

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE QUEIJOS MINAS ARTESANAIS DA REGIÃO DO TRIÂNGULO MINEIRO

Microbiological evaluation of Artisanal Minas Cheeses from the Triângulo Mineiro region

Carla Ferreira de Lima^{1}, Istefane Cristina Borges Rodrigues¹,
Patrícia de Oliveira Candinho¹, Lorena Barbosa Vieira Silva¹, Milla Gabriela dos Santos¹,
Guilherme Ramos Oliveira e Freitas¹, Michelle Andriati Sentanin¹*

RESUMO

O Estado de Minas Gerais apresenta destaque na produção de queijo, sendo oito regiões caracterizadas tradicionalmente como produtoras de Queijo Minas Artesanal: Serra, Canastra, Araxá, Cerrado, Campo das Vertentes, Triângulo Mineiro, Serra do Salitre e Serras de Ibitipoca. O Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA), em fevereiro de 2014 reconheceu o Triângulo Mineiro (TM) como sexta região produtora de Queijo Minas Artesanal. O Queijo Minas Artesanal (QMA) é caracterizado pelo uso de leite cru em sua fabricação e pela adição de culturas *start* naturais conhecidas como "pingo", seguindo um processo de fabricação simples, familiar e costumeiro. Cinco produtores do Triângulo Mineiro registrados em algum serviço de inspeção (SIM, IMA ou SIF) foram selecionados pela Emater. Nas propriedades selecionadas foram coletadas amostras de queijos, em intervalos de dias pré-definidos até 22 dias de maturação, durante a estação chuvosa e seca do ano de 2021, para a realização de análises microbiológicas. O período de maturação contribuiu para a redução nas contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva, coliformes à 35°C e à 45°C. *Salmonella* spp. foi detectada em amostras de um único produtor, na estação seca. O gênero *Listeria* não foi encontrado em nenhuma amostra. Diante da pluralidade de resultados de cada produtor, conclui-se que definir um período de maturação para cada propriedade individualizada seja mais adequado que definir o mesmo para uma determinada região produtora de QMA.

Palavras-chave: queijo tradicional, qualidade microbiológica, maturação.

1 Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Biotecnologia, Campus Patos de Minas, Avenida Getúlio Vargas, 230, Centro, 38700-103, Patos de Minas, MG, Brasil. E-mail: carlalima@ufu.br

*Autor para correspondência

Recebido / Received: 10/05/2022

Aprovado / Approved: 09/08/2022

ABSTRACT

The State of Minas Gerais stands out in the production of cheese, with eight regions traditionally characterized as producing Minas Artisanal Cheese: Serro, Canastra, Araxá, Cerrado, Campo of the Vertentes, Triângulo Mineiro, Serra do Salitre and Serras de Ibitipoca. The Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA), in February 2014 recognized the Triângulo Mineiro (TM) as the sixth producing region of Minas Artisanal Cheese. The Minas Artisanal Cheese (MAC) is characterized using raw milk in its manufacture and the addition of natural starter cultures known as "pingo", following a simple, familiar, and customary manufacturing process. Five producers in the TM region registered in some inspection service (IMA, SIF, or SIM) was selected by Emater. In the selected properties, cheese samples were collected, at pre-defined day intervals up to 22 days of ripening, during the rainy and dry season of 2021, for microbiological analysis. The ripening period contributed to the reduction in counts positive *Staphylococcus*, coliforms at 35° e 45°C. *Salmonella* spp. was detected in cheeses from a single producer after ten days of ripening, in the dry season. The *Listeria* genus was not detected in any sample of milk or cheese. Given the plurality of results of each producer, it is concluded that defining a ripening period for each individualized property is more appropriate than defining the same for a particular producing region of MAC.

Keywords: traditional cheese, microbiological quality, ripening.

INTRODUÇÃO

No Brasil é fabricada uma grande variedade de queijos, que refletem a nossa própria formação cultural. Há queijos mais tipicamente brasileiros e há outros inspirados nos conhecimentos queijeiros trazidos ao país por franceses, dinamarqueses, italianos e, mais recentemente, queijos introduzidos por hábitos alimentares ingleses e americanos. As versões originais foram adaptadas às condições e à oferta de leite nas diferentes bacias leiteiras e foram se adequando as preferências do consumidor brasileiro (FARIA, 2021).

Os queijos artesanais são tipicamente caracterizados pela produção em pequena escala, usando leite cru produzido na fazenda e técnicas tradicionais de fabricação (RAMIREZ-RIVIERA *et al.*, 2018; PELEGRINO, 2020). O queijo artesanal no Brasil tem grande importância social devido a sua contribuição na renda de pequenos agricultores familiares. Diferem dos queijos industrializados no tipo de leite utilizado, processamento, tempo de maturação (se maturado), características sensoriais (textura, cor, sabor), umidade, uso de culturas *starter* ou não, entre outros (KAMIMURA *et al.*, 2019a).

Com a implantação da Lei Estadual 14.185/02 (MINAS GERAIS, 2002), foram criadas normas que deram identidade ao Queijo Minas

Artesanal e assim, a Secretaria de Agricultura Pecuária e Abastecimento de Minas Gerais junto a EMATER, lançaram o "Programa de Apoio aos Queijos Tradicionais de Fabricação Artesanal" (EMATER, 2003). Esse programa, visa aproveitar e valorizar, de forma objetiva, o imenso potencial de mercado do queijo mineiro, e além disso, buscar a melhoria da qualidade e da produtividade de todas as queijarias das regiões tradicionalmente produtoras de Queijo Minas Artesanal.

