REVISTA
DO INSTITUTO DE LATICÍNIOS CÂNDIDO TOSTES
v. 77, n. 4, out-dez 2022

Revisão DOI: 10.14295/2238-6416.v77i4.910

FATORES RELACIONADOS À MATURAÇÃO DE QUEIJOS ARTESANAIS QUE APRESENTAM EFEITOS DELETÉRIOS SOBRE MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS – UMA REVISÃO

Factors related to ripening of artisanal cheeses which have depletive effects on pathogenic microorganisms – a review

Suzana Horta Fonseca[1], Marcelo Resende Souza[2], Bruna Maria Salotti de Souza[2], Marco Antônio Sloboda Cortez[3], Leorges Moraes da Fonseca[2]*

RESUMO

A fabricação e comercialização de queijos artesanais de leite cru vem crescendo continuamente devido à sua variação e intensidade de sabor se comparado ao queijo de leite pasteurizado. O desenvolvimento do sabor e aroma no queijo de leite cru ocorre principalmente pela variada microbiota endógena existente e enzimas naturais do leite, que normalmente são eliminados durante o processo de pasteurização. A ausência do processo de pasteurização intensifica a necessidade de uma etapa de maturação bem controlada para se obter um produto final de qualidade. A maturação do queijo é um fenômeno complexo, que envolve reações bioquímicas decorrentes da interação de microrganismos com o queijo e transformações físico-químicas consequentes desta atividade microbiana e da ação climática sobre os queijos. Assim, a maturação tende a reduzir a umidade, a atividade de água e aumentar a acidez dos queijos. Desta forma, a maturação pode reduzir populações de microrganismos patogênicos, e controlar o risco referente ao consumo deste tipo de alimento. Os fatores que controlam o crescimento de microrganismos no queijo incluem: atividade de água, concentração de sal, potencial de redução de oxidação, pH, a presença de NO_3, temperatura de maturação e a produção de bacteriocinas. Nesta revisão, serão abordados os principais fatores relacionados à maturação de queijos que apresentam efeitos deletérios sobre os microrganismos patogênicos e sua importância na produção de queijos Minas artesanais.

Palavras-chave: interação microbiana; pH; redox; sal; atividade de água.

1 Laboratório Federal de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Avenida Rômulo Joviano, s/n, Olaria, 33250-220, Pedro Leopoldo, MG, Brasil.
E-mail: suzanahf@hotmail.com

2 Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Belo Horizonte, MG, Brasil.

3 Universidade Federal Fluminense, Faculdade de Medicina Veterinária, Niterói, RJ, Brasil.

*Autor para correspondência

Recebido / Received: 01/04/2022
Aprovado / Approved: 09/08/2022

ABSTRACT

The manufacture and sale of artisanal raw milk cheeses have been growing continuously due to their variation and flavor intensity compared to pasteurized milk cheeses. The development of flavor and aroma in raw milk cheese occurs mainly due to the diversified endogenous microbiota and natural milk enzymes, which are normally eliminated during the pasteurization process. The absence of the pasteurization process intensifies the need for a well-controlled maturation step to obtain a quality final product. Cheese maturation is a complex phenomenon that involves biochemical reactions resulting from the interaction of microorganisms with the cheese and physicochemical changes resulting from this microbial activity and the climatic action on cheese. Thus, maturation tends to reduce moisture, and water activity and increase the acidity of the cheeses. Thereby maturation can reduce populations of pathogenic microorganisms, and control the risk related to the consumption of this type of food. Factors that control the growth of microorganisms in cheese include water activity, salt concentration, oxidation-reduction potential, pH, the presence of NO_3, ripening temperature, and the production of bacteriocins. In this review, the main factors related to cheese maturation that have deleterious effects on pathogenic microorganisms and their importance in the production of artisanal Minas cheeses will be addressed.

Keywords: microbial interaction; pH; redox; salt; water activity.

INTRODUÇÃO

A produção de queijos começou há cerca de 8.000 anos e hoje em dia existem mais de 1.000 variedades em todo o mundo. A fabricação da maioria das variedades de queijo envolve a combinação de quatro ingredientes: leite, coalho, microrganismos e sal, que são processados através de uma série de etapas comuns, como coagulação, acidificação, expulsão do soro de leite, enformagem e adição de sal, seguido, ou não, por um período de maturação. Variações na origem do leite, nas técnicas de processamento, nas misturas de ingredientes, na microbiota e no tempo de maturação levaram à evolução de todas essas variedades (PERRY, 2004; PAULA *et al*., 2009).

Na fabricação do queijo, pode-se utilizar leite cru ou leite pasteurizado. Até a década de 1940 os queijos eram tradicionalmente feitos com o leite cru. A pasteurização do leite tornou-se cada vez mais popular a partir do início do século XX, principalmente por razões de saúde pública, mas também para fornecer leite de qualidade bacteriológica mais uniforme e manter sua qualidade, pois a pasteurização destrói não somente os microrganismos patógenos, mas também microrganismos deteriorantes. No entanto, esse tratamento térmico pode prejudicar a aptidão do leite para a coagulação, uma vez que insolubiliza parte do cálcio solúvel, resultando em uma coalhada mais fraca, o que pode aumentar as perdas de sólidos do leite no soro. O queijo, quando fabricado com leite pasteurizado, apresenta sabor e aroma menos intensos e matura mais lentamente do que aqueles fabricados com leite cru, dadas as várias modificações que são provocadas pelo calor como: inativação de enzimas naturais do leite (lipases e proteases), inativação de grande parte da microbiota endógena, desnaturação de proteínas, dentre outras (PAULA *et al*., 2009; FOX *et al*., 2017; PENNA *et al*., 2021).

O objetivo primário da produção de queijo é estender o prazo de validade e conservar os componentes nutritivos do leite. Isso é alcançado pela produção de ácido e pela desidratação. A produção de ácido lático pela microbiota inicial durante a fabricação do queijo resulta na diminuição do pH do leite e, isso em combinação com cozimento e mexedura, promovem a sinérese da coalhada e expulsão do soro de leite. Enquanto todos os queijos coagulados com ácido são consumidos frescos, a maioria dos queijos coagulados com coalho passa por um período de maturação que pode variar de cerca de três semanas a dois anos ou mais como para o parmesão e Cheddar extra-maduro (BERESFORD *et al*., 2001; PAULA *et al*., 2009).

