

## IMPLICAÇÕES DA MADEIRA NA IDENTIDADE E SEGURANÇA DE QUEIJOS ARTESANAIS

### Implications of wood in artisanal cheese identity and safety

Éder G. FERREIRA<sup>1</sup>  
Célia L. L. F. FERREIRA<sup>2</sup>

#### SUMÁRIO

A madeira é secularmente utilizada na manufatura dos utensílios empregados na fabricação de alimentos artesanais, como por exemplo, tonéis de fermentação de bebidas alcoólicas, tinas, formas, prateleiras e bancadas para produção de queijos. Essas superfícies apresentam estrutura porosa, o que permite o desenvolvimento de comunidades microbianas conhecidas como biofilmes. Fungos filamentosos, leveduras e bactérias do ácido acético e láctico (BAL) presentes nesses biofilmes são responsáveis pelas características peculiares de alimentos como cidras, vinhos, vinagres e de uma gama variada de queijos artesanais, garantindo sabores e odores característicos desses alimentos, assim como sua segurança. Pesquisas recentes demonstraram que a presença de BAL, em biofilmes, diminuiu a adesão de patógenos como *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, principais indicadores de práticas de fabricação insatisfatórias em ambientes de produção de alimentos. Em 2002 a legislação criada para a fabricação do queijo Minas artesanal, estabeleceu padrões físico-químicos e microbiológicos para a elaboração desses queijos, e eliminou o uso das formas e bancadas de madeira, como uma medida para cercear a proliferação de patógenos nesses produtos. Essa medida foi preventiva e emergencial, embora ainda hoje questionada pelos produtores tradicionais, conhecedores das práticas utilizadas em países da Europa, onde a madeira tem um papel importante nas características de vários produtos artesanais, especialmente em alguns tipos de queijos com Denominação de Origem Protegida (DOP). Essa revisão tem como objetivo reunir informações relacionadas ao papel da madeira na produção de alimentos, assim como dos biofilmes nela formados e da função dos mesmos nas características e segurança de queijos artesanais.

**Termos para indexação:** Biofilme; Utensílios de madeira; Queijo Minas artesanal; Alimentos seguros.

#### 1 INTRODUÇÃO

A produção de queijo em muitas situações constitui uma atividade familiar sendo comum a característica de sustentabilidade em diferentes tipos de comunidades. Devido a essas características, as tecnologias envolvidas são repassadas para as gerações mais novas passando às vezes a fazer parte da riqueza de determinadas regiões, e tanto a tecnologia empregada quanto as características do produto se transformam em "saberes relacionados a um determinado ambiente/território". Essa tradição e as características únicas de produtos de determinadas regiões sempre foram valorizadas no continente europeu. Atualmente,

verifica-se um crescente interesse nesses alimentos no resto do mundo, pois, além de manter a tradição, os produtos tradicionais também são valorizados economicamente, o que contribui para a manutenção dos produtores em regiões específicas, diminuindo o êxodo para os centros urbanos. Nos últimos anos, e principalmente com o estabelecimento da União Européia (UE), verificou-se na valorização dos alimentos regionais/tradicionais/artesanais um nicho econômico importante além de uma estratégia para aumentar a qualidade desses produtos (EMATER, 2004; MARTINS, 2006; TREGGAR et al., 2007). Na UE, esses alimentos recebem selos especiais diferenciando-os de produtos semelhantes comercializados num mesmo mercado.

1 Mestrando em Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFV. (edergalinari@yahoo.com.br).

2 Ph.D. em Ciência e Tecnologia de Alimentos (clferrei@ufv.br).

Pelo fato de haver legislações específicas para a comercialização no país e entre os diferentes países da UE, a preocupação com a qualidade passou a ser um fator imprescindível para a comercialização de tais produtos. Dessa forma, a valorização de produtos tradicionais está aliada a uma tendência moderna que pode ser vista também como uma alternativa interessante para melhorar a qualidade dessa fatia de alimentos da agroindústria.

O conceito de preservação da diversidade tradicional de alimentos surgiu em 1883, em Paris, como "Appellation d'Origine Contrôlée" (AOC) garantindo a autenticidade de alimentos produzidos numa região particular. Posteriormente, o termo evoluiu para DOP sendo aplicado a alimentos produzidos, processados e/ou preparados em uma determinada área geográfica (BERTOZZI & PANARI, 1993). Na Europa, vários alimentos tradicionais possuem o status DOP, dentre os quais um grande número de queijos, como por exemplo, o Pecorino Sardo (MADRAU et al., 2006), Stilton (GKATZIONIS et al., 2009), Manchego (POVEDA et al., 2004), Parmigiano Reggiano (GALA et al., 2008), Comté (MAAS et al., 2010), para citar alguns.

