



**KÁTIA APARECIDA CAMPOS**

**QUEIJO MINAS ARTESANAL DO SERRO DE CASCA  
FLORIDA: MICROBIOTA E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-  
QUÍMICA**

**LAVRAS - MG  
2023**

**KÁTIA APARECIDA CAMPOS**

**QUEIJO MINAS ARTESANAL DO SERRO DE CASCA FLORIDA: MICROBIOTA E  
CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Micologia de Alimentos, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Luís Roberto Batista  
Orientador

Dra. Cristiane Gattini Sbampato  
Coorientador

**LAVRAS - MG  
2023**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Campos, Kátia Aparecida.

Queijo Minas Artesanal do Serro de Casca Florida: microbiota e  
caracterização físico-química / Kátia Aparecida Campos. - 2023.  
69 p. : il.

Orientador(a): Luís Roberto Batista.

Coorientador(a): Cristiane Gattini Sbampato.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de  
Lavras, 2023.

Bibliografia.

1. Fungos. 2. Maldi-Tof. 3. Queijo Minas Artesanal. I. Batista,  
Luís Roberto. II. Sbampato, Cristiane Gattini. III. Título.

**KÁTIA APARECIDA CAMPOS**

**QUEIJO MINAS ARTESANAL DO SERRO DE CASCA FLORIDA: MICROBIOTA E  
CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA**

**MINAS ARTISANAL CHEESE FROM SERRO FROM CASCA FLORIDA:  
MYCOBIOTA AND PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Micologia de Alimentos, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 13 de abril de 2023.  
Dr. Cleube Andrade Boari UFVJM  
Dr. Luiz Ronaldo de Abreu UFLA

Prof. Dr. Luís Roberto Batista  
Orientador

Dra. Cristiane Gattini Sbampato  
Coorientador

**LAVRAS - MG  
2023**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus que, em sua infinita bondade e amor de Pai, nos concede o dom da vida e nela as faculdades das quais necessitamos. Depois, agradeço à espiritualidade superior, por me inspirar os bons pensamentos a fim de cumprir essa tarefa edificante.

Agradeço à Universidade Federal de Lavras e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos alimentos, pela oportunidade e suporte na realização deste trabalho.

À FAPEMIG, pela concessão da bolsa de mestrado. À CAPES e ao CNPq.

Ao orientador Prof. Luís Roberto Batista, pela confiança.

À pesquisadora Fabiana Passamani, pela amizade e apoio que me prestou em todo o processo.

À Cristiane Gattini Sbampato, por sua coorientação, tolerância e por fazer sentir-me capaz.

Às técnicas de laboratório Creusa e Pâmela, que estão sempre prontas a ajudar.

Aos companheiros dessa jornada, Fernanda, Fabiana Lima, Thalissa, Miriam, Lucy e, em especial, Nádjla.

Aos meus pais Maria Auxiliadora (*in memorian*) e José Edimar, que me aceitaram como filha me abençoando sempre.

Às minhas irmãs queridas, Simone, Gisele e Vânia. Obrigada por serem meu apoio e minha luz em todos os momentos.

*“Não desanimes.  
Persiste mais um tanto.  
Não cultives pessimismo.  
Centraliza-te no bem a fazer.  
Esquece as sugestões do medo destrutivo.  
Segue adiante, mesmo varando a sombra dos próprios erros.  
Avança ainda que seja por entre lágrimas.  
Trabalha constantemente.  
Edifica sempre.  
Não consintas que o gelo do desencanto te entorpeça o coração.  
Não te impressiones nas dificuldades.  
Convence-te de que a vitória espiritual é construção para o dia a dia.  
Não desistas da paciência.  
Não creias em realizações sem esforço.  
Resguarda-te em Deus e persevera no trabalho que Deus te confiou.  
Ama sempre, fazendo pelos outros o melhor que possas realizar.  
Age auxiliando.  
Serve sem apego.  
E assim vencerás.”*

Autor: Emmanuel  
Psicografia de Chico Xavier

## RESUMO

O Queijo Minas Artesanal (QMA) está associado à cultura alimentar e às conformações sócio-históricas da região em que é produzido. Considerado patrimônio imaterial de Minas Gerais e do Brasil, possui certificação de Indicação Geográfica (IG) nas microrregiões do Serro e Serra da Canastra, duas importantes ferramentas coletivas de reconhecimento que atestam sua relevância do ponto de vista social e econômico. Por ser elaborado com leite cru e com a utilização do fermento endógeno natural (pingo), podem ocorrer variações da comunidade microbiana, composição físico-química e atributos sensoriais, fatores que irão configurar a autenticidade desses queijos. Recentemente, por meio da Resolução nº 42/2022 (SEAPA), houve a formalização do Queijo Minas Artesanal de Casca Florida (QMACF), reconhecido como uma variedade de QMA que contém a presença ou a dominância visualmente constatada de fungos filamentosos. Assim, o presente estudo objetivou isolar e identificar a microbiota do Queijo Minas Artesanal de Casca Florida produzido na região do Serro/MG e avaliar suas propriedades físico-químicas. As amostras foram coletadas com 25 dias de maturação, de 4 propriedades, localizadas em diferentes municípios da microrregião do Serro. A identificação da microbiota ocorreu por análise em equipamento MALDI-TOF MS e caracterização morfológica, e as análises físico-químicas conforme métodos AOAC. Quanto aos parâmetros físico-químicos, todos variaram estatisticamente entre as amostras, o que ocorre naturalmente pela produção artesanal, miscigenação de raça e alimentação dos animais, configurando a tipicidade dos queijos. A microbiota identificada no estudo é composta por *Geotrichum candidum*, *Candida catenulata*, *Candida palmiroleophila*, *Candida intermedia*, *Debaryomyces hansenii*, *Kodamaea ohmeri*, *Kluyveromyces lactis*, *Pichia manshurica*, *Pichia kudriavzevii*, *Trichosporon japonicum*, *Torulaspora delbrueckii*, *Yarrowia lipolytica*, *Cladosporium* sp., *Fusarium oxysporium*, *F. solanii*, *Penicillium waksmanii* Zalessky e *P. corylophilum*, diferentes espécies capazes de produzir uma variedade de metabólitos que influenciam de maneira positiva no sabor, aroma e textura, sendo essenciais para a qualidade e autenticidade de cada produto.

**Palavras-chave:** Fungos. Maldi-Tof. Queijo Minas Artesanal.

## ABSTRACT

The Minas Artisanal Cheese (QMA) is associated with the food culture and the socio-historical structures of the region where it is produced. It is considered an intangible heritage of the state of Minas Gerais and Brazil and has Geographical Indication (GI) certification, two important recognition tools that attest to its collective relevance from a social and economic point of view. For being a product made with raw material without a heat treatment, with the use of natural endogenous yeast (pingo), variations in the microbial community, physical-chemical composition and sensory attributes may occur, these being factors that will configure the authenticity of these cheese products. Recently, through Resolution N° 42/2022 (SEAPA), the Minas Artisanal Cheese from Casca Florida (QMACF) was formalized, recognized as a variety of QMA that contains the presence and dominance visually verified of filamentous fungi. Thus, the present study aimed to isolate and identify the mycobiota of Minas Artisanal Cheese from Casca Florida produced in the Serro/MG region and to evaluate its physicochemical properties. Samples were collected after 25 days of maturation, from 4 properties, located in different counties of the Serro microregion. The identification of the mycobiota was through analysis in MALDI-TOF MS equipment and morphological characterization, and the physical-chemical analyzes according to AOAC methods. As for the physical-chemical parameters, all of them varied statistically between the samples, which naturally occurs due to artisanal production, racial miscegenation and animal feeding, building the typicality of the cheeses. The mycobiota identified in the study is composed of *Geotrichum candidum*, *Candida catenulata*, *Candida palmiroleophila*, *Candida intermedia*, *Debaryomyces hansenii*, *Kodamaea ohmeri*, *Kluyveromyces lactis*, *Pichia manshurica*, *Pichia kudriavzevii*, *Trichosporon japonicum*, *Torulasporea delbrueckii*, *Yarrowia lipolytica*, *Cladosporium* sp., *Fusarium oxysporium*, *F. solanii*, *Penicillium waksmanii* Zalesky e *P. corylophilum*. Varied species capable of producing a diversity of metabolites that positively influence the taste, aroma and texture, being essential for the quality and authenticity of each product.

**Keywords:** Fungi. Maldi-Tof. Minas Artisanal Cheese.



## LISTA DE FIGURAS

### PRIMEIRA PARTE – INTRODUÇÃO GERAL

Figura 1- Fluxograma do Queijo Minas Artesanal.....	14
Figura 2 - Mapa das regiões produtora de QMA e QAM.....	15
Figura 3 - Mapa da microrregião do Serro. ....	16
Figura 4 - Degradação de carboidrato nos queijos. ....	23
Figura 5 - Degradação de lipídeos nos queijos.....	24
Figura 6 - Degradação de proteínas nos queijos.....	25

### SEGUNDA PARTE - ARTIGO

Figura 1 - Amostras de QMA do Serro. ....	38
Figura 2 - Modelo de preparo da amostra para técnica de diluição seriada. ....	39
Figura 3 - Demonstração de etapas das análises no equipamento MALDI-TOF.....	41
Figura 4 - Dessorção e ionização das moléculas no MALDI-TOF.....	41
Figura 5 - Ocorrência da microbiota no QMA do Serro.....	45
Figura 6 - Dendograma das espécies agrupadas por perfil proteico.....	47
Figura 7 - Espectro de massas das espécies <i>Y. lipolytica</i> , <i>T. japonicum</i> , <i>G. candidum</i> e <i>K. lactis</i> , gerado pelo MALDI Biotyper 3.1.....	48
Figura 8 - Espectro de massas das espécies <i>C. catenulata</i> , <i>D. hansenii</i> , <i>T. delbrueckii</i> e <i>K. ohmeri</i> , gerado pelo MALDI Biotyper 3.1.....	49
Figura 9 - Espectro de massas das espécies <i>C. intermedia</i> , <i>P. kudriavzevii</i> , <i>C. palmioleophila</i> e <i>P. manshurica</i> , gerado pelo MALDI Biotyper 3.1.....	50

## LISTA DE TABELAS

### **PRIMEIRA PARTE – INTRODUÇÃO GERAL**

Tabela 1- Parâmetros físico-químicos da legislação estadual para QMA. ....	18
Tabela 2 - Parâmetros microbiológicos da legislação estadual para QMA. ....	18

### **SEGUNDA PARTE - ARTIGO**

Tabela 1 - Coordenadas geográficas das propriedades.....	37
Tabela 2 - População total e média da micobiota nos meios DG18 e DRBC presente nas amostras de QMA.....	44
Tabela 3 - Físico-química das amostras de QMA do Serro (média $\pm$ , desvio padrão e o teste de Tukey). ....	51

## SUMÁRIO

	<b>PRIMEIRA PARTE – INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>11</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>13</b>
<b>2.1</b>	<b>Importância social e econômica do Queijo Minas Artesanal (QMA).....</b>	<b>13</b>
<b>2.2</b>	<b>A microrregião do Serro .....</b>	<b>15</b>
<b>2.3</b>	<b>Legislação do QMA .....</b>	<b>17</b>
<b>2.4</b>	<b>Diversidade microbológica em queijos artesanais.....</b>	<b>19</b>
<b>2.4.1</b>	<b>Micobiota em queijos .....</b>	<b>20</b>
<b>2.4.2</b>	<b>Bactérias .....</b>	<b>21</b>
<b>2.5</b>	<b>Maturação .....</b>	<b>22</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>26</b>
	<b>SEGUNDA PARTE - ARTIGO .....</b>	<b>33</b>
	<b>ARTIGO – Queijo Minas Artesanal do Serro de Casca Florida: micobiota e caracterização físico-química .....</b>	<b>33</b>

## PRIMEIRA PARTE – INTRODUÇÃO GERAL

### 1 INTRODUÇÃO

A produção do Queijo Minas Artesanal (QMA) é considerada, por sua tradição, patrimônio imaterial de Minas Gerais e do Brasil e possui certificação de Indicação Geográfica (IG) na modalidade Indicação de Procedência (IP), ferramentas coletivas de reconhecimento e valorização de produtos tradicionais, que comprovam a importância social, econômica e cultural desses queijos para o estado e as microrregiões (INSTITUTO DO PATRIMÔNIO HISTÓRICO E ARTÍSTICO NACIONAL - IPHAN, 2006; MINAS GERAIS, 2007).

Produtores, consumidores e alguns pesquisadores defendem o produto por sua relação de caracterização e identidade do território em que é produzido, por sua tradição e pelos benefícios sensoriais em se utilizar a matéria-prima sem tratamento térmico.

Na fabricação, após enformagem e salga, parte do soro drenado é coletado e adicionado à produção subsequente; esse fermento endógeno é conhecido como “pingo”, contém microrganismos que realizam a fermentação e atuam posteriormente na maturação do queijo. As particularidades do clima, do solo e do relevo atribuem ao “pingo” uma diversidade microbiológica que representa o queijo de cada propriedade e região produtora e conferindo ao produto características únicas e endêmicas (BORELLI, 2020; KAMIMURA *et al.*, 2019; SOBRAL *et al.*, 2019).

Estudos demonstram que as reações enzimáticas realizadas pela microbiota nos queijos artesanais são mais complexas do que as que ocorrem em queijos fabricados com leite pasteurizado adicionados de culturas selecionadas, e por isso as diferenças sensoriais nesses dois produtos (BALLESTEROS *et al.*; 2006; CABEZAS *et al.*, 2007; PERRY, 2004; PINEDA *et al.*, 2020). A microbiota principal é composta predominantemente por bactérias ácido-láticas iniciadoras, enquanto a secundária é constituída por bactérias não iniciadoras, fungos e leveduras.

Em certos tipos de queijo, fungos são indispensáveis ao processo de maturação, por degradarem componentes lácticos e gerarem compostos que influenciam nas propriedades organolépticas e qualidade (FURTADO, 2022). Fungos filamentos, como *Penicillium*, *Geotrichum candidum* e *Cladosporium*, e leveduras, como *Debaryomyces hansenii*, *Kodamaea ohmeri*, *Kluyveromyces lactis* e *Torulaspora delbrueckii*, estão amplamente distribuídos na natureza e são normalmente encontrados nos queijos que se emprega o leite cru na fabricação. Recentemente, uma legislação do estado formalizou o reconhecimento da produção de Queijo

Minas Artesanal de Casca Florida (QMACF), uma variedade de QMA que contém presença ou dominância visualmente constatada de fungos filamentosos, inicialmente da espécie fúngica *Geotrichum candidum* (MINAS GERAIS, 2022), um fungo branco, dimórfico, sempre utilizado como cultura adjunta na elaboração dos queijos finos franceses Camembert e Brie, por ser responsável pelo destaque de aroma e sabor desejáveis, além de seguro para o consumo (FURTADO, 2013; PERKINS *et al.*, 2020).

Dessa forma, o presente estudo buscou isolar e identificar a microbiota presente no Queijo Minas Artesanal de Casca Florida, produzido na região do Serro/MG, maturado por 25 dias, e descrever as propriedades físico-químicas do produto com esse período de maturação.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Importância social e econômica do Queijo Minas Artesanal (QMA)

O Queijo Minas Artesanal é um produto de expressiva importância para a agricultura familiar de Minas Gerais, sua produção anual é estimada em 21,8 mil toneladas, envolvendo milhares de famílias que vão desde pequenos agricultores a pessoas vinculadas à distribuição e à comercialização (COSTA *et al.*, 2022; EMPRESA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL DO ESTADO DE MINAS GERAIS - EMATER, 2022). Minas Gerais destaca-se como o maior produtor do Brasil de queijos elaborados com leite cru tradicionalmente maturados (BRANDIELLI *et al.*, 2019), pouco mais da metade dos queijos consumidos nacionalmente vem de Minas Gerais, o que contribui com o crescimento da economia no estado e a permanência do agricultor no campo, fator de relevante caráter sociocultural (EMATER, 2021a).