Segundo a Portaria IMA nº 1.969 de 26 de março de 2020, considera-se Queijo Minas Artesanal o queijo elaborado, a partir do leite cru, hígido, integral, de produção própria, com utilização de soro fermento (pingo), e que o produto final apresente consistência firme, cor e sabor próprios, massa uniforme, isenta de corantes e conservantes, com ou sem olhaduras mecânicas. O processo de fabricação apresenta dez etapas, sendo: filtração, adição de fermento natural e coalho, coagulação, corte da coalhada, mexedura, dessoragem, enformagem, prensagem, salga seca e maturação (MINAS GERAIS, 2020).

A portaria ainda demanda o cumprimento de requisitos como: início do processamento em até noventa minutos após o começo da ordenha, fabricação com leite que não tenha sofrido tratamento térmico, utilização de ingredientes de culturas lácticas naturais como pingo, soro

fermentado ou soro-fermento, coalho e sal e, maturação conforme o período estipulado para as microrregiões que possuam pesquisas científicas ou, na sua ausência, pelo maior período determinado por meio dos estudos científicos, ou seja, vinte e dois dias (MINAS GERAIS, 2020).

Na produção do QMA, o leite é um ingrediente primordial. É a fonte dos nutrientes que estarão presentes no queijo e contém microbiota diversificada que será parte dos microrganismos responsáveis pela maturação do queijo (FIGUEIREDO, 2018). Uma vez que o leite utilizado para a manufatura do QMA não passa pelo tratamento térmico, faz-se necessária maior atenção às boas práticas higiênicas na obtenção do leite com o intuito de produzir queijos de boa qualidade microbiológica (RESENDE, 2011; SANTOS, 2016).

Os queijos artesanais elaborados a partir do leite cru, como o QMA apresentam uma microbiota bastante heterogênea, podendo ser constituída de microrganismos desejáveis e indesejáveis. As bactérias ácido-lácticas constituem importante exemplo de microrganismos desejáveis, presentes nos diferentes tipos de queijo. No entanto,

microrganismos indesejáveis deteriorantes e/ou patogênicos também podem estar presentes nos queijos, em função de problemas sanitários do rebanho e de contaminações resultantes de higiene inadequada relacionada a todo o processo de produção, desde a obtenção do leite, passando pela fabricação do queijo até o consumo do produto final (FARIA, 2017).

Embora os queijos artesanais produzidos no Brasil sejam amplamente apreciados e consumidos, a microbiota envolvida na sua produção e maturação não foram descritos em profundidade. Além disso, a diversidade existente nas práticas de fabricação nas diferentes regiões cria um mapeamento microbiológico desses queijos certamente relevante. A contribuição de diferentes grupos microbianos para a microbiota de queijos de leite cru brasileiro precisa ser elucidada, com objetivo final de estabelecer padrões de qualidade para estes produtos (KAMIMURA *et al.*, 2019b).

A Tabela 1 apresenta os parâmetros microbiológicos legais para o Queijo Minas Artesanal segundo a Portaria 2033 do IMA de 23 de janeiro de 2021 (MINAS GERAIS, 2021).

Tabela 1. Parâmetros microbiológicos para o Queijo Minas Artesanal

Parâmetro	Padrão
Coliformes à 35°C (UFC/g)	n=5; c=2; m=1000; M=5000
Coliformes à 45°C (UFC/g)	n=5; c=2; m=100; M=500
<i>Staphylococcus</i> coagulase positivo (UFC/g)	n=5; c=2; m=100; M=1000
<i>Salmonella</i> spp. (/25g)	n=5; c=0; m=0; M=-
<i>Listeria monocytogenes</i> (/25g)	n=5; c=0; m=0; M=-

n = número de unidades amostrais; c = número de amostras aceitáveis entre os limites m e M; m = limite mínimo; M = limite máximo

Fonte: Portaria 2033 do IMA de 23 de janeiro de 2021.

O presente trabalho apresenta-se com os seguintes objetivos: analisar e quantificar a microbiota presente no QMA de cinco produtores da região do Triângulo Mineiro em dois períodos do ano (chuva e seca) nos seguintes intervalos de maturação: 0, 10, 14, 17 e 22 dias. Verificar se o grupo de produtores atende aos padrões da legislação para o QMA, até os 22 dias de maturação.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem

Um grupo de cinco produtores de Queijo Minas Artesanal residentes dos municípios de Araguari, Uberlândia e Monte Carmelo, registrados no SIM, IMA ou SIF foi selecionado pela EMATER, em Uberlândia, para participar da pesquisa, atendendo

critérios de interesse e disponibilidade. No período das chuvas, as análises foram realizadas nos meses de janeiro e fevereiro de 2021 e no período de seca, nos meses de julho e agosto de 2021.

As amostras foram coletadas e enviadas aos laboratórios por colaboradores da EMATER, em caixas de isopor devidamente identificadas, higienizadas, vedadas, contendo gelo reutilizável. As amostras foram recebidas nos laboratórios para análise em temperatura de refrigeração.

No primeiro dia de coleta das amostras, três peças de queijos foram recolhidas em cada propriedade. Da mesma maneira, três unidades foram recolhidas em intervalos de 10, 14, 17 e 22 dias de maturação, sendo todos queijos pertencentes ao mesmo lote, ou seja, todos os queijos coletados pertencem à produção do lote produzido na data da primeira coleta de amostras. Os queijos foram maturados na própria fazenda, sob condições reais.