No Brasil, o Estado de Minas Gerais é o maior produtor de queijos artesanais, com produção anual superior a 29 mil toneladas, sendo estas provenientes de 63 municípios pertencentes a cinco principais regiões produtoras (Serro, Araxá, Cerrado, Canastra e Campo das Vertentes). Nessas regiões o impacto econômico é considerável gerando quase 27 mil empregos diretos (EMATER-MG, 2009 – Dados fornecidos pessoalmente), sendo que esta produção tende a aumentar, visto que em janeiro de 2011 foi regulamentada pela Lei Estadual nº 19.492, permitindo que todos os municípios de Minas Gerais produzam o queijo Minas artesanal. No entanto, a precariedade dos produtos disponibilizados até início da década de 2000 era notória e grande parte da produção constituía um comércio clandestino. A Lei Estadual nº 14.185, de 31 de janeiro de 2002 (MINAS GERAIS, 2002a) regularizou os queijos advindos de propriedades credenciadas, que se adequaram às exigências das normas de boas práticas de fabricação (BPF). Ao mesmo tempo, estudos foram imediatamente iniciados para a caracterização físico-química, microbiológica e das tecnologias empregadas nas quatro principais regiões, assim como para a definição do período mínimo de maturação desses queijos para que pudesse ser colocado um produto seguro para o consumidor no mercado (MARTINS, 2006; PINTO et al., 2009). Para a adequação imediata das unidades produtoras, medidas foram tomadas para diminuir os índices de contaminação desses queijos. Dentre essas, a adequação física das salas de produção do queijo, a imple-

mentação das boas práticas agropecuárias (BPA) com vistas à obtenção de um leite com qualidade e treinamento dos produtores para o estabelecimento das BPF's, com vistas à sua auto valorização e valorização de seu produto. As normas para a fabricação dos queijos artesanais foram estabelecidas e dentre elas, a proibição da fabricação dos queijos empregando-se as tradicionais mesas e formas de madeira (MINAS GERAIS, 2002b). Essa medida foi preventiva e emergencial embora ainda hoje questionada pelos produtores tradicionais, conhecedores das práticas utilizadas em países da Europa, onde a madeira tem um papel importante nas características de vários produtos artesanais, principalmente nas características de alguns tipos de queijos (LORTAL et al., 2009).

Essa revisão teve como finalidade avaliar o papel da madeira na produção de alimentos, e os princípios envolvidos na formação de biofilmes na manutenção das características dos produtos e de sua segurança, com ênfase em queijos.

## 2 A MADEIRA NA PRODUÇÃO DE ALIMENTOS

Historicamente, a madeira é utilizada na manufatura de utensílios e equipamentos empregados na produção de alimentos. Diferentes bebidas artesanais e tipos de queijos em alguma fase de seu processamento entram em contato com a madeira, como por exemplo, cidras fermentadas e os queijos Calenzana, Reblochon de Savoie e Ragusano.

A cidra artesanal é fabricada em tonéis de madeira e seu uso tem sido reportado como desejável (SWAFFIELD et al., 1997). A superfície porosa da madeira garante a permanência de leveduras e bactérias do ácido láctico (BAL), responsáveis pela produção de *flavor* no produto. Os produtores artesanais da cidra têm rechaçado a possibilidade de uso do aço inoxidável pelo fato deste comprometer suas características, pela ausência da comunidade microbiana presente em biofilmes que mantêm as propriedades sensoriais específicas do produto. A madeira está também presente na produção do "vinagre", onde micro-organismos nos biofilmes dos tonéis de fermentação atuam na bioconversão do etanol em ácido acético (SOLIERI & GIUDICI, 2008).

Na produção do queijo Ragusano o leite cru entra em contato com o biofilme existente no interior de tinas de madeira. Esse biofilme é um eficiente meio de inoculação de BAL – incluindo *Lactococcus lactis* (*L. lactis*), *Streptococcus thermophilus* (*S. thermophilus*) e lactobacilos termofílicos (LORTAL et al., 2009). O queijo Calenzana também é produzido a partir de leite cru e sem a utilização de cultura *starter*, sendo maturado em arcas de madeira cujo biofilme formado tem, de alguma forma, um papel nas ca-

racterísticas conhecidas desse queijo (CASALTA et al., 2009). Reblochon de Savoie é um queijo também produzido com leite cru sendo maturado em prateleiras de madeira por um período de pelo menos, quinze dias. Hipotetiza-se que a presença de espécies dos gêneros *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* e de lactobacilos heterofermentativos identificadas nessas prateleiras se relaciona à segurança desses queijos (MARIANI et al., 2007).