Considera-se Queijo Minas Artesanal aquele elaborado a partir do leite integral de vacas sadias, cru, hígido, de produção própria, com a utilização do soro fermento (pingo). Por condição legal, os queijos artesanais devem ser processados nos estabelecimentos rurais a partir de leite fresco produzido neste mesmo local, ficando restrita às microrregiões devidamente reconhecidas a autorização de processar o QMA e comercializá-lo fora do estado (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA, 2018; MINAS GERAIS, 2018a).

O Decreto nº 11.099, de 21 de junho de 2022, que regulamenta a Lei nº 13.860, de 18 de julho de 2019, estabelece diretrizes para a concessão do Selo Arte, permitindo o comércio interestadual de produtos artesanais elaborados com matéria-prima de origem animal (BRASIL, 2022).

A fabricação segue métodos tradicionais, como produção em baixa escala a partir da mão de obra familiar, em queijarias edificadas nas propriedades rurais próximas à sala de ordenha, obtidos por coagulação do leite de vaca com enzima coagulante específica, sem tratamento térmico da massa. O produto final é apresentado com consistência semidura; textura macia, lisa ou com pequenas olhaduras mecânicas; cor branca ou amarelada e uniforme; sabor brando, ligeiramente ácido e odor característico (BEZERRA, 2018; EMATER, 2021b; MINAS GERAIS, 2018b).

Dentro desses conceitos, encaixa-se o QMACF, que, por ser considerado QMA, segue as mesmas diretrizes de produção, mas sem que seja realizada a raspagem da casca no decorrer

e ao final da maturação, deixando visível a presença ou dominância de fungos filamentosos (MINAS GERAIS, 2022). O fluxograma de produção (FIGURA 1) demonstra as etapas envolvidas na elaboração do QMA.

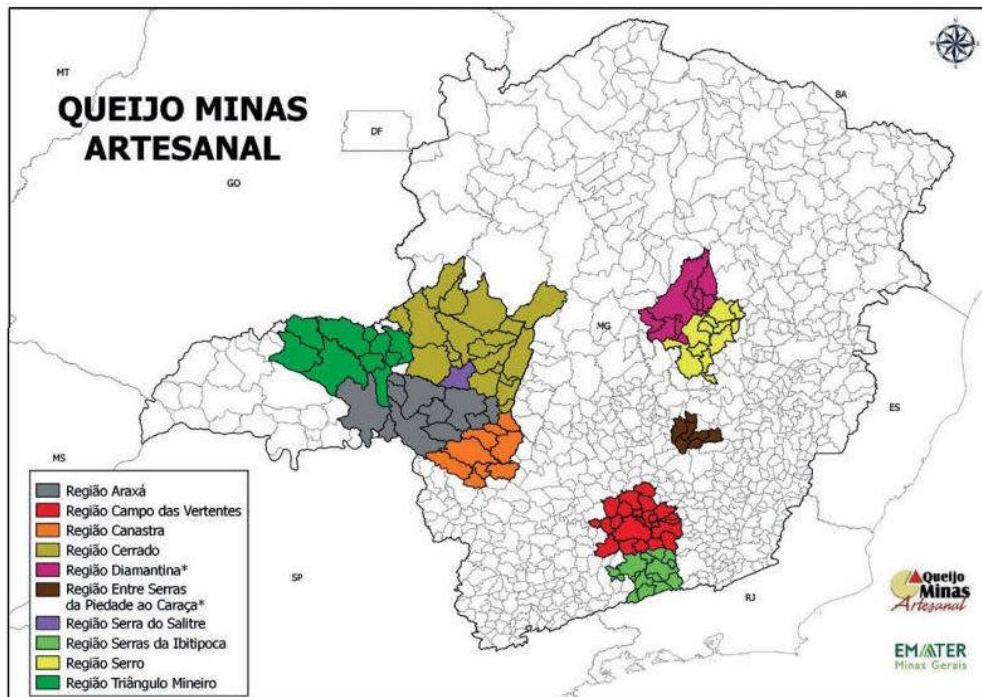
Figura 1- Fluxograma do Queijo Minas Artesanal.



Fonte: Da autora (2023), adaptado de Boari (2020).

Existem também outras variedades de queijos artesanais em Minas, que apresentam características diferentes de fabricação e/ou estão associados a outras conformações sócio-históricas e referências culturais, denominados Queijos Artesanais de Minas (QAM), a exemplo do queijo artesanal tipo Parmesão, produzido em Alagoa, e queijo artesanal Cabacinha, produzido no Vale do Jequitinhonha (FEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO ESTADO DE MINAS GERAIS - FAEMG, 2022). Atualmente, são quinze regiões mineiras oficialmente reconhecidas como produtoras de queijos artesanais, sendo: Araxá, Campos das Vertentes, Cerrado, Serra da Canastra, Serra do Salitre, Serro, Triângulo Mineiro, Serras da Ibitipoca, Diamantina e Entre Serras de Piedade ao Caraça, para Queijo Minas Artesanal produtoras de QMA (FIGURA 2) (EMATER, 2023); e região da Serra Geral, região do Vale do Jequitinhonha, região do Vale do Suaçuí, região da Mantiqueira e Alagoa, para Queijo Artesanal de Minas de QAM (COSTA *et al.*, 2022; FAEMG, 2022).

Figura 2 - Mapa das regiões produtora de QMA e QAM.



Fonte: Emater (2023).

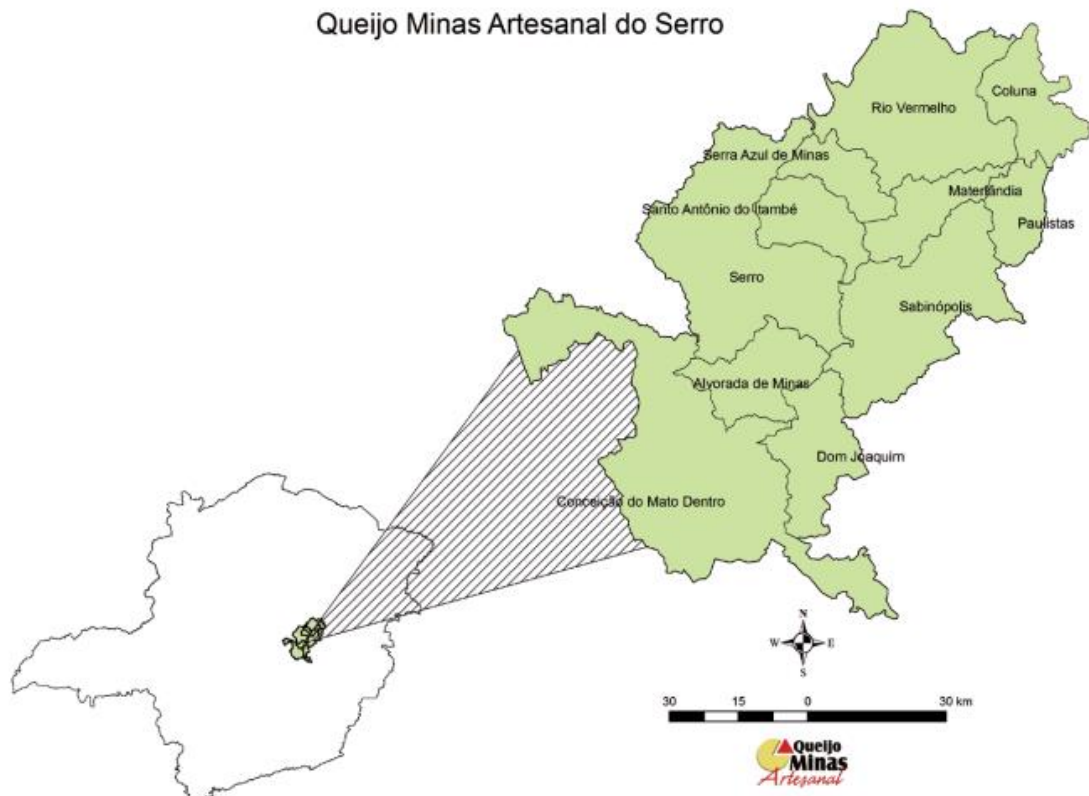
A Emater-MG concluiu um levantamento que identificou o perfil das agroindústrias familiares de Minas Gerais e a importância dessa atividade no meio rural; o destaque está na cadeia do leite. Das 11.158 unidades produtoras de leite, a maior parte (7.063 estabelecimentos) dedica-se à produção de queijos artesanais. Os dados apresentados demonstram o potencial que as agroindústrias familiares têm para gerar renda e ocupação nos municípios mineiros, além de ser uma atividade que valoriza e preserva a cultura e a tradição das regiões (EMATER, 2022).

## 2.2 A microrregião do Serro

A microrregião do Serro se localiza no Vale do Jequitinhonha, em uma região montanhosa na vertente oriental da Serra do Espinhaço e da Estrada Real, no estado de Minas Gerais, caracterizada por 11 municípios produtores reconhecidos pela Portaria n° 546, de 29 de outubro de 2002, do IMA. O município do Serro é a localidade onde há maior concentração de produtores e considerado pelos serranos, por seu processo histórico, como a “mãe” do território que produz o Queijo do Serro. Os demais municípios são: Alvorada de Minas, Conceição do Mato Dentro, Dom Joaquim, Paulistas, Materlândia, Rio Vermelho, Sabinópolis, Santo Antônio do Itambé, Coluna e Serra Azul de Minas (FIGURA 3) (EMATER, 2002; IMA, 2002).



Figura 3 - Mapa da microrregião do Serro.



Fonte: Emater (2016).

O gado é predominantemente mestiço em decorrência do cruzamento entre as raças europeias e azebuadas, visando à produtividade leiteira. O rebanho total dos municípios que compõem a região é de 225.044 animais, sendo 51.679 vacas, totalizando 137.813.457 litros de leite produzidos ao ano (COSTA *et al.*, 2022; INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE, 2020).

A classificação do clima é de temperado/úmido, com temperatura média anual de 20,5° C, mínima de 17,3° C e máxima de 23,2° C. Apresenta período seco no inverno e úmido no verão, com índice pluviométrico médio anual de 1.471 mm, sendo agosto o mês mais seco, com 8 mm de chuvas, e dezembro o mês em que ocorre a maior precipitação, alcançando 337 mm (CLIMATE-DATA.ORG, 2022).

Esses fatores, associados ao tipo de solo, altitude, pastagem e água, são algumas das razões pelas quais o Queijo do Serro possui atributos únicos e endêmicos (LEMPK, 2018). A particularidade e o sabor desse produto típico da região levaram ao reconhecimento pelo Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI) com certificação de Indicação Geográfica (IG), conquistando o título de produtor exclusivo desse tipo de queijo (MEDEIROS, 2015). A IG é uma ferramenta importante de proteção da origem. Seu registro destaca o produto na

comercialização, agrega valor e o diferencia no mercado consumidor, além de controlar a produção, garantindo a rastreabilidade em decorrência de suas características geográficas, socioculturais e históricas (INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL - INPI, 2011).

O QMA do Serro, fabricado ao redor da Serra do Espinhaço, conforme a Portaria nº 2.051, de 07 de abril de 2021, deve ser maturado por 17 dias (INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA - IMA, 2021), resultando em produto de consistência firme, sabor suave e levemente ácido. Apresenta casca fina e uma cor branco-amarelada com brilho natural. Possui formato cilíndrico, com diâmetro de 13 a 15 cm, altura de 4 a 6 cm e peso de 700 a 1.000 g (EMATER, 2002). Uma peculiaridade que diferencia o processo de fabricação na microrregião do Serro é a prensagem da coalhada com as mãos, ocasionando maior concentração de lactose na massa, que é substrato das bactérias lácticas e acidificam o meio, resultando em sabor e textura característicos (DORES, 2007, 2013).

### **2.3 Legislação do QMA**

A fabricação de Queijo Minas Artesanal possui amparo na Lei Estadual nº 14.185, de 31 de janeiro de 2002, que veio dispor sobre o processo de produção e outras providências (MINAS GERAIS, 2002). Em 2011, uma nova Lei, a nº 19.492, de 13 de janeiro, modificou alguns aspectos da Lei de 2002, e dentre as modificações ocorridas estão as normas no processo de fabricação, a rotulagem com demarcação da região conforme regulamento e a alteração das normas cadastrais (MINAS GERAIS, 2011).

Em 2012, a Lei Estadual nº 20.549 firma novas exigências sobre condição higiênico-sanitária na cadeia produtiva, além de criar regras para a expansão e comercialização (MINAS GERAIS, 2012b). Posteriormente, a Lei Estadual nº 23.157, de 18 de dezembro de 2018, vem definir o papel do Estado por meio do IMA, Epamig e Emater-MG na produção e comercialização do QMA, e atualiza aspectos, como: controle de qualidade, higiene, instalações, fabricação, armazenagem, acondicionamento, embalagem e transporte (MINAS GERAIS, 2018).

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa), através da Portaria nº 146/1996, determinava que a comercialização do queijo artesanal com prazo inferior a 60 dias de maturação era proibida (BRASIL, 1996), entretanto, a partir da Instrução Normativa nº 57 de 2011, do próprio MAPA, passou a ser permitida desde que fossem cumpridas condições, como potabilidade da água, saudabilidade do rebanho e contagens microbiológicas dentro dos

limites permitidos e, ainda, quando estudos técnicos científicos comprovassem que a redução no período de maturação não comprometesse a qualidade e inocuidade do queijo (BRASIL, 2011). Mais à frente, a Instrução Normativa nº 30 de 2013 revoga a anterior estabelecendo que a definição de novo período de maturação dos queijos artesanais será realizada após a avaliação dos estudos pelo órgão estadual e/ou municipal de inspeção industrial e sanitária reconhecidos pelo Sistema Brasileiro de Inspeção de Produtos de Origem Animal - SISBI/POA (BRASIL, 2013).

Os dispositivos enumerados no Decreto nº 44.864, de 01/08/2008, determinam os padrões físico-químicos (TABELA 1) e microbiológicos (TABELA 2) do QMA após ter passado por período de maturação necessário .

Tabela 1- Parâmetros físico-químicos da legislação estadual para QMA.

<b>Parâmetros físico-químicos</b>	<b>Parâmetros aceitáveis</b>
Umidade expressa em base úmida	Até 45,9%
Amido	Negativo
Fosfatase	Positiva

Fonte: Minas Gerais (2008b).

Os parâmetros físico-químicos do QMA, de acordo com as características do queijo de cada microrregião, serão definidos em legislações específicas baixadas pelo IMA (MINAS GERAIS, 2008c).

Tabela 2 - Parâmetros microbiológicos da legislação estadual para QMA.

<b>Parâmetros microbiológicos</b>	<b>Contagem microbiológica aceitável</b>
Coliformes/g 30 °C (Totais)	n=5 c=2; m=1.000; M=5.000
Coliformes/g 45 °C (Termotolerantes)	n=5; c=2; m=100; M=500
<i>Staphylococcus</i> coagulase +	n=5; c=2; m=100; M=1.000
<i>Listeria</i> sp.	n=5; c=0; m=0
<i>Salmonella</i> sp.	n=5; c=0; m=0

Legenda: n = é o número de unidades a serem colhidas aleatoriamente de um mesmo lote e analisadas individualmente; c = é o número máximo aceitável de unidades de amostras com contagens entre os limites m e M; m = é o limite que separa o lote aceitável do produto ou lote com qualidade intermediária aceitável; M = é o limite que separa o produto aceitável do inaceitável.