A avaliação microbiológica das amostras foi realizada no Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal de Uberlândia no Campus Patos de Minas.

Preparo das amostras

Ao chegarem no laboratório, as amostras foram trituradas, homogeneizadas e diluídas em água peptonada e realizou-se o plaqueamento em triplicata de três diluições, previamente selecionadas nos diversos meios de cultura, de acordo com o microrganismo a ser pesquisado.

Metodologia

As análises microbiológicas foram realizadas segundo Brasil, 2003. Para análise dos gêneros *Salmonella* e *Listeria* foram utilizados o Reveal - *Salmonella* Test System (AOAC Licença 960801) e o Reveal - *Listeria* Test System (AOAC Licença 960701) respectivamente, de acordo com os procedimentos determinados pelo fornecedor (Neogen® corporation).

Contagem de coliformes à 35°C e à 45°C

Foram inoculadas alíquotas de 0,1mL das diluições selecionadas em meio Violet Red Bile

Glucose Agar (VRBA - Neogen), utilizando a técnica de plaqueamento em profundidade. As placas foram incubadas à $35 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas. Após a incubação, placas que continham de 15-150 colônias foram selecionadas e foram contadas colônias típicas e atípicas, separadamente. As colônias típicas e atípicas foram submetidas separadamente aos testes confirmativos para coliformes à 35°C e à 45°C .

Para o teste de coliformes à 35°C , as colônias selecionadas foram adicionadas à tubos contendo caldo verde brilhante bile lactose 2% VRBL (VRBL, Himedia) e incubados em estufa à $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 a 48 horas. Para a confirmação de coliformes à 45°C , as colônias selecionadas foram adicionadas à tubos contendo caldo *Escherichia coli* (EC, Himedia) e incubados à $45 \pm 0,2^\circ\text{C}$ por 24 a 48 horas. A presença de coliformes à 35°C é confirmada pela formação de gás (mínimo 1/10 do volume total do tubo de Durham) ou efervescência quando agitado gentilmente.

Os resultados das contagens de coliformes à 35°C e à 45°C foram calculados a partir dos tubos que apresentaram os resultados positivos nos testes confirmativos e expressos em LOG UFC/g.

Contagem de *Staphylococcus coagulase positiva*, negativa e *Staphylococcus spp.*

Para a contagem de *Staphylococcus*, utilizou-se o ágar Baird Parker (BPA, Neogen) suplementado com gema de ovo contendo telurito de potássio. As diluições selecionadas foram inoculadas na superfície seca do ágar e espalhadas com o auxílio de uma alça de Drigalski. As placas foram incubadas invertidas à $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 30 a 48 horas. Placas com crescimento entre 20-200 colônias foram selecionadas para a contagem.

A contagem foi realizada separadamente entre colônias típicas (negras brilhantes com anel opaco, rodeadas por um halo claro, transparente e destacado sobre a opacidade do meio) e atípicas (acinzentadas, com ou sem a presença de halo). As colônias típicas e atípicas foram submetidas à prova de coagulase e às provas complementares de catalase e coloração de Gram.

Na prova de coagulase, as colônias foram incubadas em caldo Brain Heart Infusion (BHI, Neogen) à 36°C por 24 horas. Posteriormente, acrescentou-se aos tubos plasma de coelho liofilizado, previamente ressuspendido em cloreto de sódio (Dinâmica) solução a 1% estéril e os tubos foram novamente incubados à 36 ± 1°C por 6 horas. Para tubos que apresentaram reação de coagulação duvidosa, a incubação foi realizada até completar 24 horas.

As colônias típicas e atípicas ainda foram submetidas à testes complementares como, prova da catalase foi realizado acrescentado a gotas de peróxido de hidrogênio 3% (Êxodo) em uma lâmina de vidro e coloração de Gram, com visualização das lâminas até o aumento de 1000X, microscópio ótico de luz (Opton).

A contagem final da presença do microrganismo na amostra foi realizada de acordo com as informações de coagulase e catalase positiva ou negativa e o tipo de colônia evidenciado pela técnica de coloração de Gram, expressos em Log UFC/g. A contagem de *Staphylococcus* spp. foi feita através do somatório das contagens anteriores.

Pesquisa de *Salmonella* spp.

Para a pesquisa de *Salmonella*, foram incubados 25g de amostra em 225mL de água peptonada tamponada (Neogen) em estufa à 36°C por 16-20 horas. Após incubação em estufa, foram transferidos 100µL para um tubo contendo 10mL de caldo Rappaport Vassiliadis (Neogen) e incubados em banho-maria à 41°C por 30 horas. Do tubo, retirou-se 200µl que foram distribuídos no recipiente de amostra. O dispositivo de teste é inserido e permanece em temperatura ambiente por 15 minutos para a geração do resultado. A amostra é eluída por uma zona reagente que contém anticorpos específicos anti-*Salmonella* conjugados a partículas de ouro coloidal. Se houver a presença de antígenos na amostra, eles se ligarão aos anticorpos conjugados ao ouro. Em seguida, esse complexo antígeno-anticorpo deixa a zona reagente e segue pela membrana de nitrocelulose, que contém uma zona de anticorpos anti-*Salmonella*. O complexo imune

com o conjugado de ouro é capturado e se agrega nessa zona, exibindo uma linha visível. O restante da amostra continua migrando para o fim da membrana, onde é depositado em um reservatório de resíduos.

Pesquisa de *Listeria* spp.