O queijo é um ecossistema complexo que

está em fluxo contínuo em termos tanto dos fatores externos, como técnicas de fabricação e condições de maturação, quanto fatores intrínsecos, como composição físico-química e interações entre as diferentes comunidades microbianas. A ampla gama de reações bioquímicas e interações microbianas que ocorrem durante a maturação do queijo é a base das características desejáveis do produto, como sabor e aroma, prevenção de deterioração, inibição de patógenos e modulação da saúde (PELAEZ; REQUENA, 2005). Dentre essas reações bioquímicas as três principais são: metabolismo da lactose residual, lactato e citrato, proteólise e lipólise (KHATTAB *et al*., 2019).

A presente revisão de literatura teve como objetivo apresentar os principais fatores relacionados à maturação de queijos que apresentam efeitos deletérios sobre os microrganismos patogênicos e sua importância na produção de queijos Minas artesanais.

FATORES QUE CONTROLAM A MULTIPLICAÇÃO DE MICRORGANISMOS

A contaminação microbiológica na indústria de alimentos representa um sério perigo para a saúde do consumidor e acarreta grandes prejuízos econômicos. Os produtos lácteos, pela própria matéria-prima que utilizam e alto teor de umidade nos locais de produção, são particularmente suscetíveis a essa contaminação (PERRY, 2004). Dentre esses alimentos, merecem destaque os queijos, elaborados com leite cru e até mesmo com leite pasteurizado, pelo fato de serem produtos muito manipulados e também ricos em nutrientes, o que facilita a multiplicação microbiana, podendo levar à transmissão de microrganismos patogênicos.

A viabilidade de microrganismos no queijo é determinada por parâmetros extrínsecos e intrínsecos. Os últimos incluem teor de umidade, concentração de sal e atividade de água; pH e acidez; teor de nutrientes; potencial de redução de oxidação; presença de compostos antimicrobianos, sejam eles naturais ou adicionados como conservantes de alimentos, por exemplo, NO_3; e a presença da microbiota competitiva. Os parâmetros extrínsecos incluem fatores como tipo de embalagem e sua atmosfera, tempo e temperatura de armazenamento, etapas de processamento, histórico do produto e uso tradicional. A interação desses fatores determina o potencial de viabilidade e multiplicação microbiana em queijos (D'AMICO; DONNELLY, 2017).

Interação microbiana

As culturas iniciadoras podem ser definidas como isolados que produzem ácido suficiente para reduzir o pH do leite para próximo de 5,0 em um espaço de tempo entre 5 e 20 horas, dependendo da variedade do queijo a ser fabricado. Essas bactérias são adicionadas no início da fabricação como culturas puras ou no formato de soro-fermento ou ainda podem ser contaminantes naturais do leite, como é o caso de muitas variedades de queijos artesanais de leite cru. Elas crescem durante a fabricação e normalmente atingem densidades de 10^8 UFC/g dentro das primeiras horas da fabricação. As culturas iniciadoras podem ser mesofílicas ou termofílicas, dependendo do queijo a ser fabricado; culturas mesófilas são usadas na produção de Cheddar, Gouda, Edam, Blue e Camembert, enquanto culturas termofílicas são usados na produção de queijos duros preparados em alta temperatura (50-55 °C), como Emmental, Gruyere, Parmesão e Grana. Bactérias iniciadoras encontradas mais frequentemente são membros dos gêneros *Lactococcus, Lactobacillus, Streptococcus, Leuconostoc* e *Enterococcus* (PERRY, 2004; PAULA *et al*., 2009).

As culturas mesofílicas e termofílicas podem ser subdivididas em culturas mistas (indefinidas) nas quais o número de cepas é desconhecido, e culturas definidas, que são compostas por um número conhecido de cepas. Culturas mesófilas indefinidas ou de cepas mistas são principalmente compostas por *L. lactis* ssp. *cremoris* e *L. lactis* ssp. *lactis*, que pode incluir cepas de metabolização de citrato, para produção de sabor (BERESFORD *et al*., 2001; PERRY, 2004; PAULA *et al*., 2009).

Os iniciadores termofílicos são compostos por cepas únicas ou múltiplas de *S. thermophilus* e lactobacilos termofílicos, *como Lb. delbrueckii* ssp.

delbrueckii, *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lb. delbrueckii* ssp. *lactis* ou *Lb. helveticus.* Culturas termofílicas indefinidas ou mistas são usadas em pequena escala de produção de queijos Gruyere, Emmental e Grana da França, Suíça e Itália. Essas culturas são geralmente produzidas, a partir da incubação a 40 – 45°C do soro da produção do dia anterior (BERESFORD *et al*., 2001; PAULA *et al*., 2009).

Durante a maturação ocorre uma série de reações bioquímicas, incluindo o metabolismo residual da lactose por bactérias do ácido lático (BAL) presentes na massa do queijo. As BAL são essenciais para a segurança do queijo, sintetizando muitos compostos antimicrobianos, incluindo ácidos orgânicos, como o ácido lático, que podem inibir o crescimento de bactérias patogênicas, levando à morte e lise celular, contribuindo para a obtenção da estabilidade microbiológica no queijo e desenvolvendo as características típicas do queijo curado (JESUS *et al*., 2020).

Além da produção de ácido no queijo, a cultura primária desempenha diferentes funções, principalmente com relação ao abaixamento do potencial redox que passa de +250 mV no leite, para -150 mV no queijo. Essa modificação é essencial para o desenvolvimento bioquímico da maturação (PAULA *et al*., 2009). As BAL também contribuem para a maturação do queijo, quando suas enzimas são envolvidas na proteólise e conversão de aminoácidos em compostos de sabor (PERRY, 2004).

Durante a maturação, os organismos iniciadores dominam a microbiota do queijo, mas a maioria morre e sofrem a lise de forma relativamente rápida. Em alguns tipos de queijos, quando a adição de sal é baixa durante as primeiras semanas de maturação, a lise das BAL é mais lenta (FOX *et al*., 2017).