Verifica-se, portanto, que várias das espécies microbianas identificadas em biofilmes presentes em mesas e prateleiras de madeira já foram extensamente estudadas como tendo um papel na produção, nas características sensoriais e nutricionais de produtos lácteos. De um modo geral, *L. lactis*, *Lactococcus cremoris* (*L. cremoris*), *Lactobacillus bulgaricus* (*L. bulgaricus*) e *S. thermophilus* dentre outras, contribuem para uma formação rápida de ácido e produção de aroma em produtos lácteos, incluindo vários tipos de queijos (DIAS & WEIMER, 1998). Além do aspecto de segurança, a presença de determinados microorganismos presentes nesses biofilmes como *S. thermophilus* contribuem para o aspecto nutricional pelo acúmulo de vitaminas do complexo B nos produtos, como por exemplo, ácido fólico (RAO & SHAHANI, 1987; CRITTENDEN et al., 2003), substância essencial para a correta formação do tubo neural de fetos e desenvolvimento do sistema nervoso em recém-nascidos. Quanto ao aspecto tecnológico, além da produção de ácido láctico, a produção de ácido fólico por estirpes de *S. thermophilus* estimula o crescimento de *L. bulgaricus*, favorecendo o acúmulo de *flavor* nos produtos (VAN HYLCKAMA VLIET & HUGENHOLTZ, 2007), sendo, portanto, desejável a sua presença nos biofilmes das formas, mesas e prateleiras de madeira.

### 3 BIOFILME: FORMAÇÃO E CARACTERÍSTICAS

Biofilme é de uma comunidade microbiana séssil, caracterizada por células irreversivelmente adsorvidas a um substrato ou interface, e incorporadas em uma matriz polimérica extracelular produzida por micro-organismos que apresentam características alteradas em relação às taxas de crescimento, de transcrição de genes e à sensibilidade a sanitizantes (DONLAN & COSTERTON, 2002). Essa matriz é comumente constituída por exopolissacarídeos (EPS), lipídeos, proteínas e DNA extracelular, que direcionam as características do biofilme como porosidade, densidade, umidade, carga elétrica da superfície, propriedades de sorção, hidrofobicidade e estabilidade mecânica (FLEMMING et al., 2007).

Embora em algumas situações a presença de biofilmes seja indesejável, a sua presença e composição é imprescindível na bioconversão de matéria orgânica como naqueles formados em biorreatores de estações de tratamento de esgoto transformando material nocivo em substâncias inócuas (WU et al., 2006) e na proteção da madeira, onde por exemplo, um biofilme de *Aureobasidium pullulans* produz uma película auto-regenerativa contra a ação da chuva, altas temperaturas e radiação UV, sem no entanto, degradar a madeira (SAILER et al. 2010). Em alimentos, são importantes os biofilmes formados por bactérias e leveduras que estão presentes nos tonéis de fermentação feitos de madeira, e que promovem a bioconversão do etanol em ácido acético (SOLIERI & GIUDICI, 2008) e contribuem para a fermentação e produção de *flavor* característico da cidra artesanal (SWAFFIELD et al., 1997), e aqueles formados em tinas de madeira utilizada na fabricação de queijos (LORTAL et al., 2009), e nas prateleiras de maturação (DIAS & WEIMER, 1998, MARIANI et al., 2007, GKATZIONIS et al., 2009).

O início da formação de um biofilme é marcado pela deposição de matéria orgânica sobre a superfície que será colonizada, sendo essa fase, um pré-requisito para a ligação microbiana posterior. A aderência ocorre em maior ou menor velocidade de acordo com a carga da superfície. Em superfícies com cargas positivas (hidrofóbicas), a adesão ocorre mais rapidamente do que em superfícies com cargas negativas (hidrofilicas). Outros fatores como: a natureza e a concentração dos nutrientes disponíveis, partículas de proteínas, lipídios, fosfolipídios, carboidratos, sais minerais e vitaminas (TRULEAR & CHARCKLIS, 1982; CAPDEVILLE & NGUYEN, 1990), a fase em que o microorganismo se encontra, a presença de apêndices celulares e substâncias poliméricas produzidas, têm papel importante na velocidade da adesão (ARAÚJO et al., 2009). Além disso, a rugosidade do material pode ser um fator favorável para aumentar a aderência (APILÁNEZ et al., 1998).

A hidrofobicidade é a característica físico-química mais relevante no processo de adesão microbiana à superfície e varia de acordo com a quantidade de água no meio. Em bactérias Gram-negativas, a hidrofobicidade aumenta à medida que a água no meio diminui, pois estas possuem maior quantidade de lipídeos em sua membrana externa. Por outro lado, bactérias Gram-positivas são menos influenciadas pela alteração do volume de água no meio em decorrência da maior quantidade de peptidoglicano em suas membranas e menor quantidade de lipídeos (STREVETT & CHEN, 2003). Espécies bacterianas com diferentes constituintes da parede celular apresentam

diferentes interações com as superfícies e, conseqüentemente, diferentes velocidades de adesão (CHEN & ZHU, 2005).