Fonte: Minas Gerais (2008d).

Atualmente, o IMA define o tempo de maturação para Diamantina, Entre Serras da Piedade ao Caraça, Campo das Vertentes, Cerrado, Serras da Ibitipoca e Triângulo Mineiro de 22 dias; para Serro de 17 dias; e para Araxá, Canastra e Serra do Salitre de 14 dias (IMA, 2021).

Em 2022, a Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (SEAPA) publicou a primeira legislação do QMA relacionada a fungos. A Resolução nº 42, de 27 de dezembro de 2022, reconhece o Queijo Minas Artesanal na variedade de Casca Florida produzido nos municípios do estado de Minas Gerais, deixando exposto no Art. 1º: Considera-se “casca florida” a casca do Queijo Minas Artesanal que contenha a presença ou dominância visualmente constatada de fungos filamentosos; e esclarece no Art. 2º que o Queijo Minas Artesanal de Casca Florida (QMACF) será inicialmente reconhecido como aquele em que predominar a presença da espécie fúngica *Galactomyces geotricum* (sinônimos *Geotricum candidum* e *Geotrichum silvicola*) como dominante. Esclarece ainda no Art. 3º que outras espécies de fungos poderão ser reconhecidas como QMACF desde que pesquisas científicas realizadas por órgãos especializados no tema e de ilibada reputação atestem sua segurança alimentar (MINAS GERAIS, 2022).

Embora não haja nas legislações específicas do QMA menção no que se refere a micotoxinas produzidas por fungos, a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), na Resolução nº 7, de 18 de fevereiro de 2011, dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos, definidos conforme resultados obtidos por metodologias que atendam aos critérios de desempenho estabelecidos pelo *Codex Alimentarius*, e permite 2,5 (µg/kg) de aflatoxina M1 em queijos (BRASIL, 2011).

#### **2.4 Diversidade microbiológica em queijos artesanais**

A comunidade microbiana é um elemento significativo na fabricação de queijos artesanais em que se utilizam leite cru e culturas naturais, como o soro-fermento; a presença de uma microbiota endógena específica de cada região produtora confere a esses queijos atributos sensoriais únicos (KAMIMURA *et al.*, 2019), porém, a falta de padronização e práticas de fabricação deficientes são fatores que podem determinar impactos negativos na qualidade e inocuidade desses produtos (ARAÚJO *et al.*, 2020).

Devido aos atuais métodos para a identificação de microrganismos, mais rápidos e eficazes, diversos alimentos vêm sendo caracterizados quanto à sua microbiota, especialmente os queijos. Mesmo que a fabricação regional do Queijo Minas Artesanal envolva etapas de produção similares, as regiões apresentam relevo, solo e clima característicos, e essas variações

aliadas às estações seca ou chuvosa influenciam nas alterações da microbiota do produto ao longo de todo processo; entender e definir essa assinatura microbiológica em queijos pode contribuir para estabelecer os critérios de indicações geográficas, a exemplo das Denominações de Origem Protegidas (D.O.P.) na Europa (FIGUEIREDO *et al.*, 2015; LUIZ *et al.*, 2017; PERIN *et al.*, 2017; SANT'ANNA *et al.*, 2019).

A presença de determinadas espécies em maior ou menor número comprova que a microbiota do queijo é selecionada e definida por condições ambientais e composição específicas. Esses microrganismos possuem a capacidade de produzir inúmeros compostos orgânicos como resultado do seu metabolismo e, embora a variedade e densidade desses compostos sejam bem documentadas, os papéis que desempenham nas interações entre eles e no microbioma do queijo não são totalmente conhecidos (BORELLI *et al.*, 2006; COSETTA *et al.*, 2020).

#### 2.4.1 Micobiota em queijos

Algumas culturas fúngicas são de interesse tecnológico por serem empregadas no processo de maturação de certos queijos industriais e artesanais, dentre elas as dos fungos chamados de mofo branco (*Penicillium camemberti* e *Geotrichum candidum*), sempre presentes em queijos Camembert e Brie, e as de fungos azuis (*Penicillium roqueforti*), em queijos Gorgonzola, Roquefort e Stilton (DIAS *et al.*, 2012; GKATZIONIS *et al.*, 2014; SOBRAL *et al.*, 2017).

Conforme Furtado (2013), o *Geotrichum candidum* é, sobretudo, imprescindível na elaboração de queijos em que se deseja características equivalentes às dos originais franceses, devido à produção de compostos voláteis aromáticos, que crescem durante a fase de desacidificação, quando leveduras como *Debaryomyces hansenii* e *Kluyveromyces lactis* surgem inicialmente, seguidas por *Geotrichum candidum* e *Penicillium camemberti*.

Fungos e leveduras estão naturalmente presentes no leite, queijos e salas de maturação, sendo as espécies *Debaryomyces hansenii*, *Kodamaea ohmerie*, *Kluyveromyces marxianus*, *Kluyveromyces lactis*, *Torulaspota delbruekii*, *Candida* spp., *Yarrowia lipolytica* e *Pichia* spp. frequentemente encontradas; a ocorrência no fermento endógeno, na massa coagulada e no queijo reflete uma boa adaptação ao substrato rico em proteínas, lipídios e açúcar em consequência das atividades lipolítica e proteolítica, além da habilidade em fermentar lactose e utilizar ácidos orgânicos, o que contribui positivamente aos processos de maturação e

fermentação (BORELLI *et al.*, 2006; FURTADO, 2022; LIMA *et al.*, 2009; YILDIZ *et al.*, 2021; ZACARCHENCO *et al.*, 2011).

Já as espécies de fungos *Penicillium* e *Geotrichum candidum* são os tipos dominantes. *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Scopulariopsis*, *Cladosporium* e *Verticillium* são outros gêneros que podem surgir em diferentes queijos (COSETTA *et al.*, 2020; JAHN; GARCIA; COPETTI, 2017; LAVOIE *et al.*, 2012; SOBRAL *et al.*, 2017; ZACARCHENCO *et al.*, 2011).

A presença de fungos filamentosos é desejável ou mesmo necessária na formação de sabor, aroma e textura dos queijos especiais. Ainda que não sejam considerados patógenos de origem alimentar, sob determinadas condições alguns gêneros representam risco de deterioração e produção de micotoxinas (BENKERROUM, 2016; JAHN; GARCIA; COPETTI, 2017).

As micotoxinas são compostos de baixo peso molecular produzidas como metabólitos secundários por fungos filamentosos de diferentes espécies (BENNETT; KLICH, 2003). Em produtos lácteos, a preocupação deve-se à aflatoxina B<sub>1</sub>, produzida principalmente por *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*, geralmente presente em cereais e rações animais e que, após ser ingerida pelo animal, passa por biotransformação a nível hepático em aflatoxina M<sub>1</sub>, podendo contaminar o leite. No entanto, os cuidados com a alimentação do rebanho, a obtenção de matéria-prima de qualidade e o controle de alguns parâmetros da maturação, como umidade e temperatura, são medidas eficazes que podem prevenir a produção das micotoxinas, sendo fatores decisivos da qualidade e segurança (GEISEN; TOUHAMI; SCHMIDT-HEYDT, 2017; SNYDER; WOROBO, 2018; TROMBETE; FRAGA; SALDANHA, 2013).

#### **2.4.2 Bactérias**

O leite constitui excelente fonte de nutrientes aos microrganismos (MOS), as denominadas bactérias ácido-láticas (BAL) utilizam seu açúcar como substrato, obtendo carbono para geração de energia (FURTADO, 2013, 2022). Essas bactérias representam um grupo de importância na fabricação de queijos, sendo classificadas em: bactérias iniciadoras (SLAB), que fermentam a lactose com elevada produção de ácido lático, como *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*; e culturas não iniciadoras (NSLAB), que são um grupo heterogêneo que, juntamente com as leveduras, participam do processo secundário, que é a formação de aroma e textura na maturação, constituído por espécies do gênero *Lactobacillus*, *Leuconostoc* spp., *Enterococcus* e *Pediococcus* (GOBETI *et al.*, 2002; IRLINGER *et al.*, 2017; MARGALHO

*et al.*, 2020; SANT'ANNA *et al.*, 2019).

Uma vez que o QMA é fabricado com leite que não passa por tratamento térmico, a presença de patógenos, como coliformes, *Staphylococcus aureus*, *Listeria ssp.*, *Brucella ssp.*, *Salmonella ssp.* e outros, pode ocorrer, mas surtos de intoxicação alimentar relacionados ao consumo de queijos artesanais não têm maior prevalência. No Brasil, a fabricação desses queijos deve obedecer a inúmeras regulamentações federais e estaduais de Boas Práticas de Fabricação (BPF) (ANTÔNIO; BORELLI, 2020; CAMPOS *et al.*, 2021; KAMIMURA *et al.*, 2019); além disso, a importância do leite cru e dos iniciadores endógenos naturais (pingo) está não só na autenticidade dos queijos artesanais, mas também na ação protetiva que essas bactérias autóctones exercem ao inibirem crescimento de diversos patógenos, melhorando a qualidade microbiológica do produto (ANTÔNIO; BORELLI, 2020; GONZALES-BARRON *et al.*, 2020; LUIZ *et al.*, 2017; SOBRAL *et al.*, 2019).

## 2.5 Maturação

Os Queijos Minas Artesanais, segundo a legislação, devem ser maturados visando à manutenção da qualidade microbiológica e físico-química do produto (COSTA JÚNIOR *et al.*, 2014). Durante o processo, ocorre a formação de metabólitos, como ácidos orgânicos, bacteriocinas e diacetil, e estas moléculas podem atuar como controle biológico, uma vez que tornam o meio inapropriado ao desenvolvimento e sobrevivência de patógenos (BRANDIELLI *et al.*; 2019; COELHO *et al.*, 2014; NESPOLO; BRANDELLI, 2010).

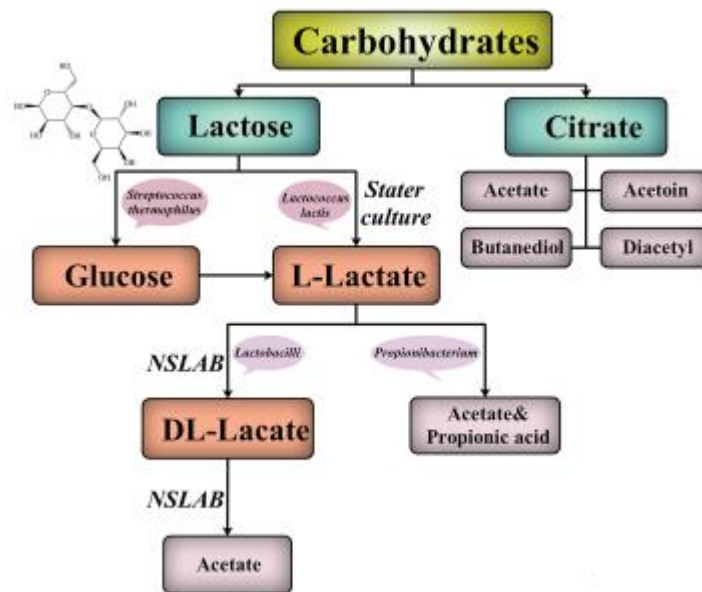
A maturação é a etapa na qual ocorrem transformações físicas, físico-químicas e microbiológicas, resultando na composição das características organolépticas, como aroma, sabor e textura típicos de cada variedade, as quais são fundamentais para a singularidade, qualidade e aceitação dos queijos pelos consumidores (MARTINS *et al.*, 2015; POVEDA; CABEZAS, 2006; SHIOTA *et al.*, 2015). Essa fase deve acontecer em condições favoráveis para que proteínas, lipídeos e carboidrato sejam degradados por enzimas e modificados bioquimicamente a compostos primários e secundários, ocasionando substâncias aromáticas (FIGURA 4) (DUGAT-BONY, 2015; FOX *et al.*, 2004; ZHENG *et al.*, 2021).

As substâncias aromáticas dos alimentos são principalmente voláteis e não voláteis. Voláteis incluem álcoois, ácidos, ésteres, aldeídos e cetonas. O perfil volátil é muito importante para a qualidade sensorial do queijo, dada a especificidade de cada variedade, já que cada tipo de queijo é resultado do equilíbrio entre os diversos compostos que surgem durante o processo de fabricação. De outro lado, as substâncias aromáticas não voláteis incluem principalmente

ácidos orgânicos, aminoácidos, açúcares redutores, nucleotídeos, polipeptídeos e outras pequenas moléculas; todos estes compostos são a fonte de aroma e sabor dos alimentos (BEZERRA *et al.*, 2016; DELGADO *et al.*, 2010).

Como o queijo é um produto lácteo fermentado, uma característica importante de sua fabricação é o metabolismo da lactose realizado por bactérias lácticas (SLAB), conhecidas como *starters* (FIGURA 4). A lactose é hidrolisada produzindo o lactato que reduz o pH, o carboidrato que permanece não fermentado pela cultura iniciadora é então metabolizado por bactérias do ácido láctico não iniciadoras (NSLAB) e leveduras, oferecendo condições para a microbiota secundária com o surgimento das bactérias propiônicas, assim como de outras espécies de leveduras, que vão então assimilar lactato, diminuir a acidez e auxiliar no amadurecimento do queijo (FOX *et al.*, 2004; MCSWEENEY, 2004).

Figura 4 - Degradação de carboidrato nos queijos.



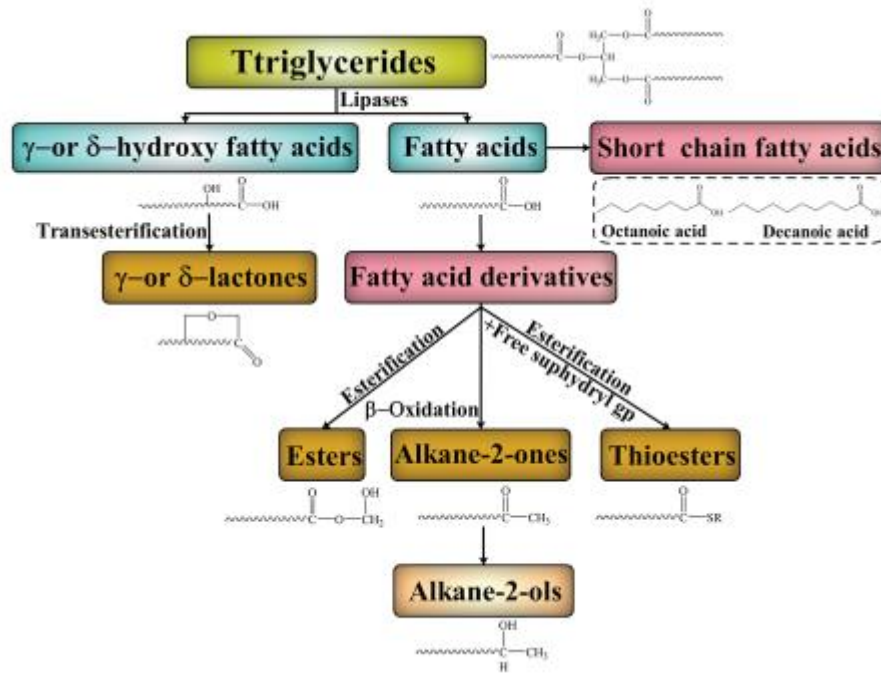
Fonte: Zheng *et al.* (2021).