A lise de bactérias é definida como um fenômeno de ruptura celular espontâneo, devido à hidrólise da cadeia de peptideoglicano por enzimas localizadas na parede celular, chamadas autolisinas ou devido à atividade hidrolítica de enzima codificada por um profago denominada endolisina, encontrada em bactérias lisogênicas. Em geral, esse fenômeno ocorre espontaneamente após a fase estacionária e já foi observado em várias espécies. As células perdem a sua integridade e liberam o seu conteúdo citoplasmático, como enzimas metabólicas, enzimas proteolíticas, como as peptidases (SABOYA, 2002).

Como a autólise é uma reação enzimática, sua taxa e extensão dependem de parâmetros físicos e bioquímicos, tais como pH, temperatura e força iônica. Por ser um fenômeno celular intrínseco, outros dois fatores podem influenciar a taxa e extensão da autólise: (1) a característica genética da linhagem e (2) o estado fisiológico da célula. Queijo fabricado com cultura *starter* de lise rápida irá maturar mais rapidamente e, geralmente possuem melhores sabor do que o fabricado com uma cepa de lise lenta (Fox *et al*., 2017). (SABOYA, 2002; FOX *et al*., 2017).

Várias espécies de BAL são capazes de produzir bacteriocinas que controlam o cresci-mento de outras bactérias contaminantes e com isso exercem uma proteção muito eficiente durante e após a fabricação dos queijos. Ao longo dos anos, uma maior atenção foi dada ao efeito antagonista frente a patógenos de compostos antimicrobianos produzidos pela microbiota natural presente no leite e seus derivados. As bacteriocinas nisina e lacticina 481 produzidas por cepas de *Lactococcus* são as mais abundantes entre isolados selvagens de BAL (PELAEZ; REQUENA, 2005; PAULA *et al*., 2009).

A nisina é produzida por algumas cepas de *Lactococcus lactis,* é um lantibiótico (contém aminoácidos, meso-lantionina e 3-metilantionina). O composto é eficaz contra bactérias Gram-positivas, principalmente formadora de esporos, e ineficaz contra fungos e bactérias Gram-negativas. O alvo da célula para esses agentes é a membrana citoplasmática, onde eles despolarizam membra-nas bacterianas energizadas e formam poros multiestados dependente de voltagem. O resultado da formação de um poro é a perda de aminoácidos acumulados e a inibição do transporte de aminoácidos. Ao contrário dos antibióticos, as bacteriocinas geralmente inibem apenas espécies intimamente relacionadas, que consistem em pequenas proteínas, e a maioria é mediada por plasmídeo (PREETHA; NARAYANAN, 2020).

Um estudo, utilizando diferentes cepas de BAL (*Weissella paramesenteroides* GIR16L4 ou

Lactobacillus rhamnosus D1 ou ambas) como culturas iniciadoras, verificou a inibição de *S. aureus* em queijos produzidos experimentalmente e avaliou a viabilidade das cepas de *S. aureus* e a expressão de suas enterotoxinas. Ao longo de sete dias, observou-se que a presença de BAL não prejudicou a multiplicação de *S. aureus,* no entanto, foi observado, via qPCR, uma mudança na expressão gênica de enterotoxinas estafilocócicas, sugerindo que existe comunicação molecular entre *S. aureus* e bactérias do ácido láctico no queijo (SILVA *et al*., 2020).

Outro estudo mostrou atividade inibitória de BAL contra *Mycobacterium bovis*, o agente causador da tuberculose e que pode estar presente em leite cru e seus derivados. Avaliou-se a atividade antagônica *in vitro* das BAL, isoladas de queijo Minas artesanal contra *M. bovis bacillus* Calmette-Guerin (BCG). Nove cepas de BAL foram testadas contra *M. bovis* BCG em cinco ensaios antagonistas *in vitro* e quatro lactobacilos foram capazes de inibir ou suprimir completamente a multiplicação de *M. bovis* BCG em todos os experimentos. Embora o principal mecanismo de inibição não tenha sido elucidado, o pH desempenhou um papel importante, mas a presença de bacteriocinas também pode ser considerada, especialmente nos ensaios onde o valor de pH permaneceu próximo ao neutro (OLIVEIRA *et al*., 2018).

Aplicações menos conhecidas de bacteriocinas são o controle de microrganismos deteriorantes acidentais e seu uso como agentes indutores de lise celular para aumentar a proteólise e a formação do sabor no queijo. O uso de bacteriocinas para induzir a lise de BAL é uma diferente abordagem para acelerar a maturação do queijo e controle do desenvolvimento do sabor (PELAEZ; REQUENA, 2005).

Durante a maturação ocorre o crescimento de uma microbiota adventícia ('Bactérias de ácido lático não iniciadoras', principalmente lactobacilos heterofermentativos) e, em muitas variedades de queijo, uma cultura ou fermento secundário é adicionado, com o objetivo de obtenção de alguma característica particular desejável para a categoria do queijo a ser produzido. O desenvolvimento de uma microbiota secundária, por exemplo, *Propionibacterium freudenreichii* no queijo suíço produz gás provocando o aparecimento de olhaduras características, fungos em variedades de queijos como Gorgonzola, Camembert e Brie e uma complexa microbiota bacteriana Gram-positiva em queijos maturados (PAULA *et al*., 2009). Essas culturas bacterianas são as principais contribuintes para o desenvolvimento do sabor do queijo durante o processo de maturação (KHATTAB *et al.* 2019).

pH e ácidos orgânicos

O pH ideal para a multiplicação da maioria das bactérias é quase neutro e o desenvolvimento é frequentemente baixo em valores de pH < 5,0. Devido ao acúmulo de ácidos orgânicos, a massa de queijo após a fabricação apresenta valores baixos de pH que varia entre 4,5 e 5,3, os quais não permitem a sobrevivência de espécies sensíveis ao ácido. Portanto, o pH é um fator significativo no controle da viabilidade e multiplicação bacteriana no queijo (HAYALOGLU, 2016). A proteólise também causa a redução do pH e aumento da acidez do queijo, pela formação de grupos iônicos (JESUS *et al*., 2020).