Para a pesquisa de *Listeria* foram incubados 25g de amostra em caldo tamponado de enriquecimento de *Listeria* (Neogen) em estufa à 30°C por 24 horas. Após incubação em estufa, foram transferidos 100µL para um tubo contendo 10mL de caldo seletivo Fraser (Neogen) e incubados à 30°C por 48 horas. Uma amostra 200µL foi retirada do tubo e transferida para o recipiente de amostra. O dispositivo de teste é inserido no recipiente e permanece em temperatura ambiente por 20 minutos para a geração do resultado. A amostra é eluída por uma zona reagente que contém anticorpos específicos anti-*Listeria* conjugados a partículas de ouro coloidal. Se houver a presença de antígenos na amostra, eles se ligarão aos anticorpos conjugados ao ouro. Em seguida, esse complexo antígeno-anticorpo deixa a zona reagente e segue pela membrana de nitrocelulose, que contém uma zona de anticorpos anti-*Listeria*. O complexo imune com o conjugado de ouro é capturado e se agrega nessa zona, exibindo uma linha visível.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação da qualidade microbiológica do queijo

As médias dos resultados apresentados individualmente foram comparados ao limite máximo estabelecido pela legislação vigente, através da Portaria IMA 2033 de 2021 (MINAS GERAIS, 2021).

Coliformes à 35°C

Os resultados das contagens de coliformes à 35°C, obtidos em amostras de queijos do grupo de cinco produtores do Triângulo Mineiro, durante o período de maturação, na época das chuvas e de seca, podem ser observados na Tabela 2.

Tabela 2. Médias das contagens individuais de coliformes à 35°C (Log UFC/g) em QMA de produtores do TM durante o período de maturação nas épocas de chuvas e seca

Produtor	Chuvas					Seca				
	Dia 1	Dia 10	Dia 14	Dia 17	Dia 22	Dia 1	Dia 10	Dia 14	Dia 17	Dia 22
A	4,50*	4,11*	3,74*	2,88	3,20	2,64	2,99	3,31	3,04	3,44
B	4,62*	5,03*	7,01*	5,18*	4,38*	2,00	5,88*	5,25*	4,80*	4,48*
C	4,39*	2,48	2,75	2,47	3,31	3,93*	3,73*	3,11	2,97	1,78
D	4,72*	4,01*	2,93	2,51	2,48	4,69*	6,39*	5,76*	5,15*	3,96*
E	4,75*	2,00	2,32	2,43	2,27	4,58*	3,40	2,03	2,70	2,15

*valores acima da legislação segundo a Portaria IMA 2033 de janeiro de 2021 (Log UFC/g \leq 3,70), n=5

Diante dos valores médios apresentados, nota-se uma grande variabilidade de resultados. No período das chuvas, nenhuma amostra estava em conformidade com a legislação para o queijo recém produzido.

A partir de 10 dias de maturação, apenas dois produtores já se encontravam dentro do padrão exigido pela legislação, nas duas épocas avaliadas. Verifica-se que no período chuvoso, um produtor não atinge o parâmetro legal até os vinte e dois dias de maturação. O mesmo ocorre para dois produtores no período de seca, sendo um deles o mesmo que não atingiu o padrão no período chuvoso.

A tendência de queda nas contagens de coliformes totais ao longo da maturação foi observada por Figueiredo (2018), em propriedades cadastradas de Serra do Salitre – MG. No presente estudo, o processo de maturação permitiu reduzir, em parte, a contagem de coliformes à 35°C nos queijos

avaliados. Para três produtores, o valor estipulado pela legislação foi atingido no décimo quarto dia de maturação, para os dois períodos analisados. Todavia, redução mais evidente nas contagens pôde ser verificada no período das chuvas.

Campos (2019), ao avaliar queijos de três produtores da Canastra, observou que as amostras atingiram o valor estipulado pela legislação antes do sétimo dia de maturação. Lempk (2018), verificou que para queijos da região do Serro, foram necessários mais de 30 dias para atingir o limite determinado pela legislação e onde as maiores contagens de coliformes totais ocorreram no período da seca.

Coliformes à 45°C

Os resultados de contagens de coliformes à 45°C obtidos em queijos do grupo de produtores do TM, durante o período de maturação, coletados na época das chuvas e da seca podem ser observados na Tabela 3.

Tabela 3. Médias das contagens individuais de coliformes a 45°C (Log UFC/g) em QMA de produtores do TM durante o período de maturação nas épocas de chuvas e seca

Produtor	Chuvas					Seca				
	Dia 1	Dia 10	Dia 14	Dia 17	Dia 22	Dia 1	Dia 10	Dia 14	Dia 17	Dia 22
A	5,27*	3,73*	3,35*	1,64	2,50	2,64	2,69	3,46*	3,12*	3,44*
B	4,62*	5,02*	4,00*	4,00*	3,85*	2,91*	5,88*	5,09*	4,77*	4,48*
C	4,39*	2,00	1,00	1,00	1,00	2,85*	3,07*	2,97*	3,04*	1,00
D	3,00*	2,00	1,00	1,00	1,00	3,00*	4,21*	4,18*	4,97*	2,39
E	2,00	2,00	2,13	1,88	1,00	3,52*	3,26*	1,43	2,56	1,48

*valores acima da legislação segundo a Portaria IM 2033 de janeiro de 2021 (Log UFC/g \leq 2,69), n=5

Observando os valores médios de cada produtor, verifica-se uma diversidade de resultados. No período chuvoso, 60% das amostras do grupo de produtores avaliados já atingiam o padrão da legislação aos dez dias de maturação. Já no período de seca, tal fato só ocorreu aos 22 dias de maturação.