A lipólise representa uma importante fase de transformação na composição do queijo; as reações acontecem na presença de microrganismos produtores de enzimas específicas (lipases), correspondentes à hidrólise de gorduras, que por sua ação formam os ácidos graxos de baixo peso molecular (FIGURA 5). Os principais ácidos formados são o butírico, caproico, caprílico, cáprico e láurico, os quais podem ser precursores de compostos aromáticos, como as cetonas, os álcoois, os ésteres e as lactonas. A formação de aroma típico dos queijos maturados



é promovida por esses produtos liberados na lipólise (PERRY, 2004; POVEDA; CABEZAS, 2006; SMIT; SMIT; ENGELS, 2005).

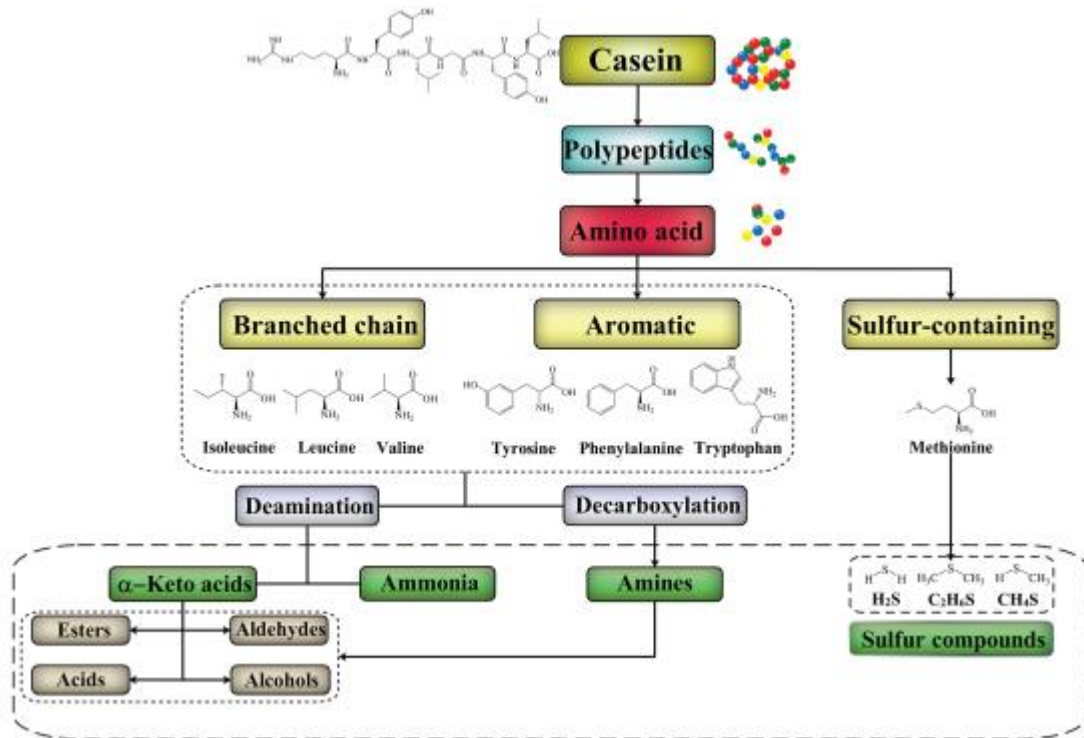
Figura 5 - Degradação de lipídeos nos queijos.



Fonte: Zheng *et al.* (2021).

A proteólise é o principal evento responsável pela formação da textura e consistência, e ainda por preconizar reações bioquímicas nos aminoácidos que dão origem ao sabor propriamente dito do queijo; é uma etapa complexa e significativa para a peculiaridade do produto. Nesse período, ocorrem mudanças que se processam tanto na casca como no interior da massa, e a degradação de proteínas sob ação de enzimas, como as transaminases, desaminases e carboxilases, resulta em aminoácidos que não estão diretamente associados ao aroma dos queijos (FIGURA 6); por meio da metabolização desses compostos pela microbiota secundária originam-se outros que contribuem para o aroma e que determinarão os atributos sensoriais (FURTADO, 2013; McSWEENEY, 2004; PERRY, 2004).

Figura 6 - Degradação de proteínas nos queijos.



Fonte: Zheng *et al.* (2021).

No decorrer da maturação pode ser identificado um aumento no teor de gorduras, redução do pH, modificações no teor da massa seca, um aumento da acidez titulável e decréscimo no conteúdo de lactose devido à fermentação (GALÁN *et al.*, 2012; LAVASANI *et al.*, 2011).

A obtenção e composição do leite, o processo de elaboração, o fermento (pingo), as condições ambientais de maturação, tais como umidade relativa do ar e temperatura, ou ainda fatores intrínsecos do queijo, como pH, teor de sal e microrganismos endógenos presentes, interferem de maneira significativa nas características sensoriais e qualidade do produto (KRAGGERUD; NAES; ABRANHANSEM, 2014; MORENO, 2013; PAIVA, 2012).

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, T. T. *et al.* The complex microbiota of artisanal cheeses interferes in the performance of enumeration protocols for lactic acid bacteria and staphylococci. **International Dairy Journal**, v. 109, p. 104791, 2020.
- ANTÔNIO, M. B. De; BORELLI, B. A importância das bactérias lácticas na segurança e qualidade dos queijos Minas artesanais. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 75, n. 3, p. 204-221, 2020.
- ARAÚJO, J. P. A. *et al.* A critical-historical analysis of the continuous development of Brazilian legislation related to artisanal cheeses. **Arquivo Brasileiro De Medicina Veterinaria e Zootecnia**, v. 72, n. 5, p. 1845-1860, 2020.
- BALLESTEROS, C. *et al.* Microbiological, biochemical and sensory characteristics of artisanal and industrial Manchego cheeses. **Food Control**, v. 17, n. 4, p. 249-255, 2006.
- BENNETT, J. W.; KLICH, M. Mycotoxins. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 16 n. 3, p. 497-516, 2003.
- BENKERROUM, N. Mycotoxins in dairy products: A review. **International dairy journal**, v. 62, p. 63-75, 2016.
- BERESFORD, T.P. *et al.* Recent advances in cheese microbiology. **International Dairy Journal**, v.11, p.259-274, 2001.
- BEZERRA, T. K. A. *et al.* Optimization of the HS-SPME-GC/MS technique for the analysis of volatile compounds in caprine Coalho cheese using response surface methodology. **Food Science and Technology**, v. 36, p. 103-110, 2016.
- BEZERRA, T. K. F. **Focus group na avaliação da percepção do consumidor sobre queijo Minas artesanal**. Dissertação (Mestrado em Produção Animal), 64p – Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros. 2018.
- BOARI, C. A. A cadeia de produção dos Queijos Artesanais. **Queijos Artesanais**, n°1, março, 2020, 18p. Disponível em: <http://ufvjm.edu.br/cursos/zootecnia/images/Documentos/Boletins/compressed.pdf>. Acesso em 13 de maio de 2023.
- BORELLI, B. M. *et al.* Yeast populations associated with the artisanal cheese produced in the region of Serra da Canastra, Brazil. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 22, n. 11, p. 1115-1119, 2006.
- BRANDIELLI, M. C. *et al.* Physicochemical parameters and lactic acid bacteria count during ripening of Brazilian regional cheese manufactured with the addition of autochthonous cultures. **Food Science and Technology**, n. AHEAD, 2019.

BRASIL. **Decreto de nº 11.099, de 21 de junho de 2022.** Dispõe sobre o processo de fiscalização de produtos alimentícios de origem animal produzidos de forma artesanal. Diário Oficial da União, 21 de junho de 2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. **Portaria nº 146 de 07 de março de 1996.** Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 07 de março de 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 30 de 07 de agosto de 2013.** Brasília, DF.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 57 de 15 de dezembro de 2011.** Brasília, DF.

BRASIL. **Resolução RDC nº 7, de 18 de fevereiro de 2011.** Dispõe sobre os limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. Brasília, 2011.

CABEZAS, L. *et al.* Comparison of microflora, chemical and sensory characteristics of artisanal Manchego cheeses from two dairies. **Food Control**, v. 18, n. 1, p. 11-17, 2007.

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

COELHO, M. C. *et al.* Control of *Listeria monocytogenes* in fresh cheese using protective lactic acid bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 191, p. 53-59, 2014.

COSETTA, C. M. *et al.* Fungal volatiles mediate cheese rind microbiome assembly. **Environmental Microbiology**, v. 22, n. 11, p. 4745-4760, 2020.

COSTA JÚNIOR, L. C. G. *et al.* Maturação do queijo Minas artesanal da microrregião Campo das Vertentes e os efeitos dos períodos seco e chuvoso. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 69, n. 2, p. 111, 2014.

COSTA, R. G. B. *et al.* Artisanal Minas cheeses – a brief review. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 8, p. e16911830012-e16911830012, 2022.

DELGADO, F. J. *et al.* Characterisation by SPME–GC–MS of the volatile profile of a Spanish soft cheese PDO Torta del Casar during ripening. **Food Chemistry**, v. 118, n. 1, p. 182-189, 2010.

DIAS, G. *et al.* Effect of the addition of a supplementary culture on the physical-chemical and sensory characteristics of Camembert-type cheese. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v. 71, n. 3, p. 500-506, 2012.

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

DORES, M.T. **Queijo Minas artesanal da Canastra maturado à temperatura ambiente e sob refrigeração.** 91p. (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, Minas Gerais 2007.

DUGAT-BONY, E. *et al.* Overview of a surface-ripened cheese community functioning by meta-omics analyses. **PloS one**, v. 10, n. 4, p. e0124360, 2015.

EMATER MG - Empresa De Assistência Técnica e Extensão Rural de Minas Gerais. **Queijo Minas Artesanal, 2021.** Disponível em: <https://www.emater.mg.gov.br/download.do?id=73907>. Acesso em 14 de novembro de 2022. (A e B)

EMATER MG - Empresa De Assistência Técnica e Extensão Rural de Minas Gerais. **Levantamento Da Emater-Mg Mostra Que Minas Gerais Tem 32 Mil Agroindústrias Familiares.** Disponível em: <https://www.emater.mg.gov.br/portal.do/site-noticias/levantamento-da-emater-mg-mostra-que-minas-gerais-tem-32-mil-agroindustrias-familiares>. Acesso em 14 de novembro de 2022.

EMATER MG - Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Minas Gerais. **Caracterização da Região do Serro como produtora de queijo Minas artesanal.** 2002.

EMATER MG - Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Minas Gerais. **Queijo Minas Artesanal Região do Serro.** 2016. Disponível em: <https://www.emater.mg.gov.br/download.do?id=16996>. Acesso em 24 de dezembro de 2022.

EMATER MG - Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Minas Gerais. **Catálogo do Queijo Minas Artesanal.** 2023. Disponível em: <https://www.emater.mg.gov.br/download.do?id=87229>. Acesso em 02 de março de 2023.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária **Queijo Minas artesanal: valorizando a agroindústria familiar.** Livro técnico (INFOTECA-E), 2018. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1110185/queijo-minas-artesanal-valorizando-a-agroindustria-familiar>. Acesso em 03 de maio de 2021.

FAEMG - Federação da Agricultura e Pecuária do Estado de Minas Gerais. Regiões Produtoras de Queijos Minas Artesanais. 2022. Disponível em: <http://www.sistemaafaemg.org.br/noticias/regioes-produtoras-de-queijos-minas-artesanais>. Acesso em 26 de dezembro de 2022.

FIGUEIREDO, S. P. *et al.* Characteristics of raw milk and artisanal cheese produced in Serro, Minas Gerais state, Brazil, in different months. **Archives of Veterinary Science**, v. 20, n. 1, p. 68-82, 2015.

FOX, Patrick F. *et al.* (Ed.). **Cheese: chemistry, physics and microbiology**, volume 2: major cheese groups. Elsevier, 2004.

FURTADO, M. M. **Queijos Especiais.** 1ª edição. São Paulo. Ed. Setembro 2013. 276p.

FURTADO, M. M. **Receituário Brasileiro de Queijos**. 1ª edição. São Paulo. Ed. Ativaonline 2022. 331p.

GALÁN, E. *et al.* Proteolysis, microbiology and sensory properties of ewes' milk cheese produced with plant coagulant from cardoon *Cynara cardunculus*, calf rennet or a mixture thereof. **International Dairy Journal**, v.25, p.92-96, 2012.

GEISEN, R.; TOUHAMI, N.; SCHMIDT-HEYDT, M. Mycotoxins as adaptation factors to food related environments. **Current Opinion in Food Science**, v. 17, p. 1-8, 2017.

GKATZIONIS, K. *et al.* Diversity and activities of yeasts from different parts of a Stilton cheese. **International Journal of Food Microbiology**, v. 177, p. 109-116, 2014.

GOBBETTI, M. *et al.* Microbiological, compositional, biochemical and textural characterisation of Caciocavallo Pugliese cheese during ripening. **International Dairy Journal**, v. 12, n. 6, p. 511-523, 2002.

GONZALES-BARRON, U. *et al.* Behavior of *Listeria monocytogenes* in the presence or not of intentionally-added lactic acid bacteria during ripening of artisanal Minas semi-hard cheese. **Food microbiology**, v. 91, p. 103545, 2020.

IMA - Instituto Mineiro de Agropecuária. **Portaria nº 2051, de 07 de abril de 2021**. Define o período de Maturação do Queijo Minas Artesanal. Belo Horizonte, 07 de abril de 2021.

IMA - Instituto Mineiro de Agropecuária. **Portaria nº 546 de 29 de outubro de 2002**. Identifica a Micro Região do Serro. Belo Horizonte, Brasil.

IPHAN - Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional (2021) **Parecer Técnico nº 141/2021/COTEC/IPHAN-MG. 2021**. Disponível em: <https://www.gov.br/iphan/pt-br/assuntos/noticias/aberta-consulta-publica-sobre-o-modo-artesanal-de-fazer-queijo-minas-e-o-modo-de-fazer-a-viola-de-cocho/ParecertcnicoRevalidaoModoArtesanaldeFazerQueijoMinas.pdf>. Acesso em 07 novembro de 2022.

IPHAN - Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional. **Identidade Mineira**. Disponível em: <http://portal.iphan.gov.br/pagina/detalhes/612>. Acesso em: 17 de novembro de 2022.

IRLINGER, F.; HELINCK, S.; JANY, J. L. Secondary and adjunct cultures. In: Cheese. **Academic Press**, 2017. p. 273-300.

JAHN, R. C.; GARCIA, M. V.; COPETTI, M. V. Deterioração fúngica em indústria de queijo tipo tropical. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 8, n. 1, p. 16-25, 2017.

KAMIMURA, B. A. *et al.* Brazilian artisanal cheeses: an overview of their characteristics, main types and regulatory aspects. **Comprehensive reviews in foodscience and food safety**, v. 18, n. 5, p. 1636-1657, 2019.

KAMIMURA, B. A. *et al.* Large-scale mapping of microbial diversity in artisanal Brazilian cheeses. **Food microbiology**, v. 80, p. 40-49, 2019.