A eficácia dos ácidos orgânicos como inibidores do crescimento microbiano depende da quantidade de ácido não dissociado presente e, portanto, da constante de dissociação (pKa) e do pH. Os principais ácidos encontrados no queijo são propiônico, acético e lático, e estes têm valores de pKa de 4,87, 4,75 e 3,08, respectivamente, de modo que na mesma concentração o ácido lático é o menos inibidor e o propiônico o mais eficaz. No entanto, a concentração do ácido também é importante e, no queijo, o lactato está invariavelmente presente na coalhada em concentrações muito maiores do que as dos outros dois ácidos. O pH de muitos queijos macios aumenta caracteristicamente durante a maturação, particularmente na superfície, e isso reduzirá as propriedades inibitórias da superfície. O ácido propiônico é muito eficaz na inibição do crescimento de fungos (HAYALOGLU, 2016).

Em geral, os patógenos não se multiplicam ou se desenvolvem lentamente, em valores de pH abaixo de 4,6; mas são poucas exceções. Muitos patógenos podem sobreviver em alimentos em valores de pH abaixo de seu crescimento mínimo. Normalmente, pH pode interagir com outros parâmetros no alimento, tais como Aw, sal, tem-peratura, potencial redox e conservantes, para inibir o crescimento de microrganismos pato-gênicos e outros organismos (PREETHA; NARAYANAN, 2020).

Potencial Redox

O potencial redox ou oxidação - redução (Eh) é uma medida da capacidade de um sistema químico/bioquímico para oxidar (perder elétrons) ou reduzir (ganhar elétrons). O Eh é geralmente medido com o auxílio de um eletrodo de platina acoplado a um eletrodo de referência de calo-melano e é expresso em mV. Também pode ser estimado usando corantes indicadores que mudam de cor em diferentes potenciais redox. Um valor positivo indica um estado oxidado enquanto um valor negativo indica um estado reduzido (PREETHA; NARAYANAN, 2020).

O Eh do leite é cerca de +150 mV, enquanto o do queijo é de cerca de -250 mV. A redução no Eh do queijo está diretamente relacionada à fermentação da lactose para ácido lático pelas culturas iniciadoras e a redução de pequenas quantidades de oxigênio no leite para água. O mecanismo exato pelo qual o Eh é reduzido não é claro, mas provavelmente está ligado à redução da pequena quantidade de O_2 no leite para H_2O (ou H_2O_2 e depois para H_2O) e a redução de NAD^+ para NADH (BERESFORD *et al*., 2001; HAYALOGLU, 2016).

A multiplicação de microrganismos aeróbicos leva à redução do valor Eh dos alimentos porque eles consomem oxigênio e produzem produtos de redução metabólica, como o sulfeto de hidrogênio e dióxido de carbono. Quando o Eh do alimento atinge valores negativos devido à multiplicação de microrganismos aeróbios, inicia-se então o crescimento de anaeróbios presentes. A taxa em que o valor Eh de um alimento muda devido ao crescimento microbiano depende de sua capacidade de tamponamento redox, ou seja, sua resistência a mudança no potencial redox. A capacidade de tampão, por sua vez, é determinada pela concentração e a proporção em que os compostos oxidantes e redutores estão presentes no alimento (PREETHA; NARAYANAN, 2020).

Como consequência destas reações, o interior do queijo é essencialmente um sistema anaeróbio, que só pode suportar o crescimento de microrganismos anaeróbicos facultativos ou obrigatórios. Com a multiplicação de diferentes culturas bacterianas, o Eh pode variar de cerca de +300 mV para aeróbios a -400 mV para anaeróbios. O Eh é um dos principais fatores na determinação dos tipos de microrganismos que se multiplicam no queijo, e as bactérias que se desenvolvem na superfície do queijo são predominantemente aeróbias obrigatórias (BERESFORD *et al*., 2001; FOX *et al*., 2017).

Atividade de água

Todos os microrganismos requerem água para o crescimento e uma das maneiras mais eficazes de controlar seu crescimento é reduzir a água disponível através da desidratação ou adição de algum componente solúvel em água, como açúcar ou sal. Um aumento no teor de umidade do queijo aumenta a suscetibilidade à deterioração (BERESFORD *et al.*, 2001).

O conceito de atividade de água (Aw), desenvolvido por Scott em 1957, forneceu uma base para uma compreensão crescente de relações microrganismo/água nos alimentos. A Aw é diretamente proporcional ao teor de umidade do queijo e inversamente à concentração de NaCl e outros compostos de baixo peso molecular. A Aw é um conceito termodinâmico definido como a razão entre a pressão de vapor da água presente em um sistema (p) e aquele de água pura (p0) na mesma temperatura (PREETHA; NARAYANAN, 2020).

$$Aw = p/p0$$

Durante os primeiros estágios da fabricação de queijo, a Aw é de cerca de 0,99, ideal para o crescimento e a atividade da cultura iniciante. Após a

drenagem do soro de leite, salga e durante a maturação, os níveis de Aw (0,917 - 0,988) são significativamente menores (BERESFORD *et al*., 2001).

A maioria das bactérias, incluindo as patogênicas, requer uma Aw mínima de 0,92 para multiplicação. As leveduras se multiplicam em valores mais baixos de Aw do que bactérias e os fungos filamentosos em um valor ainda mais baixo. O limite para a maioria das leveduras é ≈ 0,83, mas levedura osmofílica cresce a valores Aw < 0,60, enquanto os bolores têm um menor limite de Aw de ≈ 0,75. O crescimento de microrganismos em baixa Aw é caracterizado por um longo período da fase lag, uma taxa lenta de crescimento (ou seja, longo tempo de geração) e uma redução no número máximo de células produzidas (HAYALOGLU, 2016; PREETHA; NARAYANAN, 2020).

A redução da umidade ocorre durante o processo de fabricação de todos os queijos; quanto menor a umidade, mais duro é o queijo, e maior o tempo de conservação da sua qualidade. O queijo, a menos que seja embalado a vácuo, perde umidade por evaporação durante a maturação. As proteínas no queijo são hidratadas e esta água "ligada" não está disponível para crescimento bacteriano. A hidrólise de cada peptídeo ou ligação éster requer uma molécula de água. Uma vez que ocorre proteólise significativa em queijo, o nível de água livre diminuirá durante a maturação. Quaisquer componentes dissolvidos na umidade do queijo, por exemplo, aminoácidos, peptídeos, ácidos graxos de cadeia curta, sal e ácidos orgânicos (lactato, acetato e propionato) reduzem sua pressão de vapor e, portanto, sua Aw. Destes, os mais importantes na prática são o sal e o lactato (HAYALOGLU, 2016).