A hidrofobicidade de um material é expressa como a energia livre de interação – energia livre de Gibbs ( $\Delta G$ ), entre as moléculas de uma superfície (S) imersa em água (A). Quando  $\Delta G_{SAS}^{TOTAL}$  é negativa, existe maior interação das moléculas da superfície entre si do que pela água – superfície hidrofóbica.

Por outro lado, quando  $\Delta G_{SAS}^{TOTAL}$  é positiva, ocorre repulsão entre as moléculas do sólido e atração destas moléculas pela água, sendo essa superfície considerada hidrofílica (VAN OSS & GIESE, 1995). Do ponto de vista termodinâmico, uma bactéria (B) é considerada hidrofílica em relação à água quando  $\Delta G_{BAB}^{TOTAL}$  é positiva e hidrofóbica se  $\Delta G_{BAB}^{TOTAL}$  é negativa (CHEN & ZHU, 2005).

Se a superfície e a bactéria são hidrofóbicas, ou seja,  $\Delta G_{BAB}^{TOTAL}$  é negativa e  $\Delta G_{SAS}^{TOTAL}$  também é negativa, a adesão microbiana é favorecida, visto que será mais fácil a remoção da água entre a superfície e a bactéria. Também é possível que a adesão ocorra entre uma superfície hidrofóbica e outra hidrofílica, porém em menor intensidade devido a atração da água pela superfície hidrofílica que dificulta a exposição da interface superfície de adesão/bactéria (VAN OSS & GIESE, 1995).

A fase de crescimento do biofilme é caracterizada pela multiplicação celular e pela produção de polímero extracelular. Nesta fase, ocorre uma rápida formação de biofilme culminando na cobertura completa da superfície pelo mesmo, com um ecossistema complexo de grupos bacterianos (CAPDEVILLE & NGUYEN, 1990). Pode-se separar o ciclo do biofilme em duas etapas principais: uma com o crescimento logarítmico e outra em que o ritmo de acúmulo do biofilme se torna constante, até que parte deste seja liberada, permanecendo uma fina camada original (APILÁNEZ et al., 1998).

Quando aderidos, os micro-organismos apresentam comportamento diferenciado, como exemplificado no estudo de Kubota et al. (2008) que demonstrou adesão diferenciada em lâminas de vidro utilizando-se as BAL *Lactobacillus plantarum* (*L. plantarum*), *Lactobacillus brevis* (*L. brevis*) e *Lactobacillus fructivorans* (*L. fructivorans*). As células de *L. brevis* e *L. fructivorans* tornaram-se mais alongadas que as células planctônicas (crescendo livres em caldo), porém, esse fenômeno não foi constatado em *L. plantarum*. Observou-se também, que as células planctônicas mostraram-se mais sensíveis à exposição ao ácido acético e demonstrando a proteção que a aderência infere aos microrganismos. Os autores sugeriram três mecanismos que poderiam

estar envolvidos com a resistência observada: i) aumento da resistência da membrana celular; ii) proteção do biofilme pela camada de exopolissacarídeo, e iii) proteção das células internas pela conformação tridimensional do biofilme.

O *quorum sensing* (QS), é também considerado outro fator importante para a sobrevivência de determinados micro-organismos em biofilmes. Constitui um sistema microbiano eficiente de “comunicação”, pois as moléculas, denominadas auto-indutoras, fluem livremente através das membranas e entre as células sinalizando sua densidade e as condições ambientais. Algumas substâncias que atuam no QS já são conhecidas, dentre elas, destacam-se compostos da classe *N*-acil-L-homoserina lactonas (AHL's) encontradas em bactérias Gram-negativas (PINTO et al., 2007). Bactérias Gram-positivas, dentre as quais as BAL, utilizam como moléculas auto-indutoras peptídeos ou peptídeos modificados após a tradução (KUIPERS et al., 1998). O sistema QS juntamente com outros fatores fisiológicos possui um controle genético que atua em condições de alta densidade populacional. Por essa razão, o QS é mais efetivo em densidade microbiana elevada, como aquela encontrada em um biofilme devidamente estabelecido. Com base nessa característica, Ruyter et al. (1997) desenvolveram uma estirpe autolítica de *L. lactis* para ser utilizada na formação de *flavor* em queijos maturados, que em condições normais é um processo lento. Dessa forma, quando essa estirpe modificada alcança determinada densidade populacional, sofre lise, liberando as enzimas, acelerando assim o processo de maturação e formação de *flavor*.

O sistema QS pode ter impacto direto nas propriedades da comunidade que liberam o sinal, e tem a finalidade de garantir a estabilidade da comunidade, e a continuação das funcionalidades relacionadas ao nicho ecológico em questão (KJELLEBERG & MOLIN, 2002). A presença de exopolissacarídeos, em biofilmes, que garante a manutenção da comunidade microbiana, parece estar ligada ao fenômeno do QS.