No período das chuvas, o decréscimo nas contagens deste grupo de microrganismos ocorreu rapidamente para a maioria dos produtores, entretanto, um produtor não atingiu os limites da legislação até os 22 dias de maturação. No período de seca, a redução desses microrganismos ocorreu de forma mais lenta e, até o 22º dia de maturação, apenas 3 produtores alcançaram valores inferiores ao exigido por lei.

Santos (2016) também encontrou diversidade nas contagens de coliformes à 45°C ao analisar queijos com um dia de maturação de seis produtores do município de Uberaba – MG. Lempk (2018) verificou que amostras do Serro, no período de seca, apresentaram contagens satisfatórias antes do 40º dia, enquanto os queijos

produzidos no período chuvoso não atingiram limites aceitáveis até esse período. Avaliando a maturação de três produtores da Canastra, Campos (2019) observou que aos 14 dias de maturação, dois produtores atingiram valores dentro padrão.

Os coliformes à 45°C pertencem a um grupo de microrganismos que tem *habitat* no trato intestinal do homem e outros animais, portanto sua presença em queijos pode representar risco para a saúde dos consumidores, devido à alta patogenicidade desses microrganismos. Sabe-se que esse grupo de microrganismos geralmente é contaminante ambiental, e sua contagem elevada indica deficiência na qualidade higiênico-sanitária do produto (BRANT *et al.*, 2007).

Staphylococcus coagulase positiva

A Tabela 4 traz os valores médios de cada produtor das contagens de *Staphylococcus coagulase positiva* (Log UFC/g) nas amostras de Queijo Minas Artesanal ao longo do período de maturação avaliado.

Tabela 4. Médias das contagens individuais de *Staphylococcus coagulase positiva* (Log UFC/g) em QMA de produtores do TM, durante o período de maturação nas épocas de chuvas e seca

Produtor	Chuvas					Seca				
	Dia 1	Dia 10	Dia 14	Dia 17	Dia 22	Dia 1	Dia 10	Dia 14	Dia 17	Dia 22
A	2,00	3,00	2,00	2,00	4,00*	2,00	3,00	2,00	3,00	3,00
B	5,26*	3,00	3,00	3,00	2,00	4,98*	6,15*	2,85	8,36*	3,00
C	5,27*	3,12*	2,00	3,00	3,00	4,73*	4,09*	2,73	2,00	2,00
D	5,29*	6,11*	7,22*	3,00	2,00	5,13*	6,00*	6,73*	6,90*	6,85*
E	5,33*	2,00	5,67*	3,00	3,00	5,18*	5,06*	3,00	3,60*	5,93*

*valores acima da legislação segundo a Portaria IM 2033 de janeiro de 2021 (Log UFC/g ≤ 3,00), n=5

Os resultados apresentados na Tabela 4 demonstram a diversidade obtida nas contagens individuais de *Staphylococcus coagulase positiva*. O produtor A apresenta valores dentro da legislação já no primeiro dia, quando o queijo foi produzido, em ambos os períodos avaliados.

No período chuvoso, aos 17 dias de maturação, todo o grupo de cinco produtores estava em acordo com o padrão da legislação. No período de seca, apenas 3 produtores atingiram

valores legais até os 22 dias de maturação.

Como neste trabalho, Santos (2016) encontrou contagens elevadas para *S. aureus*, acima da legislação, em QMAs com um dia de maturação produzidos no município de Uberaba – MG. Figueiredo (2018) na Região de Serra do Salitre, verificou que a contagem de *Staphylococcus coagulase positiva* encontrada nos queijos com um dia de maturação foi maior do que as demais contagens encontradas durante a

maturação no período seco, diferentemente do que foi observado para alguns produtores aqui avaliados. Campos (2019) avaliando três produtores na Canastra, verificou que um atingiu os limites aceitáveis aos 7 dias de maturação, enquanto para os demais foram necessários 14 dias para se atingir o valor padrão da legislação.

Em estudos realizados em Queijos Minas Artesanal da região do Triângulo Mineiro fabricados em Uberlândia, foi observado que os QMAs atingiram o limite da legislação após 26 dias de maturação para coliformes totais, *E. coli* e

Staphylococcus coagulase positiva. A avaliação microbiológica ainda resultou em ausência de *L. monocytogenes* e *Salmonella* spp. foi isolada em apenas uma amostra (SOARES, 2014; KAMIMURA, et al., 2019a).

***Staphylococcus* coagulase negativa**

A Tabela 5 traz os valores médios de cada produtor das contagens de *Staphylococcus* coagulase negativa (Log UFC/g) nas amostras de Queijo Minas Artesanal ao longo do período de maturação.

Tabela 5. Médias das contagens individuais de *Staphylococcus* coagulase negativa (Log UFC/g) em QMA de produtores do TM durante o período de maturação nas épocas de chuvas e seca (n=5)

Produtor	Chuvas					Seca				
	Dia 1	Dia 10	Dia 14	Dia 17	Dia 22	Dia 1	Dia 10	Dia 14	Dia 17	Dia 22
A	4,92	5,53	5,50	5,20	6,07	4,00	4,54	4,10	5,22	3,80
B	3,00	4,97	5,88	6,49	6,83	4,08	7,81	7,80	7,56	7,88
C	3,00	5,11	6,21	7,21	5,77	3,00	3,99	3,40	4,00	3,45
D	3,00	3,00	4,00	7,09	5,09	3,00	7,68	7,79	7,51	7,36
E	3,00	5,42	3,00	7,67	6,93	5,32	3,00	6,10	3,90	5,04

A pesquisa de *Staphylococcus* coagulase negativa em alimentos não é prevista na legislação, entretanto, estas bactérias têm emergido como patógenos oportunistas e sua capacidade de produzir toxinas já foi documentada. Optamos por realizar as contagens deste microrganismo, a fim de investigar o seu comportamento durante o período de maturação nas amostras da Região do Triângulo Mineiro.