O controle da perda de umidade do queijo é realizado pelo aumento da umidade relativa na sala de maturação ou embalando-se o queijo em cera ou plástico. Pode haver variação nos valores de Aw em diferentes locais no queijo; para queijos duro e semiduro maturados em salmoura os valores de Aw são geralmente mais altos no centro; nos casos de queijo cheddar, que é salgado a seco na massa e embalado a vácuo, nenhuma perda de umidade e nenhuma mudança na Aw ocorre, uma vez que o sal é uniformemente distribuído no queijo (BERESFORD *et al*., 2001).

Concentração de sal

Além da influência direta no sabor do queijo, a salga desempenha outros papéis importantes durante os processos de fabricação e maturação. Para a maioria dos queijos, a adição de sal promove a expulsão do soro e auxilia na formação de crosta superficial, permitindo o surgimento das características desejadas. O teor de sal no queijo também é crítico do ponto de vista microbiológico, pois a adição de sal restringe a multiplicação de bactérias indesejadas na cura da coalhada, além de contribuir para o controle da sobrevivência e o metabolismo de bactérias desejáveis, como as BAL, bem como organismos secundários que possam crescer e criar sabores alterados durante o armazenamento prolongado (McMAHON *et al*., 2014).

Os métodos mais comuns de salga no queijo são: no leite, na massa, em salmoura e a seco. Nos queijos salgados em salmoura, a concentração de sal é influenciada diretamente pelo tamanho do queijo, pela concentração de sal e temperatura da salmoura, além do período de tempo em que são imersos. A salmoura normalmente usada contém ≈ 20% NaCl, pH de ≈5,2 (ajustado com ácido lático) e um conteúdo de Ca^{+2} de 0,2% (ajustado com $CaCl_2$). O pH e a concentração de Ca^{+2} na salmoura simulam os níveis no queijo, prevenindo, dessa maneira, o efluxo de lactato e Ca^{+2} (PERRY, 2004; PAULA *et al*., 2009; FOX *et al*., 2017).

Na salga a seco, quando o sal é distribuído nas superfícies dos pedaços da coalhada, parte do sal se dissolve na umidade da superfície, criando uma salmoura altamente concentrada. O sal (NaCl) dessa camada de salmoura concentrada se difunde nos pedaços da coalhada, iniciando um contrafluxo de umidade (soro) da coalhada para a superfície. Conforme a umidade atinge a superfície, ela aumenta o volume de salmoura, mas simultaneamente a dilui. À medida que a quantidade de salmoura aumenta, parte dela é drenada ou permanece na superfície da coalhada até ser fisicamente expelida durante a prensagem subsequente (GUINEE, 2004; Fox *et al*., 2017).

O uso de NaCl para prevenir a deterioração microbiana dos alimentos é provavelmente tão an-

tigo quanto a produção dos alimentos. A concentração necessária depende da natureza do alimento, seu pH e teor de umidade, mas, geralmente, menos de 10% é suficiente. O sal e Aw estão muito inter-relacionados e a inibição de bactérias ocorre principalmente pelo efeito do sal na redução de Aw. Um valor de Aw < 0,92, necessário para prevenir o crescimento bacteriano, é equivalente a uma concentração de sal de ≈ 12%. No queijo, a concentração de sal varia de 0,7 a 7%. O tipo de íon também é importante, por exemplo, Na^+ é um inibidor muito mais eficaz do que K^+. A concentração de sal dissolvido é que determina o efeito inibitório do sal, e não a concentração real de sal adicionado por salga a seco ou na salmoura do queijo (BERESFORD *et al*., 2001; FOX *et al*., 2017).

O sal é um dos principais determinantes da atividade da água e, portanto, exerce controle sobre o crescimento microbiano, limitando a fermentação do ácido láctico após um pico ideal alcançado e suprimindo o crescimento de microrganismos deteriorantes. O NaCl também cria mudanças físicas nas proteínas, que influenciam na atividade enzimática e consequente alterações bioquímicas durante a maturação do queijo e o desenvolvimento simultâneo do sabor e aroma desejados. O sal, juntamente com o pH e o nível de cálcio, tem um grande efeito na extensão da hidratação da paracaseína, ou agregação, que por sua vez afeta a capacidade de ligação de água da matriz de caseína, sua tendência à sinérese, suas características reológicas, que influenciam na textura do queijo (GUINEE, 2004; PAULA *et al*., 2009; D'AMICO; DONNELLY, 2017).

Adição de nitrato

Nitrato (NO_3) é adicionado ao leite, como salitre nitrato de potássio (KNO_3) ou nitrato de sódio ($NaNO_3$), para a produção de alguns queijos especialmente nas variedades de tipo holandês, como Edam e Gouda, para impedir a produção de gás tardio devido a multiplicação de *Clostridium tyrobutyricum*. Este microrganismo fermenta o lactato em butirato, H_2 e CO_2. O H_2 e o CO_2 são responsáveis pelas olhaduras presentes no queijo, enquanto o butirato é responsável pela formação de sabor desagradável. Nestes queijos, a taxa de migração de NaCl é relativamente lenta e a equalização da concentração do sal em todo o queijo pode levar várias semanas. Além disso, o teor de umidade é alto. Portanto, a inibição do crescimento de microrganismos deteriorantes como *C. tyrobutyricum* é necessário antes de alcançar o equilíbrio de sal, e o nitrato cumpre essa função (BERESFORD *et al*., 2001, PERRY, 2004; HAYALOGLU, 2016; FOX *et al*., 2017).

Durante a precipitação, o nitrato é reduzido a nitrito (NO_2), o verdadeiro inibidor, pela xantina oxidase presente no leite ou na massa coagulada. O nitrito não afeta o crescimento das bactérias produtoras de ácido lático, mas inibem bactérias propiônicas essenciais para a formação de olhaduras em queijo Emmental e, portanto, não é adequado para o controle de *C. tyrobutyricum* em queijo onde o crescimento dessas bactérias é necessário. Como o NO_2 atua na prevenção do crescimento microbiano não está claro. O nitrito pode reagir com aminoácidos aromáticos no queijo e produzir nitrosaminas, muitas dos quais são cancerígenas. A reação é dependente do pH, ocorrendo de preferência inicialmente na faixa de 2 - 4,5. Os queijos têm um pH mais alto e isso retarda essa reação. Quando o queijo está pronto para o consumo, os níveis de nitrito são geralmente bem abaixo do permitido (BERESFORD *et al*., 2001; HAYALOGLU, 2016; FOX *et al*., 2017).

