidade.sebrae.com.br/Sebrae/Sebrae%202014/Estudos%20e%20Pesquisas/2014\\_02\\_27\\_RT\\_Novembro\\_Agronegocio\\_QueijoIN30\\_pdf.pdf](http://sustentabilidade.sebrae.com.br/Sebrae/Sebrae%202014/Estudos%20e%20Pesquisas/2014_02_27_RT_Novembro_Agronegocio_QueijoIN30_pdf.pdf)> Acesso em: 02 dez. 2015.

VASEK, O. M.; MAZZA, S. M.; GIORI, G. S. Physicochemical and microbiological evaluation of corrientes artisanal cheese during ripening. *Food Science Technology*, Campinas, v. 33, n. 1, p. 151-160, Mar. 2013. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612013000100022&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612013000100022&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 10 nov. 2015.