- KRAGGERUD, H.; NAES, T.; ABRAHAMSEN, R. K.; Prediction o sensory quality of cheese during ripening from chemical and spectroscopy measurements. **International Dairy Journal**, v. 34, p.6-18, 2014.
- LAVASANI, A. R. S. *et al.* Changes in physicochemical and organoleptic properties of traditional Iranian cheese Lighvan during ripening. **International Journal of Dairy Technology**, v.65, n.1, p.64-70, 2011.
- LAVOIE, K. *et al.* Characterization of the fungal microflora in raw milk and specialty cheeses of the province of Quebec. **Dairy science & technology**, v. 92, n. 5, p. 455-468, 2012.
- LIMA, C. D. L. C. *et al.* Lactic acid bacteria and yeasts associated with the artisanal Minas cheese produced in the region of Serra do Salitre, Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 1, p. 266-272, 2009.
- LUIZ, L. M. P. *et al.* Isolation and identification of lactic acid bacteria from Brazilian Minas artisanal cheese. **CyTA-Journal of Food**, v. 15, n. 1, p. 125-128, 2017.
- MARGALHO, L. P. *et al.* Brazilian artisanal cheeses are rich and diverse sources of nonstarter lactic acid bacteria regarding technological, biopreservative, and safety properties - Insights through multivariate analysis. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 9, p. 7908-7926, 2020.
- 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.
- MCSWEENEY, P. LH. Biochemistry of cheese ripening. **International journal of dairy technology**, v. 57, n. 2-3, p. 127-144, 2004.
- MEDEIROS, M.L. **Indicações geográficas, turismo e desenvolvimento territorial: uma análise sistêmica da indicação de procedência do queijo Minas artesanal do Serro**. Tese (Doutorado em Ciências), 271p – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2015.
- MINAS GERAIS. Assembleia Legislativa do Estado de Minas Gerais. **Lei nº 14185, de 31 de janeiro de 2002**. Dispõe sobre o processo de produção do queijo Minas artesanal e dá outras providências. Diário do Executivo e do Legislativo, Belo Horizonte, 01 de fevereiro de 2002.
- MINAS GERAIS. Assembleia Legislativa do Estado de Minas Gerais. **Lei nº 19.492 de 13/01/2011**. Altera dispositivos da Lei nº 14.185, de 31 de janeiro de 2002. Diário do Executivo e do Legislativo, Belo Horizonte, 13 de janeiro de 2011.
- MINAS GERAIS. **Decreto nº 44.864. Altera o regulamento da lei nº 14.185 de 31 de janeiro de 2002**. Dispõe sobre o processo do Queijo Minas Artesanal. Secretaria de Agricultura, Pecuária e Abastecimento de Minas Gerais. Belo Horizonte, 01 de agosto de 2008.

MINAS GERAIS. Assembleia Legislativa do Estado de Minas Gerais. **Lei nº 20.549 de 18 de dezembro de 2012**. Dispõe sobre a produção e a comercialização dos queijos artesanais de Minas Gerais. Minas Gerais Diário do Executivo, p. 1, col. 2, 19 dez. 2012.

MINAS GERAIS. Assembleia Legislativa do Estado de Minas Gerais **Lei nº 23157, de 18 de dezembro de 2018**. Dispõe sobre a produção e a comercialização dos queijos Artesanais de Minas Gerais. Diário do Executivo, Belo Horizonte 19 de dezembro de 2018.

MINAS GERAIS. Secretaria de estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento – SEAPA. **Resolução N° 42, 27 de dezembro 2022**. Reconhece e define sobre Queijo Minas Artesanal de Casca Florida (QMACF). Belo Horizonte, 27 de dezembro 2022. Diário do executivo, p 7. Disponível em: <http://jornal.iof.mg.gov.br/xmlui/handle/123456789/276763>. Acesso em 13 de janeiro de 2023.

MINAS GERAIS. **Queijo Minas tem identidade geográfica no Estado**. Disponível em: <http://agricultura.mg.gov.br/politica-de-privacidade/story/406-queijo-minas-tem-identidade-geografica-no-estado>. Acesso em 17 de novembro de 2022.

MORENO, V.J. **Caracterização física e físico-química do queijo Minas artesanal da Microrregião Campo das Vertentes**. 131p. 2013 (Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados) – Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2013.

NESPOLO, C. R.; BRANDELLI, A. Production of bacteriocin like substances by lactic acid bacteria isolated from regional ovine cheese. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 41, p. 1009-1018, 2010.

PAIVA, P.H.C. **Tratamento da casca de queijo Canastra com resina e seus efeitos durante a maturação e na qualidade como forma de melhorar o aspecto e de agregar valor ao produto**. 91p. 2012 (Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados) – Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora. 2012.

PERIN, L. M. *et al.* Bacterial ecology of artisanal Minas cheeses assessed by culture-dependent and-independent methods. **Food microbiology**, v. 65, p. 160-169, 2017.

PERKINS, V. *et al.* Phenotypic and genetic characterization of the cheese ripening yeast *Geotrichum candidum*. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 737, 2020.

PERRY, K. SP. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química nova**, v. 27, n. 2, p. 293-300, 2004.

PINEDA, A. P. A. *et al.* Overview on Diversity and Microbiological Safety of Brazilian Artisanal Cheeses. **Preprints**, 2020.

POVEDA, J. M., e CABEZAS, L. Free fatty acid composition of regionally produced Spanish goat cheese and relationship with sensory characteristics. **Food Chemistry**, v. 95, p. 307-311, 2006.

SANT'ANNA, Felipe Machado et al. Microbial shifts in Minas artisanal cheeses from the Serra do Salitre region of Minas Gerais, Brazil throughout ripening time. **Food microbiology**, v. 82, p. 349-362, 2019.



SHIOTA, M. *et al.* Effects of Flavor and texture on the Sensory Perception of Gouda-Type Cheese Varieties during Ripening Using Multivariate Analysis. **Journal of Food Science**. v. 80, n.12, p. 2740-2750, 2015.

SMIT, G.; SMIT, B. A.; ENGELS, W. JM. Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. **FEMS microbiology reviews**, v. 29, n. 3, p. 591-610, 2005.

SNYDER, A. B.; WOROBO, R. W. Fungal spoilage in food processing. **Journal of food protection**, v. 81, n. 6, p. 1035-1040, 2018.

SOBRAL, D. *et al.* Nisin reduces the *Staphylococcus aureus* count without changing the characteristics of artisanal Minas cheese from Araxá. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 74, n. 1, p. 1-12, 2019.

SOBRAL, D. *et al.* Principais defeitos em queijo Minas artesanal: uma revisão. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 72, n. 2, p. 108-120, 2017.

TROMBETE, F.M.; FRAGA, M. E; SALDANHA, T. Contaminação de queijos por Aflatoxina M1: Uma abordagem sobre a ocorrência e prevenção. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 68, n. 392, p. 40-48, 2013.

YILDIZ, M. *et al.* Microbiological characteristics and identification of yeast microbiota of traditional mouldy civil cheese. **International Dairy Journal**, v. 116, p. 104955, 2021.

ZACARCHENCO, P. B.; TRENTO, F. K. H.; SPADOTI, L. M.; GALLINA, D. A.; SILVA, A. T. Bolors e Leveduras em Queijos. **TecnoLat-Expresso**, Ano II, n. 8, p. 92-99, 2011.

ZHENG, X.; SHI, X.; WANG, B. A review on the general cheese processing technology, flavor biochemical pathways and the influence of yeasts in cheese. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 703284, 2021.

**SEGUNDA PARTE - ARTIGO****ARTIGO – Queijo Minas Artesanal do Serro de Casca Florida: microbiota e  
caracterização físico-química**

Kátia Aparecida Campos<sup>1</sup>, Luís Roberto Batista<sup>1\*</sup> e Cristiane Gattini Sbampato<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras,  
Minas Gerais, Brasil

\*Autor correspondente:

Luís Roberto Batista, Departamento de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras  
(UFLA), CEP 37200-900, Lavras, Minas Gerais, Brasil

Tel.: (+55) (35) 3829 1401 Ramal 18

E-mail: luisrb@dca.ufla.br

## RESUMO

O Queijo Minas Artesanal (QMA) está associado à cultura alimentar e às conformações sócio-históricas da região em que é produzido. Considerado patrimônio imaterial de Minas Gerais e do Brasil, possui certificação de Indicação Geográfica (IG) nas microrregiões do Serro e Serra da Canastra, duas importantes ferramentas coletivas de reconhecimento que atestam sua relevância do ponto de vista social e econômico. Por ser elaborado com leite cru e com a utilização do fermento endógeno natural (pingo), podem ocorrer variações da comunidade microbiana, composição físico-química e atributos sensoriais, fatores que irão configurar a autenticidade desses queijos. Recentemente, por meio da Resolução nº 42/2022 (SEAPA), houve a formalização do Queijo Minas Artesanal de Casca Florida (QMACF), reconhecido como uma variedade de QMA que contém a presença ou dominância visualmente constatada de fungos filamentosos. Assim, o presente estudo objetivou isolar e identificar a microbiota do Queijo Minas Artesanal de Casca Florida produzido na região do Serro/MG e avaliar suas propriedades físico-químicas. As amostras foram coletadas com 25 dias de maturação, de 4 propriedades, localizadas em diferentes municípios da microrregião do Serro. A identificação da microbiota ocorreu por análise em equipamento MALDI-TOF MS e caracterização morfológica, e as análises físico-químicas conforme métodos AOAC. Quanto aos parâmetros físico-químicos, todos variaram estatisticamente entre as amostras, o que ocorre naturalmente pela produção artesanal, miscigenação de raça e alimentação dos animais, configurando a tipicidade dos queijos. A microbiota identificada no estudo é composta por *Geotrichum candidum*, *Candida catenulata*, *Candida palmiophila*, *Candida intermedia*, *Debaryomyces hansenii*, *Kodamaea ohmeri*, *Kluyveromyces lactis*, *Pichia manshurica*, *Pichia kudriavzevii*, *Trichosporon japonicum*, *Torulaspora delbrueckii*, *Yarrowia lipolytica*, *Cladosporium* sp., *Fusarium oxysporium*, *F. solanii*, *Penicillium waksmanii* Zalessky e *P. corylophilum*, diferentes espécies capazes de produzir uma variedade de metabólitos que influenciam de maneira positiva no sabor, aroma e textura, sendo essenciais para a qualidade e autenticidade de cada produto.

**Palavras-chave:** Fungos. Maldi-Tof. Queijo Minas Artesanal.

## ABSTRACT

The Minas Artisanal Cheese (QMA) is associated with the food culture and the socio-historical structures of the region where it is produced. It is considered an intangible heritage of the state of Minas Gerais and Brazil and has Geographical Indication (GI) certification, two important recognition tools that attest to its collective relevance from a social and economic point of view. For being a product made with raw material without a heat treatment, with the use of natural endogenous yeast (pingo), variations in the microbial community, physical-chemical composition and sensory attributes may occur, these being factors that will configure the authenticity of these cheese products. Recently, through Resolution N° 42/2022 (SEAPA), the Minas Artisanal Cheese from Casca Florida (QMACF) was formalized, recognized as a variety of QMA that contains the presence and dominance visually verified of filamentous fungi. Thus, the present study aimed to isolate and identify the mycobiota of Minas Artisanal Cheese from Casca Florida produced in the Serro/MG region and to evaluate its physicochemical properties. Samples were collected after 25 days of maturation, from 4 properties, located in different counties of the Serro microregion. The identification of the mycobiota was through analysis in MALDI-TOF MS equipment and morphological characterization, and the physical-chemical analyzes according to AOAC methods. As for the physical-chemical parameters, all of them varied statistically between the samples, which naturally occurs due to artisanal production, racial miscegenation and animal feeding, building the typicality of the cheeses. The mycobiota identified in the study is composed of *Geotrichum candidum*, *Candida catenulata*, *Candida palmiroleophila*, *Candida intermedia*, *Debaryomyces hansenii*, *Kodamaea ohmeri*, *Kluyveromyces lactis*, *Pichia manshurica*, *Pichia kudriavzevii*, *Trichosporon japonicum*, *Torulasporea delbrueckii*, *Yarrowia lipolytica*, *Cladosporium* sp., *Fusarium oxysporium*, *F. solanii*, *Penicillium waksmanii* Zalesky e *P. corylophilum*. Varied species capable of producing a diversity of metabolites that positively influence the taste, aroma and texture, being essential for the quality and authenticity of each product.

**Keywords:** Fungi. Maldi-Tof. Minas Artisanal Cheese.

## 1 INTRODUÇÃO

O Queijo Minas Artesanal (QMA) representa um produto de relevância social e econômica para o estado de Minas Gerais, está associado à cultura alimentar e às conformações sócio-históricas da região em que é produzido. Com produção anual estimada em 21,8 mil toneladas, a atividade econômica envolve milhares de famílias, que vão desde agroindústrias queijeiras a pessoas vinculadas à distribuição e à comercialização. Considerado patrimônio imaterial do Brasil, o Queijo Minas Artesanal possui certificação de Indicação Geográfica (IG) na modalidade Indicação de Procedência (IP), importante ferramenta coletiva de reconhecimento e valorização de produtos tradicionais (BRANDIELLI *et al.*, 2019; EMATER, 2021; INPI, 2011; IPHAN, 2022).

O Serro está entre as microrregiões oficialmente reconhecidas como produtoras, localizada em território montanhoso da Serra do Espinhaço. O queijo dessa região é um produto cuja qualidade resulta de uma combinação dos fatores físico-naturais, que propiciam o desenvolvimento de uma microbiota possível apenas nos microclimas lá existentes (EMATER, 2002; IMA, 2002; INPI, 2011).

Os produtores empregam os microrganismos presentes naturalmente no leite como coadjuvante na elaboração do queijo. Na fabricação, após enformagem e salga, parte do soro drenado é coletado e adicionado à produção subsequente; esse é o fermento endógeno conhecido como “pingo”, que contém microrganismos que realizam a fermentação atuando posteriormente na maturação do queijo, sendo fundamentais ao desenvolvimento dos atributos sensoriais, além de reduzirem os riscos de patógenos através da inibição competitiva e síntese de determinados metabólitos. As particularidades do clima, do solo e do relevo atribuem ao “pingo” uma diversidade microbiológica que representa o queijo de cada propriedade, de cada região produtora, e confere ao queijo características únicas e endêmicas (ANTÔNIO; BORELLI, 2020; GONZALES-BARRON *et al.*, 2020; KAMIMURA *et al.*, 2019; LUIZ *et al.*, 2017; MARGALHO, 2020; SOBRAL *et al.*, 2019).

Estudos demonstram que as reações enzimáticas realizadas pela microbiota nos queijos artesanais são mais complexas do que as que ocorrem em queijos fabricados com leite pasteurizado adicionados de culturas selecionadas, por isso as diferenças sensoriais nesses dois produtos (BALLESTEROS *et al.*, 2006; CABEZAS *et al.*, 2007; PERRY, 2004; PINEDA *et al.*, 2020). A microbiota principal é composta predominantemente por bactérias ácido-láticas iniciadoras, enquanto a secundária é constituída por bactérias não iniciadoras e fungos. Em certos tipos de queijo, os fungos são indispensáveis ao processo de maturação, por degradarem

componentes lácticos e gerarem compostos que influenciam nas propriedades organolépticas (FURTADO, 2022). Fungos filamentosos, como *Penicillium*, *Geotrichum candidum*, *Fusarium* e *Cladosporium*, e leveduras, como *Debaryomyces hansenii*, *Kodamaea ohmerie*, *Kluyveromyces marxianus*, *Kluyveromyces lactis*, *Torulaspora delbrueckii*, *Candida* sp., *Yarrowia lipolytica* e *Pichia* sp., estão amplamente distribuídos na natureza e são normalmente encontrados nos queijos que se emprega o leite cru na fabricação (BORELLI *et al.*, 2006; JAHN *et al.*, 2017; SOBRAL *et al.*, 2017; YILDIZ *et al.*, 2021; ZACARCHENCO *et al.*, 2011).