Temperatura de fabricação e maturação

Geralmente, a temperatura ótima para a multiplicação de bactérias é de ≈ 35°C para mesófilas e ≈ 55°C para termófilas. No entanto, os iniciadores termofílicos têm uma temperatura ótima de ≈ 42°C e em temperaturas abaixo do ideal, a multiplicação é retardada (FOX *et al*., 2017).

A temperatura de cozimento varia para diferentes tipos de queijos e o tempo em que a temperatura é mantida em valores mais altos afetará a sobrevivência de diferentes microrganismos. A massa do queijo Emmental é aquecida a 54°C durante a fabricação e a temperatura é mantida acima de 40°C por um tempo considerável, enquanto a massa do Cheddar é cozida a 39°C e queijos de pasta mole são mantidos a ≈ 35°C. Outros queijos cozidos em altas

temperaturas incluem Comte, Parmigiano, Reggiano e Grana. Pouca produção de ácido ocorre em temperatura máxima de cozimento a 54°C mas os iniciadores termofílicos resistem à temperatura e começam a produzir ácido quando a temperatura cai abaixo de 48°C. O queijo Emmental tradicional é feito de leite cru e por causa da temperatura relativamente alta de maturação deste queijo (18-24°C por várias semanas para promover a multiplicação de bactérias de ácido propiônico), deve ser dada atenção à qualidade microbiana do leite utilizado (FOX *et al*., 2017).

A temperatura de maturação do queijo também é importante e é influenciada por duas forças opostas. Por um lado, a necessidade de controlar a multiplicação de bactérias com potencial de deterioração e bactérias patogênicas e, por outro lado, a necessidade de promover as reações de maturação e a multiplicação da microbiota secundária. O aumento da temperatura de maturação é provavelmente a forma mais simples e econômica de acelerar este processo em queijos. Temperaturas mais altas promovem uma maturação mais rápida pelos microrganismos iniciadores e não iniciadores, mas também permitem a proliferação de microrganismos deteriorantes e patogênicos (HAYALOGLU, 2016; FOX *et al*., 2017).

Estudos mostram que o processo de maturação de queijos é mais eficiente com emprego de temperatura ambiente do que em temperatura de refrigeração (DORES *et al*., 2013; MARTINS *et al*., 2015). Quanto maior a temperatura de maturação, maior a perda de umidade no queijo levando a uma diminuição de Aw e aumento da concentração de sólidos, o que aumenta o conteúdo de cloreto (DORES *et al*., 2013).

Produção de queijos Minas artesanais

Desde maio de 2008, o "modo de fazer" do queijo Minas artesanal foi considerado patrimônio cultural pelo Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional – IPHAN (IPHAN, 2014). Entende-se por queijo Minas artesanal, o queijo que apresente consistência firme, cor e sabor próprios, massa uniforme, isenta de corantes e conservantes, com ou sem olhaduras mecânicas, confeccionado a partir do leite integral de vaca fresco e cru, retirado e beneficiado na propriedade de origem (MINAS GERAIS, 2011).

O queijo Minas artesanal é um produto tipicamente mineiro que vem ganhando importância crescente no Brasil. Sua principal característica está relacionada aos atributos sensoriais do produto que são conferidos pelos microrganismos originais que fazem parte da microbiota natural do leite e promovem diferentes características de sabor, textura e aroma no queijo. A microbiota presente nos queijos varia de acordo com o clima, a alimentação do rebanho e a forma de processamento do produto e, consequentemente, a peculiaridade de cada um dos queijos artesanais de Minas (MONTEIRO *et al*., 2018; PENNA *et al*., 2021).

Embora a qualidade microbiológica dos queijos artesanais não dependa exclusivamente da pasteurização do leite, esta é, sem dúvida, a principal controvérsia em torno da segurança desses produtos. A pasteurização garante a segurança dos queijos porque elimina (ou reduz significativamente) todas as bactérias potencialmente patogénicas que possam estar presentes no leite cru. Por outro lado, reduz significativamente a presença de microrganismos naturais presentes no leite (microbiota benéfica), que estão associados às características e sabor típicos dos queijos artesanais elaborados com leite cru, o qual também pode ser considerado uma fonte de microrganismos benéficos (PENNA *et al*., 2021).

A adição de culturas láticas naturais, como o pingo ou soro-fermento é obrigatória para elaboração do queijo Minas artesanal de propriedades cadastradas pelo IMA (MINAS GERAIS, 2018). O pingo é oriundo da dessora do queijo produzido no lote do dia anterior, assim, se constitui no produto resultante da ação de microbiotas diversificadas em interação com constituintes do soro lácteo. Alguns produtores incrementam o pingo com sal para inibir o crescimento de microrganismos indesejáveis, evitando, por exemplo, o estufamento precoce dos queijos. A utilização do pingo é voltada para promover a maturação do queijo de forma a lhe garantir melhor qualidade sensorial e, até mesmo, microbiológica, pois tem-se no pingo a expectativa de inocular bactérias desejáveis e que forneçam uma microbiota desejável (FIGUEIREDO, 2018).

Pelo uso de leite cru para a preparação do queijo, a legislação estadual, assim como a legislação federal, exige a obrigatoriedade da utilização da etapa de maturação, que tem seu tempo definido após pesquisas técnico-científicas comprovarem a eficácia num período inferior a 60 (sessenta) dias, sem prejuízo da qualidade e inocuidade dos produtos (MINAS GERAIS, 2013; BRASIL, 2017).