No gênero *Staphylococcus*, 38 espécies já foram classificadas como coagulase negativo, tendo como principal fator de virulência a produção de enterotoxinas (BECKER et al., 2014; GONÇALVES, 2020). O queijo destaca-se entre os principais derivados lácteos associados a intoxicações alimentares e a presença de cepas enterotoxigênicas do gênero *Staphylococcus* neste alimento representa um risco ao consumidor (VIEIRA, 2017).

A partir dos resultados individuais das contagens médias de *Staphylococcus* coagulase negativa, nota-se uma tendência de crescimento

destes microrganismos para a maioria de amostras em ambos os períodos avaliados. Na microrregião de Araxá, Sales (2015) encontrou contagens semelhantes e não observou diferença nas amostras avaliadas nos períodos de chuva e de seca. Elevadas contagens do microrganismo foi observado por Rezende, et al. (2020) em QMAs de Monte Carmelo – MG.

Durante o processo de maturação nas propriedades, os queijos são virados diariamente nas prateleiras (SANTOS, 2013). Alguns produtores ainda lavam e/ou realizam a toailete nos queijos. A constante manipulação sem cuidados higiênicos necessários, possivelmente, contribui para a manutenção ou aumento nas contagens deste microrganismo no produto.

***Staphylococcus* spp.**

A Tabela 6 traz os valores médios de cada produtor das contagens de *Staphylococcus* spp. (Log UFC/g) nas amostras de Queijo Minas Artesanal ao longo do período de maturação avaliado.

Tabela 6. Médias das contagens individuais de *Staphylococcus* spp. (Log UFC/g) em QMA de produtores do TM durante o período de maturação nas épocas de chuvas e seca (n=5)

Produtor	Chuva					Seca				
	Dia 1	Dia 10	Dia 14	Dia 17	Dia 22	Dia 1	Dia 10	Dia 14	Dia 17	Dia 22
A	4,92	5,53	5,50	5,20	4,00	4,00	4,54	4,10	5,22	3,80
B	5,26	4,97	5,88	6,49	6,83	5,03	7,82	7,80	8,43	7,88
C	5,27	3,12	6,21	7,21	5,77	4,73	4,34	3,48	4,00	3,45
D	5,29	6,11	7,22	7,09	5,09	5,13	7,69	7,83	7,61	7,48
E	5,33	5,42	5,67	7,67	6,93	5,51	5,06	6,10	4,08	5,98

Avaliando individualmente a presença do gênero *Staphylococcus* spp. observa-se que a maioria das amostras apresentaram elevadas quantidades destes microrganismos e grande parte desses tem origem na contagem e presença de *Staphylococcus coagulase* negativa.

As bactérias gênero *Staphylococcus* spp. apresentaram tendência de aumento nas contagens e permanência nas amostras ao decorrer dos 22 dias de maturação estudados, como verificado por Figueiredo (2018), que observou que de modo geral, os valores das contagens de *Staphylococcus* spp. não apresentam tendência de redução perceptível ao longo dos 63 dias de maturação. Sales (2015) obteve contagens de *Staphylococcus* spp em QMA de Araxá até o 57º dia de maturação, semelhantes aos verificados neste trabalho, e não observou influência dos períodos do ano nessas contagens. Ao analisar queijos de quatro produtores da região de Campo das Vertentes, Resende (2014) verificou tendência em se manter constante as contagens deste grupo de microrganismos no período de 0 e 30 dias de maturação.

Alguns representantes do gênero *Staphylococcus* spp, quando em condições favoráveis de pH, temperatura, atividade de água e em contagens superiores a 10^5 - 10^6 UFC/mL ou g, podem produzir toxinas capazes de ocasionar quadros de intoxicação alimentar em seres humanos (LOIR *et al.*, 2003; FIGUEIREDO, 2018). As toxinas pré-formadas por *Staphylococcus* spp. são amplamente resistentes, tolerando temperaturas elevadas e ação de enzimas digestivas (FORSYTHE, 2013).

A legislação atual não exige contagens ou estabelece limites para *Staphylococcus coagulase*

negativa ou *Staphylococcus* spp. no Queijo Minas Artesanal. Entretanto, a presença de *Staphylococcus* nos alimentos é encarada como um indicador de deficiências de carácter higiênico no processo de obtenção do alimento e particularmente nas operações de manipulação (BORGES *et al.*, 2008; SOUZA *et al.*, 2015).

A maturação não foi eficiente para diminuir as contagens de *Staphylococcus* spp. durante o período de maturação. Provavelmente, a ação das bactérias ácido-láticas com a produção de ácido láctico, a alteração do pH, salga, entre outros fatores, não foram suficientes para influenciar a diminuição da contagem desses microrganismos e permaneceu elevada durante todo o período de maturação na época das chuvas e da seca (SALES, 2015).