Recentemente, uma legislação do estado formalizou o reconhecimento da produção de Queijo Minas Artesanal de Casca Florida (QMACF), uma variedade de QMA que contém presença ou dominância visualmente constatada de fungos filamentosos, inicialmente da espécie fúngica *Geotrichum candidum* (MNAS GERAIS, 2022). Um fungo branco, dimórfico, sempre utilizado como cultura adjunta na elaboração dos queijos finos franceses Camembert, Brie e Tomme, por ser responsável pelo destaque de aroma e sabor desejáveis, além de seguro para o consumo (FURTADO, 2013; PERKINS *et al.*, 2020).

Dessa forma, o presente estudo buscou isolar e identificar a microbiota presente no Queijo Minas Artesanal de Casca Florida, produzido na região do Serro/MG, maturado por 25 dias, e descrever as propriedades físico-químicas do produto com esse período de maturação.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

As coletas ocorreram em propriedades nos municípios de Conceição do Mato Dentro, Alvorada de Minas, Santo Antônio do Itambé e Serro, localizados na microrregião do Serro, região da Serra do Espinhaço, estado de Minas Gerais, Brasil (TABELA 1).

Tabela 1 - Coordenadas geográficas das propriedades.

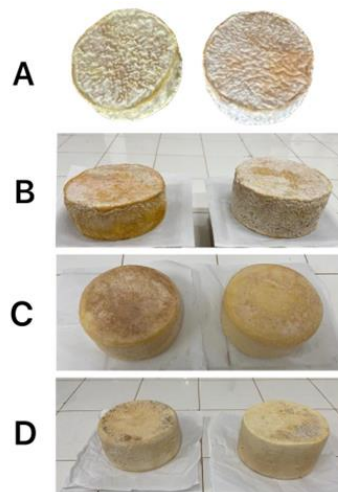
Propriedades		Coordenadas	
Letra	Latitude	Longitude	Altitude
A	19°06'58.3"S	43°28'21.1"W	836 m
B	18°35'18.2"S	43°28'17.5"W	1075 m
C	18°29'40.2"S	43°17'17.5"W	774 m
D	18°43'16.5"S	43°21'41.3"W	657 m

Fonte: Da autora (2022).

## 2.1 Amostragem

Foram coletadas 2 (duas) amostras de 4 (quatro) produtores de Queijo Minas Artesanal (QMA) no mês de maio de 2022 (período seco do inverno), queijos esses do mesmo lote, maturados por 25 dias (FIGURA 1). As amostras foram acondicionadas em embalagens microperfuradas estéreis já nas câmaras de maturação e transportadas em caixas com isolamento térmico para os Laboratórios de Micologia e Micotoxinas e Laboratório de Leite e Produtos Lácteos do Departamento de Ciência dos Alimentos, da Universidade Federal de Lavras, onde foi conduzido o experimento.

Figura 1 - Amostras de QMA do Serro.



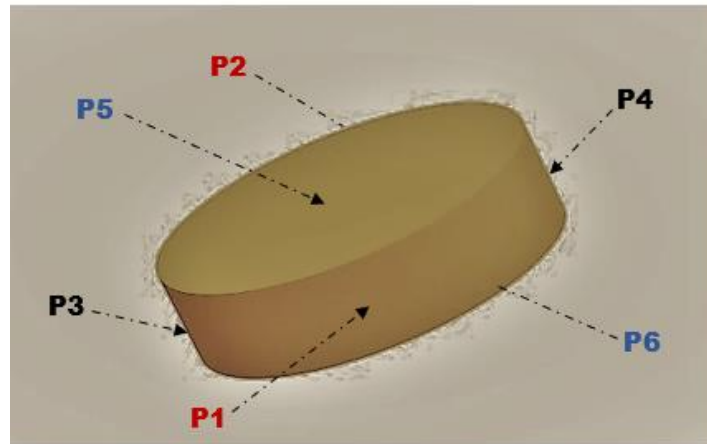
Fonte: Da autora (2022).

## 2.2 Avaliação da microbiota do QMA do Serro

O isolamento de fungos filamentosos e leveduras das amostras de QMA ocorreu por método dependente de cultivo através da técnica de diluição seriada. Para a diluição, utilizaram-se 25 g, em triplicata, de partes do queijo (casca e miolo retirados juntos com auxílio de um trado) obtidas de 4 pontos das laterais (P1, P2, P3 e P4) e 2 pontos centrais, base e superfície, (P5 e P6) (FIGURA 2); adicionados 225 mL de água peptonada em concentração de 0,1%; a solução foi acondicionada em saco plástico estéril e portada ao Stomacker para trituração em 490 golpes/3 minutos. Em seguida, realizada a diluição seriada; alíquotas de 0,1 mL das diluições transferidas para a superfície dos meios de cultura e incubadas a 25° C por 5-7 dias. Os meios de cultura utilizados foram: Ágar Dichloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC) (glicose: 10,0 g; peptona bacteriológica: 5,0 g; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>: 1,0 g; MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O: 0,5 g; solução de

rosa de bengala a 5%: 0,5 mL; dicloran: 1,0 mL; água destilada: 1000 mL; ágar: 15,0 g; cloranfenicol: 1 mg) e Dichloran Glicerol Medium Base (DG18) (dicloran: 1,0 mL; peptona bacteriológica: 5,0 g;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ : 1,0 g;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ : 0,5 g; glicerol: 220 g; ágar: 15,0 g; cloranfenicol: 1 mg; água destilada: 1000 mL ).

Figura 2 - Modelo de preparo da amostra para técnica de diluição seriada.



Fonte: Da autora (2023), adaptado de Aragão (2018).

Após o período de incubação, realizou-se a contagem de unidades formadoras de colônias (UFC), empregando a técnica de raiz quadrada para determinar o total de fungos filamentosos e leveduras. Os isolados foram transferidos para meio de cultura MA (extrato de malte) e incubados a 25° C por 7 dias (fungos filamentosos) e 28° C por 48 horas (leveduras); o processo de repicagem em meio MA se repetiu até ser alcançada a purificação dos isolados. Após a obtenção das colônias puras, os isolados foram identificados e depositados na Coleção de Cultura de Microrganismos do Departamento de Ciência dos Alimentos (CCDCA) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), para preservação em criopreservação a -80° C.

### 2.3 Identificação de fungos filamentosos

A metodologia de identificação foi utilizada a depender do gênero de fungo filamentoso encontrado. Para o gênero *Penicillium*, o Manual de Pitt (2000), para o gênero *Fusarium*, o Manual de Leslie (2006), e para os demais gêneros, o Manual de Samson *et al.* (2010). Os isolados de *Penicillium* foram crescidos em meios de cultura Ágar Czapek Levedura (CYA) ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ : 1 g, extrato de levedura: 5 g, sacarose: 30 g, concentrado de Czapek: 10 mL, solução metálica: 1 mL, ágar: 30 g e água destilada: 1000 mL ) a 25° C e 37° C; e Ágar Extrato de Malte e Levedura (MEA) (extrato de malte: 20,0 g, peptona bacteriológica: 1,0 g, glicose: 30,0 g,



ágar: 20,0 g, água destilada: 1000 mL) a 25° C por um período de 7 dias para se obterem as características macroscópicas e microscópicas das colônias dos fungos. Para os demais gêneros foi utilizado o meio de cultura MEA a 25° C por 7 dias para realização da caracterização morfológica.

#### **2.4 Identificação de leveduras por MALDI-TOF MS**

Para o preparo das amostras e identificação das espécies no equipamento MALDI-TOF MS, foi empregado o método de extração conforme descrito por Bruker-Daltonics, sendo o mais adequado à identificação de leveduras (NORMAND *et al.*, 2020). Na metodologia, colônias puras foram crescidas em placas de Petri contendo meio Yeast Extract Peptone Glucose Ágar (YEPG) (extrato de levedura 10 g; peptona 20 g; glicose 20 g; ágar 15 g; água destilada 1000 mL; pH 3,5 ajustado com ácido cítrico) e incubadas a 28° C por 18 horas; com alça de inoculação de 10 µL, uma porção das células cultivadas foi transferida para microtubos estéreis contendo 300 µL de água grau HPLC, com o objetivo de gerar uma suspensão homogênea das células transferidas para os tubos; utilizou-se um agitador tipo vórtex por 30 segundos; 900 µL de etanol puro foi adicionado e a suspensão novamente homogeneizada, centrifugada a 13.000 rpm por 2 minutos para separação e remoção do líquido sobrenadante, deixando apenas a pastilha (pellet); 50 µL de ácido fórmico 70% e 50 µL de acetonitrila foram incorporados à pastilha, homogeneizados em agitador tipo vórtex e centrifugados a 13.000 rpm por 2 minutos. O líquido sobrenadante corresponde ao extrato das proteínas ribossomais.

Os extratos proteicos de todos os isolados foram enviados ao Laboratório de Pesquisa em Qualidade do Leite – Qualileite – da Universidade de São Paulo (USP/Pirassununga), para análise do perfil de proteínas ribossomais e possível identificação das espécies de leveduras através do equipamento MALDI flex target (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha).

Iniciando as análises, realizou-se a calibração do equipamento colocando diretamente na placa do MALDI flex target 0,7 µL de extrato proteico, em triplicata, da cepa *Escherichia coli* K12 anteriormente cultivada em meio Ágar Nutriente (extrato de carne 1,0 g; extrato de levedura 2,0 g; peptona 5,0 g; cloreto de sódio 5,0 g; ágar 15,0 g e água destilada 1000 mL), incubada a 37° C por 18 horas (LIMA, 2017); sequencialmente, na mesma placa 0,7 µL dos extratos proteicos das leveduras também em triplicata, todos os extratos (*E. coli* K12 e leveduras) foram recobertos com 1 µL da matriz de ácido  $\alpha$ -ciano-4-hidroxicinâmico (CHCA) dissolvido em 50% de acetonitrila e 2,5% de ácido trifluoroacético (TFA); após secagem da matriz, a placa-alvo foi movida para o espectrômetro de massa (PATEL, 2019) (FIGURA 3).

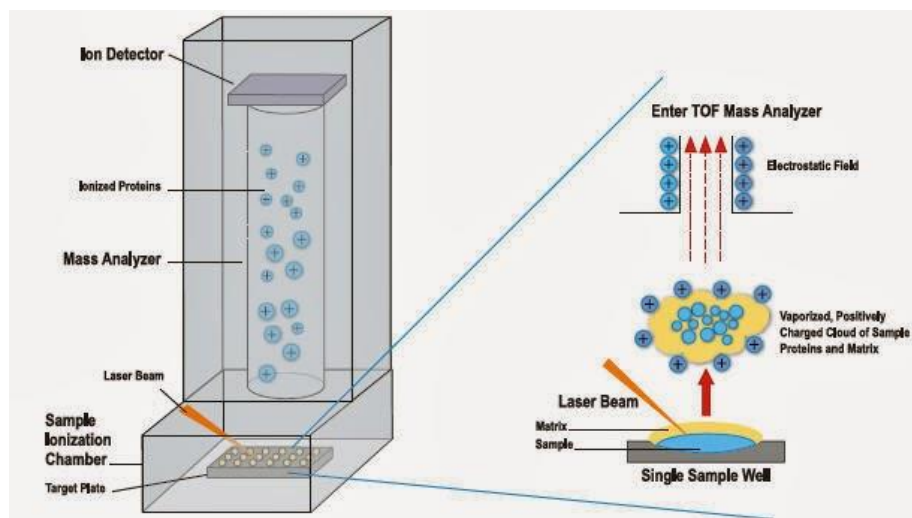
Figura 3 - Demonstração de etapas das análises no equipamento MALDI-TOF.



Fonte: Adaptado de Patel (2019).

Depois de inserir a placa no compartimento de ionização do espectrômetro, em cada ponto a ser analisado foi disparado um *laser* resultando na dessorção e ionização das moléculas da placa-alvo (FIGURA 4). A nuvem de moléculas ionizadas foi acelerada no analisador de massa de tempo de voo (um tubo de vácuo) em direção a um detector, um espectro de massa foi produzido e comparado em uma biblioteca de espectros pelo *software* 3.1 do MALDI Biotyper (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha), resultando na identificação da levedura (PATEL, 2019).

Figura 4 - Dessorção e ionização das moléculas no MALDI-TOF.



Fonte: Costa (2021).

## 2.5 Análises físico-químicas

O preparo das amostras foi realizado de acordo com os procedimentos da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2006). As amostras foram fracionadas, trituradas, homogeneizadas e então submetidas às análises físico-químicas em três repetições para determinação dos teores de umidade, gordura, cloreto de sódio, acidez, pH, frações nitrogenadas e índice de extensão e profundidade de proteólise.

As análises foram realizadas no Laboratório de Leite e Produtos Lácteos do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras, de acordo com os procedimentos da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2006) e da Instrução Normativa Nº 68, de 12 de dezembro de 2006, que define os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos (BRASIL, 2006).

### 2.5.1 Acidez

A determinação da acidez foi realizada através da análise de acidez titulável, que consiste na titulação da amostra de queijo com solução alcalina de hidróxido de sódio (0,1 mol/L), em presença do indicador fenolftaleína. Os resultados foram expressos em percentagem de ácido láctico em triplicata, utilizando 5 g da amostra homogeneizada com 50 mL de água destilada (AOAC, 2006).

### 2.5.2 Cloretos

A quantificação dos cloretos foi realizada através da análise de teor de NaCl. Para tal, serão empregados 5 g da amostra diluída em 20 mL de água destilada, titulada com solução 0,1 mol/L de nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ) em presença do indicador cromato de potássio, método de Mohr (AOAC, 2006).

### 2.5.3 pH

O pH dos queijos foi determinado em solução obtida pela homogeneização de alíquotas de 10 g de queijo em 20 mL de água destilada, utilizando-se pHmetro modelo mPA-210 (MS TECNOPON), acoplado com eletrodo de imersão (BRASIL, 2006).

#### 2.5.4 Umidade e extrato seco

Para a determinação do teor de umidade, uma alíquota de 5 g de queijos foi dessecada em estufa ( $102\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), procedendo-se a pesagens até peso constante (BRASIL, 2006). O extrato seco foi obtido através do seguinte cálculo:  $MS=100-U$ .

#### 2.5.5 Proteína

Os teores percentuais de nitrogênio total, nitrogênio solúvel em pH 4,6 ( $NS_{pH4,6}$ ) e nitrogênio solúvel em TCA a 12% ( $NS_{TCA12\%}$ ) (m/v) foram quantificados pelo método de *Kjeldahl*, compreendendo as etapas de digestão, destilação e titulação com solução padrão de ácido clorídrico 0,1 mol/L (BRASIL, 2006). O cálculo do teor de proteína total do queijo foi feito utilizando o fator 6,38 para o queijo (PEREIRA *et al.*, 2001).