A legislação sobre o tempo de maturação do queijo Minas artesanal já foi bastante controversa. Em 1952, no antigo RIISPOA (Decreto 30.691, de 29/03/1952), a legislação federal previa o uso do leite cru para a produção de queijo Minas (Art. 928), com a exigência inicial de no mínimo oito dias de maturação, que foi alterada para um mínimo de dez dias, em 1962, pelo Decreto nº 1.255 (BRASIL, 1962). Mas, em 1996, a Portaria 146 (BRASIL, 1996), que regulamenta a identidade e qualidade dos produtos lácteos, indicou maturação de queijo produzido com leite cru a uma temperatura superior aos 5ºC, durante um tempo não inferior a 60 dias. Esse regulamento foi confirmado pela Resolução 07, de 28 de novembro de 2000 (BRASIL, 2001), que estabeleceu os requisitos específicos de instalações e de funcionamento das Queijarias, da higiene de produção do queijo Minas do Serro (média umidade), Queijo Minas Araxá, e do Queijo Minas Canastra (baixa umidade). Somente em 2011, que o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento publicou a Instrução Normativa n° 57 (BRASIL, 2011), permitindo que os queijos artesanais tradicionalmente elaborados a partir de leite cru sejam maturados por um período inferior a 60 (sessenta) dias, quando estudos técnico-científicos comprovarem que a redução do período de maturação não compromete a qualidade e a inocuidade do produto (FERREIRA, 2013).

Após essa determinação, diversos estudos foram realizados para observar o tempo mínimo de maturação nas diferentes regiões de Minas. MARTINS *et al*. (2015), em estudo com queijo Minas de oito produtores da região do Serro em Minas Gerais, Brasil, concluíram que os efeitos da maturação à temperatura ambiente em relação aos parâmetros físico-químicos do queijo influenciaram diretamente o comportamento microbiano, causando uma redução na contagem de contaminantes. Assim, em temperatura ambiente, 17 dias foi o tempo mínimo de maturação para que os queijos cheguem aos padrões microbiológicos exigidos por lei. Por sua vez, os queijos maturados sob refrigeração só atingiu tais padrões em 33 dias para queijos produzidos na estação seca e 63 dias para os produzidos na estação chuvosa.

O queijo Canastra é tradicionalmente consumido após diferentes períodos de maturação, sendo priorizados pelos consumidores os queijos com menos de oito dias de fabricação. Um estudo do tempo de maturação do queijo em temperatura ambiente e sob refrigeração em dois períodos do ano (chuvoso e seco), avaliando-se a modulação de variáveis físico-químicas e microbiológicas, com ênfase na microbiota patogênica regulamentada por lei, foi realizado. A maturação em temperatura ambiente foi decisiva para redução da microbiota patogênica para níveis permitidos em 22 dias, nos dois períodos analisados, ao passo que, sob refrigeração, os níveis de *Staphylococcus aureus* (espécie limitante) permitidos somente seriam atingidos após 64 dias. E nenhuma mudança nos valores de Aw em queijos mantidos sob refrigeração durante a maturação foi verificada (DORES *et al*., 2013).

Em queijo Minas artesanal da região de Araxá, produzido e maturado por até 57 dias, durante a época chuvosa e seca, foi concluído que a maturação por pelo menos 14 dias foi eficiente para reduzir a contagem de todos os microrganismos estudados. A maturação influenciou ($p < 0,05$) os teores percentuais de umidade, proteína, gordura, gordura no extrato seco e extrato seco total, bem como pH e acidez titulável, independentemente da época de produção. Além disso, foi observado que o uso de matérias-primas de boa qualidade, o controle sanitário dos rebanhos e a adoção de boas práticas de produção são extremamente importantes para a obtenção de um queijo adequado ao consumo (SALES, 2015).

A maturação do queijo Minas artesanal é um fenômeno complexo, que envolve reações bioquímicas decorrentes da interação dos microrganismos presentes e transformações físico-químicas consequentes desta atividade microbiana e da ação

climática sobre os queijos. Assim, a maturação tende a reduzir a umidade, a atividade de água e aumentar a acidez dos queijos. Este fenômeno resulta ainda na liberação de aminoácidos, aminas, ácidos graxos e demais produtos decorrentes da proteólise e da lipólise, além de contribuir para a redução de grupos microbianos patogênicos, controlando assim, riscos referentes ao consumo deste tipo de alimento, e enriquecendo o sabor deste queijo. No entanto, a maturação não pode ser colocada como etapa para garantir eliminação de patógenos, unicamente, devendo ser precedida por controle de zoonoses do rebanho leiteiro, boas práticas agropecuárias, ordenha higiênica e boas práticas de fabricação dos queijos (FIGUEIREDO, 2018).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O processo de maturação do queijo é uma etapa importante para o controle de microrganismos patogênicos e prevenção de crescimento de microrganismos deteriorantes, além de gerar sabor e aromas característicos.

A maturação é um fenômeno complexo, que envolve reações bioquímicas decorrentes da interação de microrganismos com o queijo e transformações físico-químicas consequentes desta atividade microbiana e da ação climática sobre os queijos. No caso do queijo Minas artesanal, estudos identificam que a maturação em temperatura ambiente é bem mais eficiente para inibir microrganismos indesejáveis do que a maturação sob refrigeração.

A estabilidade microbiana do queijo é alcançada pela utilização de uma combinação de barreiras que são importantes nas diferentes etapas do processo de maturação, levando a um produto final adequado ao consumo. Os fatores que controlam o crescimento de microrganismos no queijo incluem: concentração de sal, potencial de redução de oxidação, pH, a presença de NO_3, temperatura de maturação e a produção de bacteriocinas por algumas cepas iniciais e, finalmente, a redução da umidade e da atividade de água.

REFERÊNCIAS

D'AMICO, D. J.; DONNELLY, C. W. Growth and Survival of Microbial Pathogens in Cheese. *In*: McSWEENEY, P. L. H. *et al.* **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology**. New York: Elsevier. 2017. cap. 22, p. 573-594.

BERESFORD, T. P. *et al* **Recent advances in cheese microbiology**. International Dairy Journal, v. 11, n. 4-7, p. 259-274, 2001. DOI: 10.1016/S0958-6946(01)00056-5

BRASIL. Decreto nº 1.255, de 25 de junho de 1962. Altera o Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952, que aprovou o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, col. 3, p. 7238, 04 jul. 1962.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria N° 146, de 07 de março de 1996. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. 1996. **Diário Oficial da União:** seção 1, Brasília, DF, n. 48, p. 3977, 11 mar. 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Resolução nº 7, de 28 de novembro de 2000. Oficializa os critérios de funcionamento e de controle da produção de queijarias, para seu relacionamento junto ao Serviço de Inspeção Federal. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**: seção 1, Brasília, DF, n. 1, p. 22, 2 jan. 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 57, de 15 de dezembro de 2011. Permite que os queijos artesanais tradicionalmente elaborados a partir de leite cru sejam maturados por um período inferior a 60 (sessenta) dias e estabelece critérios. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 241, p. 23, 16 dez 2011.