#### 4 BIOFILMES NA FABRICAÇÃO E SEGURANÇA DE QUEIJOS

As superfícies das formas e mesas de madeira que estão em contato com os queijos favorecem o desenvolvimento de uma comunidade microbiana por fornecer nutrientes em abundância. Os diversos micro-organismos ali presentes competem pelos nutrientes por meio de mecanismos diretos ou indiretos. Diretamente, isso ocorre pela liberação de metabólitos antagonistas como bacteriocinas e ácidos orgânicos – tal interação é conhecida como amensalismo.

O mecanismo indireto está relacionado à competição não específica na qual determinada espécie suprime o crescimento de outra pelo melhor aproveitamento dos recursos – mecanismo conhecido como “efeito Jameson” (JAMESON, 1962). O efeito Jameson é um tipo de competição entre espécies que utilizam recursos do ambiente maximizando o crescimento e a densidade populacional de determinadas espécies e inibindo o crescimento de outras. Esse efeito é freqüentemente observado em alimentos com dominância de BAL, como demonstrado num estudo envolvendo *Lactobacillus acidophilus* A4 (*L. acidophilus*) (KIM et al., 2009). Nesse estudo, a concentração de 1,0 mg/mL de exopolissacarídeo liberado (r-EPS) pelo *L. acidophilus* reduziu significativamente a adesão de patógenos como *E. coli* O157:H7, *Salmonella enteritidis*, *S. typhimurium* KCCM 11806, *Yersinia enterocolitica*, *P. aeruginosa* KCCM 11321, *Listeria monocytogenes* ScottA e *Bacillus cereus* em superfícies de poliestireno e de cloreto de polivinila (PVC). A inibição da adesão inicial e da auto-agregação foi possível devido ao r-EPS afetar parcialmente as propriedades de membrana desses micro-organismos. Esses estudos sugerem que a presença de BAL nos biofilmes das formas e mesas de madeira pode exercer um papel benéfico uma vez que ocorrendo o antagonismo a taxa de adesão de patógenos será controlada.

Estudo recente desenvolvido por equipe de pesquisadores franceses demonstrou que na produção do queijo Ragusano, o biofilme presente em tinas de madeira foi responsável pela liberação de  $5 \times 10^4$  a  $10^6$  UFC/mL de *S. thermophilus* e de  $10^4$  a  $10^6$  UFC/mL de lactobacilos termofílicos para o leite adicionado nessas tinas, após um contato por 10 minutos. Essa liberação natural de micro-organismos do biofilme para o leite contribui positivamente para uma coagulação rápida, e para o processo de maturação desses queijos.

Licitra et al. (2007) por meio das técnicas de *Temporal Temperature Gel Electrophoresis* (TTGE) e *Denaturing Gradient Gel Electrophoresis* (DGGE) verificaram que os biofilmes existentes em tinas de madeira, utilizadas na produção artesanal do queijo Ragusano, continham essencialmente as espécies lácticas *S. thermophilus*, *L. acidophilus* e *Leuconostoc mesenteroides*. Esses micro-organismos são liberados do biofilme para o leite acelerando o processo de acidificação e tornando mais eficiente a segurança do produto. A dinâmica populacional que ocorre na manufatura do queijo Ragusano foi acompanhada por meio de técnicas moleculares (RANDAZZO et al., 2002). A conclusão do estudo indicou que as BAL presentes no biofilme das tinas de madeira têm um papel importante na produção e segurança desse queijo pela acidificação do ambiente, que por sua vez, contribui

para a inibição do crescimento de microrganismos indesejáveis.

Nos queijos artesanais tradicionais mineiros, a microbiota benéfica do biofilme das mesas de fabricação, formas e prateleiras, podem atuar nas diferentes fases, contribuindo para a fabricação, maturação e nas características típicas desses queijos. Esse é um tema da maior relevância, que merece estudos que consolidem a aceitação dessas hipóteses, e com isto, ressaltar a importância das técnicas repassadas pelos ancestrais, para as novas gerações.

## 5 CONCLUSÕES

A segurança nos queijos artesanais mineiros pode ser alcançada, inicialmente pelas BPA's, e pela utilização do “pingo”, fermento endógeno contendo bactérias lácticas e outros grupos microbianos, que atuam estimulando a produção de ácido, inibindo patógenos e, portanto, garantindo a segurança dos queijos. Além disso, sabe-se que os biofilmes presentes nas mesas de madeira onde ocorrem a prensagem e a coleta da cultura endógena, contribuem para as características típicas desses queijos. A madeira é considerada pelos produtores, como o material que facilita o dessoramento do queijo, favorecendo a secagem do mesmo, resultando no produto típico, cuja tecnologia foi repassada pelas gerações anteriores.