#### 2.5.6 Índice de extensão e profundidade de proteólise

O índice de extensão de maturação (IEM) foi calculado de forma indireta, por meio da razão entre % de nitrogênio solúvel em pH 4,6 ( $NS_{pH4,6}$ ) e o nitrogênio total (NT), multiplicando-se o resultado por 100, de acordo com a fórmula abaixo:

$$IEM = NS_{pH4,6} / NT \times 100.$$

O índice de profundidade de maturação (IPM) também foi determinado de forma indireta, através da razão entre a % de nitrogênio solúvel em TCA 12% ( $NS_{TCA12\%}$ ) e o nitrogênio total (NT), multiplicando-se o resultado por 100 (WOLFSCHOON-POMBO; LIMA, 1989), de acordo com a fórmula abaixo:

$$IPM = NS_{TCA12\%} / NT \times 100.$$

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Microbiota do QMA do Serro

Através do método dependente de cultivo, obteve-se o total de 177 isolados, sendo 48 da amostra A (27,10%), 53 da amostra B (29,95%), 39 da amostra C (22,05%) e 37 da amostra D (20,90%). A população total e a população média de UFC/g do QMA de cada produtor/propriedade em dois diferentes meios de cultura são demonstradas na Tabela 2.

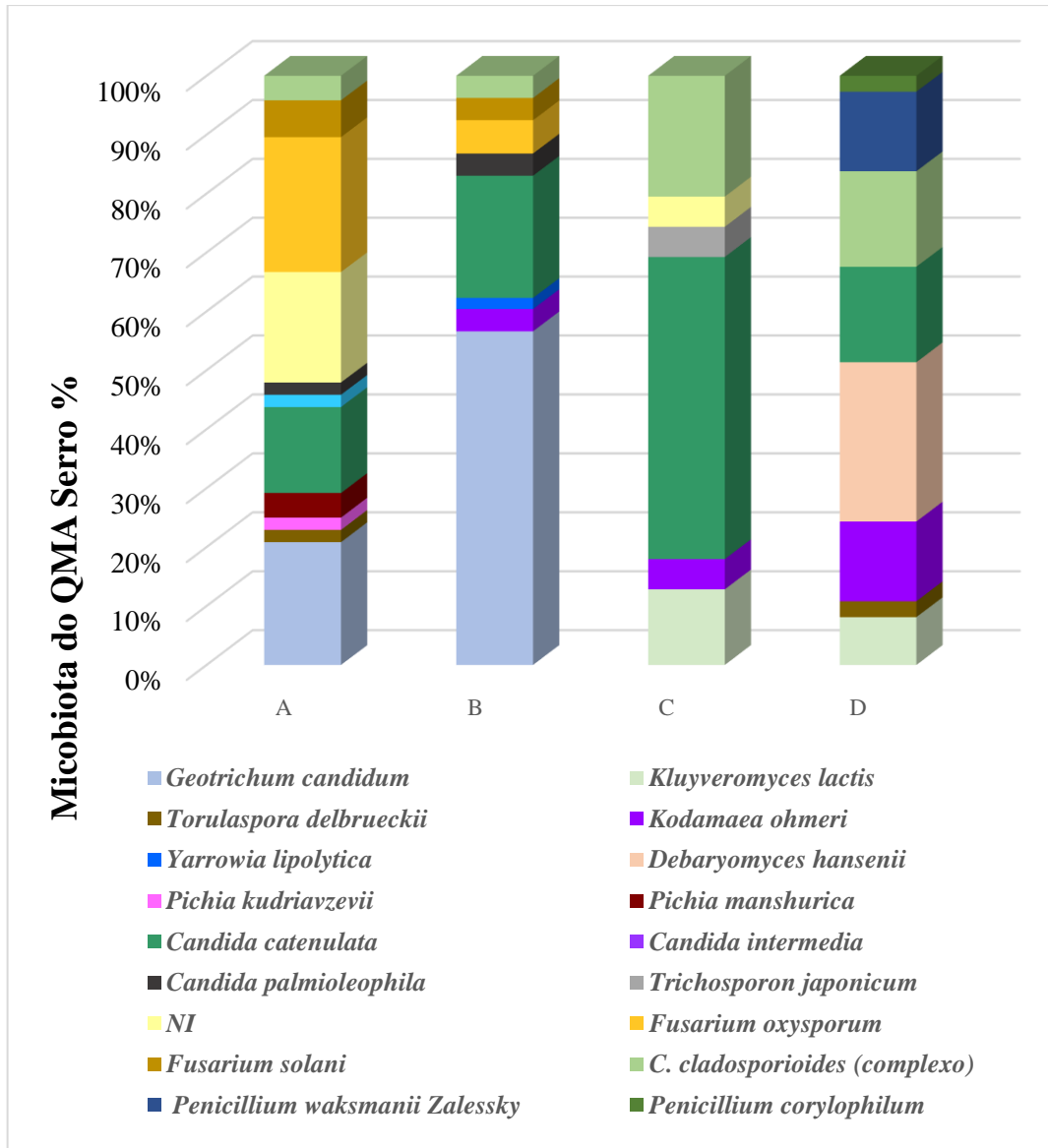
Tabela 2 - População total e média da microbiota nos meios DG18 e DRBC presente nas amostras de QMA.

<b>Amostras</b>	<b>Meios de Cultura</b>	<b>População Total por Meio (UFC/g)</b>	<b>Média Total (UFC/g)</b>
Produtor A	DG18	13,1 x10 <sup>6</sup>	13,4 x 10 <sup>6</sup>
	DRBC	13,7 x10 <sup>6</sup>	
Produtor B	DG18	14,3 x10 <sup>6</sup>	16,05 x 10 <sup>6</sup>
	DRBC	17,8 x10 <sup>6</sup>	
Produtor C	DG18	11,5 x10 <sup>6</sup>	13,3 x 10 <sup>6</sup>
	DRBC	15,1 x10 <sup>6</sup>	
Produtor D	DG18	9,1 x10 <sup>6</sup>	10,65 x 10 <sup>6</sup>
	DRBC	12,2 x10 <sup>6</sup>	

Fonte: Da autora (2022).

Após quantificar a população, isolar e purificar, foi realizada a caracterização dos morfótipos e a identificação morfológica dos fungos filamentosos; e posteriormente os isolados seguiram para análise em equipamento MALDI-TOF para possível identificação das espécies de leveduras quanto ao perfil proteômico. A microbiota identificada no QMA do Serro por propriedade está representada no gráfico (FIGURA 5).

Figura 5 - Ocorrência da micobiota no QMA do Serro.



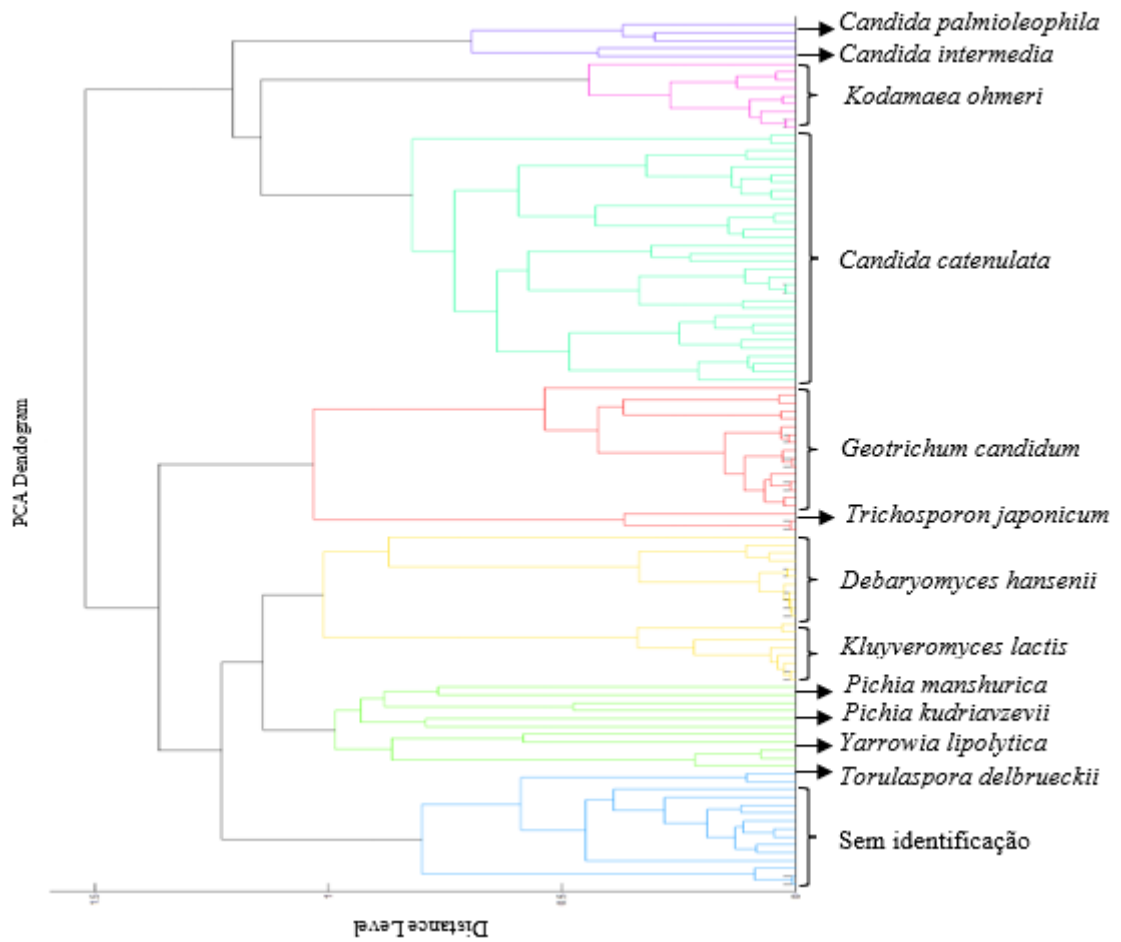
Fonte: Da autora (2022).

Com relação aos fungos, observou-se a espécie *Geotrichum candidum* em maior número; mesmo que não tenha ocorrido em todas as amostras, esteve presente naquelas que contêm mais isolados e foi predominante em uma delas, sendo: amostra A presente em 20,83% dos isolados e amostra B em 56,60%; o gênero *Cladosporium cladosporioides (complexo)* foi o segundo mais ocorrente e também mais frequente, visto que ocorreu em todas as amostras nas seguintes porcentagens: amostra A em 4,16%, B em 3,77%, C em 20,51% e D em 16,21%; depois *Fusarium* sp., que ocorreu nas amostras A em 29,16%, dos quais 28,91% *F. oxysporum* e 6,25% *F. solani*, e B com 9,43%, sendo 5,66% *F. oxysporum* e 3,77% *F. solani*; e o gênero *Penicillium* presente apenas na amostra D em 16,21% dos isolados, sendo 13,51% a espécie *P. waksmanii* Zalessky e 2,70% *P. corylophilum*.

Em relação às leveduras, o gênero *Candida* foi mais abundante e presente em todas as amostras, sendo: *Candida catenulata* nas amostras A em 14,58%, B em 20,75%, C em 51,28% e D em 16,21%; *Candida palmioleophila* nas amostras A em 2% e B em 3,77%; *Candida intermedia* na amostra A em 2%; depois a espécie *Debaryomyces hansenii* presente somente na amostra D em 27%; *Kodamaea ohmeri* nas amostras B em 3,77%, C em 5,12% e D em 13,51%; *Kluyveromyces lactis* nas amostras C em 12,82% e D em 8,1%; *Pichia manshurica* e *Pichia kudriavzevii* apenas na amostra A em 4,16% e 2%, respectivamente; *Trichosporon japonicum* na amostra C em 5,12%; *Torulasporea delbrueckii* nas amostras A em 2% e D em 2,7%; e a espécie *Yarrowia lipolytica* na amostra B em 1,88%. Não foi possível identificar 18,75% dos isolados da amostra A e 5,12% da amostra C.

Quanto ao resultado da identificação realizada em MALDI-TOF, somente *Geotrichum candidum* é considerado fungo, a espécie possui variações morfológicas e genéticas ainda discutidas (PERKINS *et al.*, 2020), sendo todas as outras identificações correspondentes a espécies de leveduras. Ao final das análises, as ferramentas integradas do pacote computacional MALDI Biotyper 3.1 construíram um dendrograma com o agrupamento das espécies para ilustrar a semelhança filogenética dessas espécies (FIGURA 6). Além disso, geraram os gráficos dos espectros de massa das proteínas pertencentes a cada espécie identificada (FIGURAS 7, 8, e 9).

Figura 6 - Dendograma das espécies agrupadas por perfil proteico.



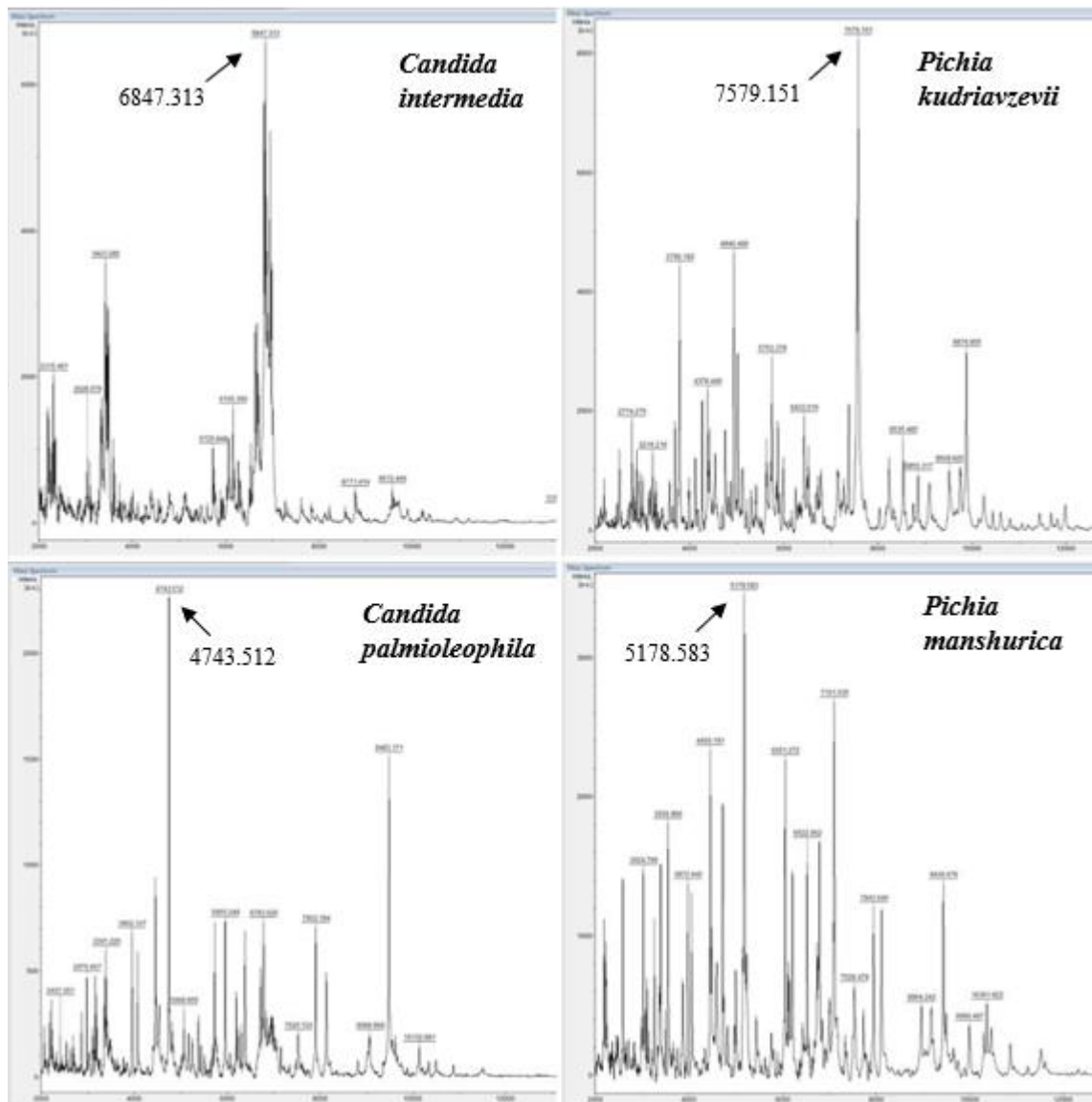
Fonte: Da autora (2022).