BRASIL. Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017. Regulamenta a Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 62, p. 3, 30 mar. 2017.

DORES, M. T.; NOBREGA, J. E.; FERREIRA, C. L. L. F. Room temperature aging to guarantee microbiological safety of brazilian artisan Canastra cheese. **Food Science and Technology**, v. 33, n. 1, p. 180-185, 2013. DOI: 10.1590/S0101-20612013005000003

FERREIRA, R. G. P. As leis do queijo. **Ciência do Leite**. 2013. Disponível em: https://cienciadoleite.com.br/noticia/3147/as-leis-do-queijo#. Acesso em: 17 fev. 2022.

FIGUEIREDO, R. C. **Perfil socioeconômico de agricultores familiares e caracterização de queijo Minas artesanal de Serra do Salitre (MG) em diferentes períodos de maturação e épocas do ano.** 2018. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2018. 118p.

FOX, P. F. *et al*. **Fundamentals of Cheese Science**. Second edition. New York: Springer, 2017. 803 p.

GUINEE, T. P. Salting and the role of salt in cheese. **International Journal of Dairy Technology**. v. 57, n. 2-3, p. 99-109, 2004. DOI: 10.1111/j.1471-0307.2004. 00145.x

HAYALOGLU, A. A. **Cheese: Microbiology of Cheese**. Malatya: Elsevier Reference Module in Food Science. 2016.

IPHAN. Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional. **Modo artesanal de fazer queijo de Minas**: Serro, Serra da Canastra e Serra do Salitre (Alto Paranaíba). Brasília, DF: IPHAN, 2014. 140p.

JESUS, J. C. *et al.* Quick identification of the time of maturation of artisanal minas cheese by FTIR-ATR spectroscopy and multivariate techniques. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, n. 10, p. 2000-2011, 2020. DOI: 10.21577/0103-5053.20200100

KHATTAB, A. *et al.* Cheese ripening: A review on modern technologies towards flavor enhancement, process acceleration and improved quality assessment. **Trends in Food Science & Technology**, v. 88, p. 343-360, 2019. DOI: 10.1016/j.tifs.2019.03.009

MARTINS, J.M. *et al*. 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. DOI: 10.1590/S1517-838246120131003

MCMAHON, D. J. *et al*. Effect of sodium, potassium, magnesium, and calcium salt cations on pH, proteolysis, organic acids, and microbial populations during storage of full-fat Cheddar cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 8, p. 4780-4798, 2014. DOI: 10.3168/jds.2014-8071

MINAS GERAIS. Assembleia Legislativa do Estado de Minas Gerais. Lei n° 19.492, de 13 de janeiro de 2011. Altera dispositivos da Lei nº 14.185, de 31 de janeiro de 2002, que dispõe sobre o processo de produção do Queijo Minas Artesanal e dá outras providências. **Diário do Executivo do Estado de Minas Gerais**: col 1, Belo Horizonte, MG, p. 4, 14 jan. 2011.

MINAS GERAIS. Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instituto Mineiro de Agropecuária. Portaria nº 1305, de 30 de abril de 2013. Estabelece diretrizes para a produção do queijo Minas artesanal. **Diário do Executivo do Estado de Minas Gerais**: caderno 1**,** Belo Horizonte, MG, p. 26, 01 maio 2013.

MINAS GERAIS. Lei Estadual nº 23.157, de 18 de dezembro de 2018. Dispõe sobre a produção e a comercialização dos queijos artesanais de Minas Gerais. **Minas Gerais Diário do Executivo**: col 1, Belo Horizonte, MG, p. 01, 19 dez 2018.

MONTEIRO, R. P. *et al.* **Queijo Minas Artesanal**: valorizando a agroindústria familiar. Brasília: Embrapa, Rio de Janeiro, 2018. 102p.

OLIVEIRA, L. G. *et al.* Lactic acid bacteria isolated from Brazilian Minas artisanal cheeses and their in vitro antagonisms against *Mycobacterium bovis* BCG. **International Journal of Dairy Technology**, v. 71, n. 4, p. 879-886, 2018. DOI: 10.1111/1471-0307.12540

PAULA, J.C. J; CARVALHO, A. F.; FURTADO, M. M. Princípios básicos de fabricação de queijo: do histórico à salga. **Revista Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 64, n. 367, p. 19-25, 2009.

PELAEZ, C.; REQUENA, T. Exploiting the potential of bacteria in the cheese ecosystem. **International Dairy Journal**, v. 15, n. 6-9, p. 831-844, 2005. DOI: 10.1016/j.idairyj.2004.12.001

PENNA, A. L. B.; GIGANTE, M. L.; TODOROV, S. D. Artisanal Brazilian Cheeses – History, Marketing, Technological and Microbiological Aspects. **Foods**, v. 10, n. 7, p. 1562, 2021. DOI: 10.3390/foods10071562

PERRY, K. S. P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**, v. 27, n. 2, p. 293-300, 2004. DOI: 10.1590/S0100-40422004000200020

PREETHA, S. S.; NARAYANAN, R. Factors Influencing the Development of Microbes in Food. **Shanlax International Journal of Arts, Science and Humanities**, v. 7, n. 3, p. 57-77, 2020. DOI: 10.34293/ sijash.v7i3.473

SABOYA, L. V. **Lise de Lactococcus sp. e proteólise em queijos fabricados com ultrafiltração e microfiltração**. 2002. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

SALES, G. **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.

SILVA, G. O. *et al.* Viability of *Staphylococcus aureus* and expression of its toxins (SEC and TSST-1) in cheeses using *Lactobacillus rhamnosus* D1 or *Weissella paramesenteroides* GIR16L4 or both as starter cultures. **Journal of Dairy Science**, v. 103, p. 4100-4108, 2020. DOI: 10.3168/jds.2018-16037