É importante que novas técnicas e normas ao serem definidas para legislar produtos artesanais, sejam embasadas em estudos científicos, com dados que demonstrem que a segurança seja efetiva, sem prejuízo do “saber fazer” que constitui o bem mais valioso, característico desses produtos. A abolição de técnicas centenárias envolvidas na elaboração de produtos artesanais, como no caso, das bancas de madeira utilizadas na elaboração dos queijos artesanais tradicionais mineiros, devem ser feitas de forma comedida, e com fundamentação científica, para que não haja prejuízo tanto na qualidade e tipicidade do produto quanto na credibilidade por parte do produtor, que é o artesão e principal ator dessa cadeia produtiva. A exemplo da Europa e no resto do mundo, uma grande fatia de sua economia reflete a política de estímulo aos produtos de Identificação Geográfica (IG) e de DOP. Os queijos mineiros estão no processo de solicitação de IG, primeiro passo para se chegar à DOP. Para isso, são necessários estudos relacionando a tecnologia, a ação do ambiente e as características finais do produto. Isso inclui pesquisas para verificar o real papel dos equipamentos de madeira nas características tradicionais dos queijos artesanais. Precisa-se então resguardar o “saber fazer” original e não perder a tradição. A experiência

positiva com os produtos IG e DOP, principalmente nos países europeus, acenam para um futuro promissor dos queijos artesanais em Minas Gerais. No entanto, é preciso que as normas e leis não atropelam e não desestimulem os produtores, para que esses possam continuar fabricando seus produtos, com as técnicas do passado, e com a segurança exigida pelo mundo globalizado.

Produtos com o status IG/DOP constituem uma das formas mais seguras para a conservação de um patrimônio ancestral em que "cada geração possui o usufruto, que deve ser transmitido intacto e se possível, melhorado, às gerações futuras" (MITTAINÉ, 1987).

#### SUMMARY

The wood is secularly used in the manufacture of utensils used in artisanal food manufacturing, such as barrels of alcoholic fermentation, vats, moulds, shelves, and tables for cheese making. These surfaces have porous structure, which allows the development of microbial communities known as biofilms. Biofilm is a safe way for growing of desirable microorganisms, including yeasts, molds and lactic acid bacteria (LAB). They act on acid production and development of flavor in foods. However, pathogens are also constantly present in food biofilm and constitute a health risk for consumers. Nevertheless, recent studies have shown that the presence of LAB in biofilms decreased the adhesion of pathogens such as *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, the main indicators of unsatisfactory manufacturing practices in food environments. In 2002 legislation was established for the manufacture of artisanal Minas cheese, which physico-chemical and microbiological standards were established, prohibiting the use of wooden moulds and tables. This measure was preventive and emergency, though still questioned by the traditional producers, who know the practices used in European countries, where the wood has an important role in the characteristics of various artisanal products, especially some types of cheese with Protected Designation of Origin. To this purpose, studies are needed relating to technology, environmental action and the final characteristics of the product. This includes research to check the real role of wooden utensils in traditional characteristics of the cheeses.

**Index Terms:** Biofilm; Wooden utensils; Artisanal Minas cheese; Safe food.

#### 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APILÁNEZ, I.; GUTIÉRREZ, A.; DÍAZ, M. Effect of surface materials on initial biofilm

development. **Bioresource Technology**, Great Britain, v. 66, p. 225-230, 1998.

ARAÚJO, E. A.; BERNARDES, P. C.; ANDRADE, N. J.; FERNANDES, P. E.; SÁ, J. P. N. Hidrofobicidade de ribotipos de *Bacillus cereus* isolados de indústria de laticínios. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 20, n. 3, p. 491-497, jul./set. 2009.

BERTOZZI, L. & PANARI, G. Cheeses with *Appellation d'Origine Contrôlée* (AOC): factors that affect quality. **International Dairy Journal**, Rennes, v. 3, p. 297-312, 1993.

CAPDEVILLE, I.; NGUYEN, K. M. Kinetics and modelling of aerobic and anaerobic film growth. **Water Science Technology**, Lisboa, v. 22, n. 11, p. 149-170, 1990.

CASALTA, E.; SORBA, J. M.; AIGLE, M.; OGIER, J. C. Diversity and dynamics of the microbial community during the manufacture of Calenzana, an artisanal Corsican cheese. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 133, p. 243-251, 2009.

CHEN, G.; ZHU, H. Bacterial adhesion to silica sand as related to Gibbs energy variations. **Colloids Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 44, p. 41-48, 2005.

CRITTENDEN, R. G.; MARTINEZ, N. R.; PLAYNE, M. J. Synthesis and utilization of folate by yoghurt starter cultures and probiotic bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 80, p. 217-222, 2003.

DIAS, B.; WEIMER, B. Conversion of methionine to thiols by Lactococci, Lactobacilli, and Brevibacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington DC, v. 64, p. 3320-3326, 1998.