A ampla incidência de *Staphylococcus* em amostras de queijos pode indicar a utilização de leite de má qualidade e que as condições higiênicas durante a produção não estavam adequadas (KAMIMURA, 2019a). Ademais, a manipulação constante na viragem dos queijos durante a maturação pode contribuir para a manutenção da alta contagem, por isso se faz necessário a aplicação de medidas higiênico-sanitárias e boas práticas de fabricação (SANTOS, 2013).

Pesquisa de *Salmonella* spp. e *Listeria* spp.

O gênero *Salmonella* spp. não foi detectado nos queijos produzidos e analisados no período das chuvas. Entretanto, no período da seca, foi encontrado o microrganismo em uma amostra de queijo nos períodos de maturação correspondentes à 10, 14, 17 e 22 dias. Diante do disso, admite-se que o produto tenha sido contaminado

após a produção, em contato com água ou utensílios contaminados, através da manipulação do produtor ou algum portador assintomático, ou ainda, no local onde ocorreu a maturação.

Figueiredo (2018) não encontrou *Salmonella* em nenhuma das amostras de QMA elaborado e maturado em período chuvoso. Também não foi observado a presença do microrganismo em queijos produzidos em Uberaba (SANTOS, 2016). Sales (2015) detectou *Salmonella* spp. em Queijo Minas Artesanal com 22 dias de maturação no período das chuvas na Região de Araxá (SALES, 2015).

O gênero *Listeria* não foi identificado em nenhum queijo, nos diferentes dias de maturação e épocas do ano estudados. Santos (2016) detectou *Listeria monocytogenes* em uma amostra das seis avaliadas em Uberaba-MG. Na região de Araxá, *Listeria monocytogenes* foi identificada em dois queijos na época da seca, no queijo recém produzido em uma propriedade, e em uma segunda fazenda, no sétimo dia de maturação (SALES, 2015). Em um estudo transversal onde foram avaliadas 78 amostras de queijos após o período de 22 dias de maturação, provenientes da Serra da Canastra, 100% das amostras apresentaram ausência para *Salmonella*, entretanto, *Listeria monocytogenes* foi identificada em uma única amostra (CAMPOS, 2019).

As recontaminações são um problema relevante na produção de alimentos, e já foram relatadas em pesquisas de qualidade do QMA. A recontaminação do QMA se dá por diversas causas, sendo possível detectar a prática de se depositar queijos, em processo inicial de maturação, em prateleiras superiores aos queijos de maior tempo de maturação, propiciando que o soro dos queijos novos pingue sobre os queijos maturados. Outros aspectos relatados são a presença de moscas no interior da sala de maturação. Existem ainda outras práticas como a de viragem dos queijos durante a maturação que pode ser feita sem a devida higiene, além da lavagem da casca com água não tratada (OLIVEIRA, 2014; FIGUEIREDO, 2018).

CONCLUSÃO

Por meio do presente estudo, verificou-se que o processo de maturação foi capaz de reduzir o quantitativo dos microrganismos: coliformes à 35°C e à 45°C e *Staphylococcus coagulase positiva*. Para as amostras maturadas até 22 dias, quatro dos cinco produtores avaliados atenderam à legislação, no período chuvoso e durante a seca, somente três produtores. A maturação é um processo importante para a qualidade do Queijo Minas Artesanal, porém, não pode ser único fator de garantia de qualidade, sendo indispensável o emprego sistemático de boas práticas agropecuárias e de fabricação em toda cadeia produtiva. A variabilidade dos resultados analisados individualmente demonstra o quão complexo é a determinação de um período ideal de maturação para o Queijo Minas Artesanal para uma determinada região. Diante da desigualdade de resultados individuais, a definição de períodos de maturação por propriedades, ou seja, por produtores de maneira particularizada, seria o mais adequado.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao SEBRAE MINAS Patos de Minas, à EMATER Regional Patos de Minas e EMATER Regional Uberlândia, aos produtores da Região do Triângulo Mineiro, à APROCER (Associação dos Produtores de QMA do Cerrado) e ao Centro Universitário Patos de Minas (UNIPAM) que possibilitaram a realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS

- BECKER, K.; HEILMANN, C.; PETERS, G. Coagulase negative staphylococci. **Clinical Microbiology Reviews**, v.27, n.4, p. 870-926, 2014. DOI: 10.1128/cmr.00109-13
- BORGES, M. F. *et al.* *Staphylococcus* enterotoxigênicos em leite e produtos lácteos, suas enterotoxinas e genes associados: revisão. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 26, n. 1, p. 70-86, 2008. DOI:10.5380/cep.v26i1.11794
- BRANT, L. M. F.; FONSECA, L. M.; SILVA, M. C. C. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo-de-Minas artesanal do Serro-MG. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e**