DONLAN, R. M.; COSTERTON, J. W. Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. **Clinical and Microbiological Reviews**, Montana, v. 15, n. 2, p. 167-193, 2002.

EMATER. Queijo Minas Artesanal: Tradição e Qualidade que Revelam Minas. **Revista da EMATER – MG**, Belo Horizonte, Ano XXII – n. 80. Agosto de 2004. p. 8-9.

FLEMMING, H. C.; NEU, T. R.; WOZNIAC, D. J. The EPS matrix: the "house of biofilm cells". **Journal of Bacteriology**, Washington DC, v. 189, n. 22, p. 7945-7947, 2007.

- GALA, E.; LANDI, S.; SOLIERI, L.; NOCETTI, M.; PULVIRENTI, A. GIUDICI, P. Diversity of lactic acid bacteria population in ripened Parmigiano Reggiano cheese. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 125, p. 347-351, 2008.
- GKATZIONIS, K.; LINFORTH, R. S. T.; DODD, C. E. R. Volatile profile of Stilton cheeses: Differences between zones within a cheese and dairies. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 113, p. 506-512, 2009.
- JAMESON, J. E. A discussion of the dynamics of *Salmonella* enrichment. **Journal of Hygiene**, Bethesda MD, v. 60, p. 193-207, 1962.
- KJELLEBERG, S.; MOLIN, S. Is there a role for quorum sensing signals in bacterial biofilms? **Current Opinion in Microbiology**, Amsterdam, v. 5, p. 254-258, 2002.
- KIM, Y.; OH, S.; KIM, S. H. Released exopolysaccharide (r-EPS) produced from probiotic bacteria reduce formation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Amsterdam, v. 379, p. 324-329, 2009.
- KUBOTA, H.; SENDA, S.; NOMURA, N.; TOKUDA, H.; UCHIYAMA, H. Biofilm Formation by Lactic Acid Bacteria and Resistance to Environmental Stress. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Amsterdam, v. 106, n. 4, p. 381-386, 2008.
- KUIPERS, O. P.; RUYTER, P. G. G. A.; KLEEREBEZEM, M.; VOS, W. M. Quorum sensing-controlled gene expression in lactic acid bacteria. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v. 64, p. 15-21, 1998.
- LICITRA, G.; OGIER, J. C.; PARAYRE, S.; PEDILIGIERI, C.; CARNEMOLLA, T. M.; FALENTIN, H.; MADEC, M. N.; CARPINO, S.; LORTAL, S. Variability of Bacterial biofilms of the "Tina" wood vats used in the Ragusano cheese-making process. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington DC, v. 73, n. 21, p. 6980-6987, 2007.
- LORTAL, S.; DI BLASI, A.; MADEC, M. N.; PEDILIGIERI, C.; TUMINELLO, L.; TANGUY, G.; FAUQUANT, J.; LECUONA, Y.; CAMPO, P.; CARPINO, S.; LICITRA, G. Tina wooden vat biofilm: A safe and highly efficient lactic acid bacteria delivering system in PDO Ragusano cheese making. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 132, p. 1-8, 2009.
- MAAS, S.; GIMBERT, F.; LUCOT, E.; CRINI, N.; BADOT, P. M. Trace metals in raw cows' milk and assessment of transfer to Comté cheese. **Food Chemistry**, Amsterdam, (2010), doi: 10.1016/j.foodchem.2010.09.034.
- MADRAU, M. A.; MANGIA, N. P.; MURGIA, M. A.; SANNA, M. G.; GARAU, G.; LECCIS, L.; CAREDDA, M.; DEIANA, P. Employment of autochthonous microflora in Pecorino Sardo cheese manufacturing and evolution of physicochemical parameters during ripening. **International Dairy Journal**, Rennes, v. 16, p. 876-885, 2006.
- MARIANI, C.; BRIANDET, R.; CHAMBA, J. F.; NOTZ, E.; CARNET-PANTIEZ, A.; EYOUG, R. N.; OULAHAL, N. Biofilm Ecology of Wooden Shelves Used in Ripening the French Raw Milk Smear Cheese Reblochon de Savoie. **Journal of Dairy Science**, Amsterdam, v. 90, p. 1653-1661, 2007.
- MARTINS, J. M. Características físico-químicas e microbiológicas durante a maturação do queijo Minas artesanal da região do Serro. 2006. 146 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2006.
- MINAS GERAIS (a). Lei 14.185, de 31 de janeiro de 2002. Dispõe sobre o processo de produção de queijo Minas artesanal. 2002. Disponível em: <[http://hera.almg.gov.br/cgi-bin/nph-brs?col=e&d=NJMG&p=1&u=http://www.almg.gov.br/njmg/chama\\_pesquisa.asp&SECT1=IMAGE&SECT2=THESOFF&SECT3=PLUROFF&SECT6=HITIMG&SECT7=LINKON&l=20&r=1&f=G&s1=DECRETO 42645 2002. NORM.&SECT8=SOTEXTO](http://hera.almg.gov.br/cgi-bin/nph-brs?col=e&d=NJMG&p=1&u=http://www.almg.gov.br/njmg/chama_pesquisa.asp&SECT1=IMAGE&SECT2=THESOFF&SECT3=PLUROFF&SECT6=HITIMG&SECT7=LINKON&l=20&r=1&f=G&s1=DECRETO 42645 2002. NORM.&SECT8=SOTEXTO)>. Acesso em: 20 set. 2010.
- MINAS GERAIS (b). 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. 2002. Disponível em: <<http://www.ima.mg.gov.br/component/search/?searchword=portaria+518&ordering=&searchphrase=all>>. Acesso em: 26 jan. 2011.
- MITTAINÉ J. As denominações de origem nos queijos. Cap V. In: André Eck (coordenador) O queijo. Volume 2. **Le Fromage** (original). Publicações Europa-America Ltda. Mem Martins, Portugal. 329 p. 1987.

- PINTO, M. S.; FERREIRA, C. L. L. F.; MARTINS, J. M.; TEODORO, V. A. M.; PIRES, A. C. S.; FONTES, L. B. A.; VARGAS, P. I. R. Segurança alimentar do queijo Minas artesanal do Serro, Minas Gerais, em função da adoção de boas práticas de fabricação. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 39, n. 4, p. 342-347, 2009.
- PINTO, U. M.; VIANA, E. S.; MARTINS, M. L.; VANETTI, M. C. D. Detection of acylated homoserine lactones in gram-negative proteolytic psychrotrophic bacteria isolated from cooled raw milk. **Food Control**, Amsterdam, v. 18, p. 1322-1327, 2007.
- POVEDA, J. M.; CABEZAS, L.; MCSWEENEY, P. L. H. Free amino acid content of Manchego cheese manufactured with different starter cultures and changes throughout ripening. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 84, p. 213-218, 2004.
- RANDAZZO, C. L.; TORRIANI, L.; AKKERMANS, A. D. L.; DE VOS, W. M.; VAUGHAN, E. E. Diversity, Dynamics, and Activity of Bacterial Communities during Production of an Artisanal Sicilian Cheese as Evaluated by 16S rRNA Analysis. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington DC, v. 68, n. 4, p. 1882-1892, 2002.
- RAO, D. R. & SHAHANI, K. M. Vitamin content of cultured milk products. **Cultured Dairy Products Journal**, Amsterdam, v. 22, p. 6-10, 1987.
- RUYTER, P. G. G. A.; KUIPERS, O. P.; DE VOS, W. M. Food-grade controlled lysis of *Lactococcus lactis* for accelerated cheese ripening. **Nature Biotechnology**, Boston, v. 15, p. 976-979, 1997.
- SAILER, M. F.; VAN NIEUWENHUIJZEN, E. J.; KNOL, W. Forming of a functional biofilm on wood surfaces. **Ecological Engineering**, Amsterdam, v. 36, p. 163-167, 2010.
- SOLIERI, L. & GIUDICI, P. Yeasts associated to Traditional Balsamic Vinegar: Ecological and technological features. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 125, p. 36-45, 2008.
- STREVETT, K. A. & CHEN, G. Microbial surface thermodynamics and applications. **Research in Microbiology**, Amsterdam, v. 154, n. 5, p. 329-335, 2003.
- SWAFFIELD, C. H.; J. A. SCOTT; B. JARVIS. Observations on the microbial ecology of traditional alcoholic cider storage vats. **Food Microbiology**, Amsterdam, v. 14, p. 353-361, 1997.
- TREGGAR, A.; ARFINI, F.; BELLETTI, G.; MARESCOTTI, A. Regional foods and rural development: The role of product qualification. **Journal of Rural Studies**, Amsterdam, v. 23, p. 12-22, 2007.
- TRULEAR, M. G. & CHARACKLIS, W. G. Dynamics of biofilm processes. **Journal of Water Pollution Control Federation**, Londres, v. 54, n. 9, p. 1288-1301, 1982.
- VAN HYLCKAMA Vlieg, J. E. T.; HUGENHOLTZ, J. Mining natural diversity of lactic acid bacteria for *flavour* and health benefits. **International Dairy Journal**, Amsterdam, v. 17, p. 1290-1297, 2007.
- VAN OSS, C. J.; GIESE, R. F. The hydrophilicity and hydrophobicity of clay minerals. **Clays and Clay Minerals**, New York, v. 43, p. 474-477, 1995.
- WU, Q. T.; GAO, T.; ZENG, S.; CHUA, H. Plant-biofilm oxidation ditch for in situ treatment of polluted water. **Ecological Engineering**, Amsterdam, v. 28, p. 124-130, 2006.