- Zootecnia**, v. 59, n. 6, p. 1570-1574, 2007. DOI: 10.1590/S0102-09352007000600033
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 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**: seção 1, Brasília, DF, n. 181, p. 14, 18 set. 2003.
- CAMPOS, G. Z. **Avaliação microbiológica de queijos minas artesanais provenientes da Serra da Canastra durante e após o período de maturação**. 2019. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.
- EMATER - Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Minas Gerais. **Queijo Minas Artesanal**. Disponível em: https://www.emater.mg.gov.br/portaletal.do?flagweb=site_tpl_queijo&id=3301
- FARIA, L. S. **Prevalência e fatores de risco para *Coxiella burnetii* em queijos Minas artesanais da microrregião do Serro**. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados) – Faculdade de Farmácia e Bioquímica, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2017.
- FARIA, T. Produção de queijo é alta dose de saúde e sustentabilidade. **CPT Cursos**. Disponível em: www.cpt.com.br/cursos-laticinios/artigos/producao-queijo-minas-frescal-mussarela-gouda-bastante-consumidos-brasil-sao-boa-fonte-renda Acesso em 20-04-2021
- FIGUEIREDO, R. C. **Perfil socioeconômico de agricultores familiares e caracterização de queijo Minas Artesanal de Serra do Salitre (MG) em diferentes períodos de maturação e épocas do ano**. 2018. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2018.
- FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da Segurança dos Alimentos**. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 620 p.
- GONÇALVES, T. G. ***Staphylococcus coagulase negativa* potencialmente patogênicos isolados do fluxograma de abate de suínos**. 2020. Dissertação. (Mestrado em Ciências área de concentração: Sanidade Animal) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, 2020.
- KAMIMURA B. A. *et al.* Brazilian artisanal cheeses: an overview of their characteristics, main types and regulatory aspects. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. v.18, n. 5, p. 1636-1657, 2019a. DOI: 10.1111/1541-4337.12486
- KAMIMURA, B. A. *et al.* Large-scale mapping of microbial diversity in artisanal Brazilian cheeses. **Food Microbiology**, v. 80, p. 40-49, 2019b. DOI: 10.1016/j.fm.2018.12.014
- LOIR, Y. L.; BARON, F.; GAUTIER, M. ***Staphylococcus aureus* and food poisoning**. **Genetics and Molecular Research** v. 2, n. 1, p. 63-76, 2003.
- LEMPK, M. W. **Influência do inóculo “rala” sobre as características físico-químicas, microbiológicas e reológicas do queijo Minas Artesanal do Serro – MG**. 2018. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2018.
- MINAS GERAIS. Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instituto Mineiro de Agropecuária. Portaria nº 1.969, de 26 de março de 2020. Dispõe sobre a produção de Queijo Minas Artesanal – QMA em queijarias e entrepostos localizados dentro de microrregiões definidas e para as demais regiões do Estado, caracterizadas ou não como produtora de QMA. **Diário do Executivo do Estado de Minas Gerais**: caderno 1, Belo Horizonte, MG, p. 7, 27 mar. 2020.
- MINAS GERAIS. Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instituto Mineiro de Agropecuária. Portaria nº 2033, de 23 de janeiro de 2021. Dispõe sobre os parâmetros e padrões físico-químicos e microbiológicos de alimentos de origem animal e água de abastecimento. **Diário do Executivo do Estado de Minas Gerais**: caderno 1, Belo Horizonte, MG, p. 6, 23 jan. 2021.
- MINAS GERAIS. Lei Estadual nº 14.185, de 31 de janeiro de 2002. Dispõe sobre o processo de produção do Queijo Minas Artesanal e dá outras providências. **Minas Gerais Diário do Executivo**: col 2, Belo Horizonte, MG, p. 03, 01 fev. 2002.
- 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. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.
- PELEGRINO, B. O. **Rastreabilidade: percepção e atitudes de produtores de queijos artesanais no Brasil**. 2020. Dissertação. (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) – Faculdade de Veterinária Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ. 2020.
- RAMIREZ-RIVERA, E. J. *et al.* Comparison of performance and quantitative descriptive analysis sensory profiling and its relationship to consumer liking between the artisanal cheese producers panel and the descriptive trained panel. **Journal of Dairy Science**. n. 101, p. 5851-5864, 2018 DOI: 10.3168/jds.2017-14213
- RESENDE, M. F. S. *et al.* Queijo de minas artesanal da Serra da Canastra: influência da altitude das queijarias nas populações

- de bactérias acidolácticas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 6, p. 1567-1573, 2011. DOI: 10.1590/s0102-09352011000600039
- RESENDE, E. C. **Aspectos Sensoriais e Microbiológicos do Queijo Minas Artesanal da Microrregião Campo das Vertentes**. 2014. Dissertação (Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados) – Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2014.
- REZENDE, S. D. R. *et al.* Caracterização dos aspectos microbiológicos do Queijo Minas Artesanal de Monte Carmelo/MG. **Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais**, v. 11, n. 6, p. 621-637, 2020. DOI: 10.6008/CBPC2179-6858.2020.006.0050
- SALES, G. A. **Caracterização microbiológica e físico-química de queijo Minas Artesanal da microrregião de Araxá - MG durante a maturação em diferentes épocas do ano**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.
- SANTOS, C. G. dos. **Diagnóstico sanitário do Queijo Minas Artesanal produzido em Uberaba – MG**. 2016. Dissertação (Mestrado Profissional em Inovação Tecnológica) – Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, 2016.
- SANTOS, K. R. **Avaliação da qualidade microbiológica do Queijo Minas Artesanal produzido na serra da canastra – MG**. Monografia (Especialização em Microbiologia) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.
- SOARES, D. B. **Caracterização físico-química e microbiológica de queijo Minas artesanal na região de Uberlândia – MG**. 2014. (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2014.
- SOUZA, V. *et al.* Estirpes de *Staphylococcus aureus* isoladas de Queijo Minas Artesanal de Araxá. **ARS Veterinária**, v. 31, n. 1, 019-023, 2015. DOI: 10.15361/2175-0106.2015v31n1p19-23
- VIEIRA, T. R. **Pesquisa de *Staphylococcus spp.* coagulase negativa em queijo colonial inspecionado: identificação, perfil de genes de enterotoxinas clássicas e de resistência à penicilina e a meticilina**. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017.