Figura 9 - Espectro de massas das espécies *C. intermedia*, *P. kudriavzevii*, *C. palmioleophila* e *P. manshurica*, gerado pelo MALDI Biotyper 3.1.



Nota: o eixo x representa a relação massa/carga das proteínas. O eixo y representa intensidade relativa. Os números acima de cada pico representam a massa das proteínas.

Fonte: Da autora (2023).

### 3.2 Análises físico-químicas

Os valores obtidos da caracterização físico-química estão expressos na Tabela 3, sendo 2 amostras de cada propriedade (A, B, C e D) do QMA do Serro.

Tabela 3 - Físico-química das amostras de QMA do Serro (média  $\pm$ , desvio padrão e o teste de Tukey).

Parâmetros	Amostras (miolo + casca triturados)			
	A	B	C	D
<b>pH</b>	5,93 $\pm$ 0,1463 <sup>a</sup>	5,90 $\pm$ 0,0467 <sup>a</sup>	5,20 $\pm$ 0,051 <sup>c</sup>	5,48 $\pm$ 0,059 <sup>b</sup>
<b>%Acidez</b>	1,42 $\pm$ 0,13 <sup>a</sup>	1,52 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	1,26 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>	1,24 $\pm$ 0,17 <sup>b</sup>
<b>%Gordura</b>	28,00 $\pm$ 0,89 <sup>d</sup>	30,00 $\pm$ 0,63 <sup>c</sup>	34,00 $\pm$ 0,64 <sup>a</sup>	32,00 $\pm$ 0,89 <sup>b</sup>
<b>%GES</b>	49,12 $\pm$ 1,85 <sup>ab</sup>	51,34 $\pm$ 1,15 <sup>a</sup>	48,61 $\pm$ 1,02 <sup>b</sup>	52,31 $\pm$ 2,30 <sup>a</sup>
<b>%NaCl</b>	2,12 $\pm$ 0,21 <sup>a</sup>	2,26 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	1,65 $\pm$ 0,15 <sup>b</sup>	2,36 $\pm$ 0,16 <sup>a</sup>
<b>%Umidade</b>	42,96 $\pm$ 1,41 <sup>a</sup>	41,56 $\pm$ 0,45 <sup>a</sup>	30,05 $\pm$ 0,79 <sup>b</sup>	38,78 $\pm$ 1,50 <sup>ab</sup>
<b>%NaCl Umi</b>	4,70 $\pm$ 0,54 <sup>b</sup>	5,17 $\pm$ 0,76 <sup>b</sup>	5,20 $\pm$ 0,91 <sup>ab</sup>	5,73 $\pm$ 0,48 <sup>a</sup>
<b>%Proteína</b>	29,06 $\pm$ 2,86 <sup>a</sup>	22,98 $\pm$ 0,86 <sup>b</sup>	23,23 $\pm$ 2,59 <sup>b</sup>	22,43 $\pm$ 1,24 <sup>b</sup>
<b>IEM</b>	26,09 $\pm$ 0,98 <sup>a</sup>	23,78 $\pm$ 0,32 <sup>b</sup>	24,85 $\pm$ 0,92 <sup>b</sup>	23,57 $\pm$ 0,42 <sup>b</sup>
<b>IPM</b>	20,84 $\pm$ 1,75 <sup>a</sup>	18,86 $\pm$ 0,66 <sup>ab</sup>	19,51 $\pm$ 0,92 <sup>ab</sup>	18,44 $\pm$ 1,55 <sup>b</sup>

Legenda: A, B, C, D = Amostras das propriedades; IEM = Índice de extensão de maturação; IPM = Índice de profundidade de maturação. Letras diferentes na mesma linha mostram diferença estatística ao nível de 5% de significância ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Fonte: Da autora (2023).

Para todos os parâmetros analisados, constatou-se diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as amostras de QMA das propriedades. A propriedade C comportou-se de maneira diferente nos aspectos %NaCl, %GES e %Umidade em relação às demais propriedades, enquanto a propriedade A comportou-se diferentemente nos parâmetros de %Proteína e IEM.

#### 4 DISCUSSÃO

Autores esclarecem que o tradicional modo de fabricação, não só do QMA, mas de todos os queijos artesanais, é caracterizado por fatores como elevada manipulação na produção e matéria-prima utilizada, que resultam em condições ideais ao desenvolvimento de diferentes comunidades microbianas. Além disso, a exposição ao ambiente interno das câmaras de maturação pode favorecer a deposição de esporos fúngicos, tornando suas estruturas vegetativas visíveis nas superfícies dos queijos pela formação de colônias (DIAS *et al.*, 2019; SARAIVA *et al.*, 2012).

Analisando as amostras de QMA das quatro propriedades, nota-se baixo índice de

diversidade de fungos filamentosos, tanto entre elas quanto individualmente, sendo possível sugerir que o período do ano (outono/inverno) que perdura de maio a agosto, com temperaturas amenas e baixa umidade, influencia nesse cenário.

O gênero *Cladosporium* foi o único presente em todas as amostras. Um trabalho realizado em indústria de queijos do tipo tropical demonstrou a predominância de *Cladosporium*, que foi encontrado no ar, em utensílios, no leite, no coalho, no fermento e no queijo após a salmoura e ao final da maturação; os gêneros *Penicillium* e *Fusarium* e a espécie *Geotrichum candidum* também foram verificados no ambiente, no coalho e no queijo (JAHN *et al.*, 2017).

*Geotrichum candidum* é uma espécie considerada desejável e sempre utilizada em queijos como Camembert, Brie e Tomme; a espécie forma micélio no queijo causando uma aparência aveludada (FURTADO, 2013, 2022); cabendo ressaltar que sua presença é permitida na legislação de QMA. Furtado (2013) esclarece que o *G. candidum* desempenha papel importante na maturação de muitos queijos macios e semiduros, por contribuir de forma positiva ao aroma e sabor. É sensível ao sal, cerca de 5% (na água do queijo) já o inibe completamente, assimilando lactato, degradando galactose, mas não lactose. Sendo lipolítico, produz metilcetonas, pentanona (sabor “frutado”), heptanona e nonanona (sabor “herbáceo”) (BOUTROU; GUÉGUEN, 2005), além de degradar caseína e peptídeos, incluindo os de sabor amargo, sintetizando amônia, produzindo desaminases que transformam os aminoácidos valina, leucina e fenilalanina nos álcoois secundários metil-2-propanol, metil-3-butanol e fenil-metanol, respectivamente (BERTUZZI *et al.*, 2018; FRÖHLICH-WYDER *et al.*, 2019; FURTADO, 2013). Boutrou e Guéguen (2005) atribuíram ao *G. candidum* as seguintes características sensoriais dos queijos: aspecto branco, aveludado e levemente úmido, sabor e aroma “levedado”, “fermentado” e “frutado”.

Souza *et al.* (2021) identificaram nos queijos artesanais do Serro e nas câmaras de maturação dessas queijarias uma diversidade de fungos, dentre eles as espécies *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* e *Geotrichum candidum*; e os gêneros *Cladosporium* sp. e *Penicillium* sp. Conforme Arruda e Beretta (2019), *Penicillium*, *Fusarium* e *Aspergillus* são gêneros de interesse em relação às micotoxinas, mas *Penicillium waksmanii* Zalessky e *Penicillium corylophilum* não são relatadas como espécies associadas a essa produção (PERRONE; SUSCA, 2017).

Também, outras pesquisas que combinam diferentes técnicas de identificação vêm constatando a ocorrência/prevalência dos mesmos gêneros de fungos do presente estudo como em queijos artesanais das regiões do Serro, Serrano e Canastra (ARAGÃO *et al.*, 2022;

PEREIRA *et al.*, 2019; SANTOS, 2021; SILVA, 2020).

Quanto às leveduras, *Candida catenulata* foi preponderante nas amostras. Observaram-se também as espécies *Candida palmioleophila* e *Candida intermedia*; efetivamente, esse gênero parece estar amplamente distribuído em diversos queijos artesanais brasileiros, como no queijo da região de Campo das Vertentes (VALENTE *et al.*, 2022), da Serra do Salitre (LIMA *et al.*, 2009), Canastra (SANTOS, 2021), Serro (SOUZA *et al.*, 2021), no queijo Colonial (MURLIKI, 2017), queijo Coalho (ALMEIDA, 2011) e queijo Serrano (WANDERLEY *et al.*, 2013). Garnier *et al.* (2017) salientam que uma larga heterogeneidade de *Candida* sp. é encontrada nos queijos do mundo todo, e ainda que seja considerado contaminante é importante para a maturação, além disso, infecções fúngicas invasivas em humanos relacionadas a alimentos é extremamente incomum e raras na literatura (BENEDICT; CHILLER; MODY, 2016). Em queijos Gouda e Danablu com prevalência de *Candida catenulata* e *Candida palmioleophila* (anteriormente descrita como *C. famata*) (JENSEN; ARENDRUP, 2011), isoladas do ambiente, utensílios, do leite cru e soro, ficou evidenciado o potencial fermentativo da espécie com padrões de assimilação da glicose, lactato, galactose e citrato. Segundo os autores, leveduras fermentadoras influenciam no aroma do queijo pela formação de álcool e limitam a acidificação devido ao aproveitamento do ácido láctico, atuando na textura desses queijos (TEMPEL; JAKOBSEN, 1998; WELTHAGEN; VILJOEN, 1998). Gardini *et al.* (2006) descreveram padrão de comportamento semelhante para *Candida intermedia* no queijo Pecorino; outra característica da *C. intermedia* é sua atividade antimicrobiana satisfatória para os patógenos *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (YOUNIS *et al.*, 2017).

Andrade *et al.* (2017) reforçam que as leveduras são abundantes nos QMA por estarem associadas ao soro-fermento, leite, salmoura e ambiente, havendo relatado principalmente *Kodamaea ohmeri*, *Debaryomyces hansenii*, *Torulapozzia delbrueckii* e *Kluyveromyces lactis* como as espécies mais frequentes. Miranda (2020) verificou nos Queijos Minas Artesanal do Serro as espécies *Yarrowia lipolytica*, *Kluyveromyces lactis*, *Trichosporon japonicum* e *Kodamaea ohmeri*. Em estudo semelhante com queijos da mesma região, Cardoso *et al.* (2015) descreveram achados similares, além de *Pichia* sp. Espécies equivalentes às relatadas também aparecem em estudos com queijos de diversos países, elencando os de Portugal, EUA, Holanda, França, Itália, Dinamarca, Suíça, Alemanha, Turquia e Espanha (BANJARA *et al.*, 2015; FRÖHLICH-WYDER *et al.*, 2019), corroborando o que foi identificado nesta pesquisa.

Em diferentes tipos de queijos, macios e semimacios, duros e semiduros maturados, leveduras são consideradas influências positivas para os aspectos das qualidades sensoriais. *D. hansenii*, *K. ohmeri*, *T. delbrueckii* e *K. lactis* são ácidos e halotolerantes, possuem elevada

capacidade de degradar lactose, propriedade fundamental para a produção de qualquer queijo. Essas espécies produzem etanol e ácidos carboxílicos como produtos da fermentação da lactose e, a partir destes, sintetizam acetato e decanoato de etila, ésteres relacionados a descritores sensoriais como “frutado e floral”; devido à sua volatilidade, esses compostos podem reduzir a percepção do odor desagradável de alguns ácidos graxos livre (ANDRADE *et al.*, 2017; CARDOSO *et al.*, 2015; FLEET, 2011; FRÖHLICH-WYDER *et al.*, 2019).

*D. hansenii* é capaz de utilizar simultaneamente lactose, ácidos láctico e cítrico, e em menor proporção degradar proteínas e lipídeos. Isolada do queijo Danbo dinamarquês e inoculada em ágar queijo, produziu principalmente aldeídos 2-metilpropanal, 2-metilbutanal e 3-metilbutanal e álcoois butanol e propanol, associados a sabores “maltados”, de “chocolate” e “amêndoa”, podendo ser pungentes em altas concentrações e muito frutados em baixas (CARDOSO *et al.*, 2015; SORENSEN *et al.*, 2011; ZHENG; SHI; WANG, 2021).

Realizando a fermentação do soro de queijo com inóculo misto de *T. delbrueckii* e *K. lactis* isoladas de QMA da Canastra para análise dos compostos voláteis aromáticos, Andrade *et al.* (2017) constataram entre os compostos mais abundantes os álcoois 3-metil-1-butanol associados ao sabor “adocicado e fresco”, 2-metil-1-butanol ao sabor “alcóolico” e 2-fenil etanol ao sabor “floral”, além de éster decanoato de etila.

*Yarrowia lipolytica* está presente em alguns tipos de alimentos com alto teor de gordura e proteína, em virtude de suas fortes atividades lipolíticas e proteolíticas (NICAUD, 2012). Sorensen *et al.* (2011), inoculando a espécie em ágar preparado com queijo Danbo, confirmaram diversos metabólitos associados à *Y. lipolytica*, dentre os principais estão os sulfetos dimetildissulfeto (DMDS) e dimetiltrissulfeto (DMTS), furanos pentilfurano e hexilfurano, cetonas de cadeia curta propanona e butanona, ainda os alcanos pentano, heptano e octano, os benzenos metilbenzeno, etilbenzeno e estireno, além do terpeno limoneno, moléculas que podem produzir aromas e sabores de “alho”, “acetona”, “madeira”, “caramelo” e “casca de laranja” (ZHENG *et al.*, 2021).

A espécie *Pichia manshurica*, que pode ser encontrada como *Pichia membranifaciens* (KURTZMAN *et al.*, 2011), ocorre com frequência em queijos Feta da Grécia (RANTSIOU *et al.*, 2008) e queijos tradicionais da Turquia (YILDIZ *et al.*, 2021) e, embora sua influência nesses queijos não tenha sido elucidada, sua aplicação como agente de biocontrole na produção de alimentos e bebidas, e contra fitopatógenos em videiras, vem sendo pesquisada (BELDA *et al.*, 2017; SANTOS; MARQUINA, 2004). Já a *Pichia kudriavzevii*, dominante no queijo oriental Kazak, exibiu eficiente atividade proteolítica, mesmo em ambiente ácido com altas concentrações de sal e lactato, gerando especialmente etanol, 3-metilbutanol, acetato de etila e

ácido acético, que no queijo podem promover forte sabor de “aguardente”, “herbáceo”, “pimenta” e “cebola” (ZHENG *et al.*, 2018, 2021).

Outro benefício associado não só à *P. kudriavzevii*, mas também a algumas cepas de *K. lactis*, *D. hansenii*, *T. delbrueckii*, *Candida* sp., *Y. lipolytica* e *K. ohmeri* obtidas de queijos e alimentos fermentados, é o potencial probiótico, funcional à saúde humana (ADEGBOYE *et al.*, 2014; JEONG *et al.*, 2022; LI *et al.*, 2021; MIRANDA, 2020; ZIVKOVIC *et al.*, 2022).

Miranda (2020) verificou que *Trichosporon japonicum* isolado do soro de QMA apresenta boa atividade lipolítica. Mendoza *et al.* (2014) e Ozturk (2015) confirmaram a mesma característica para espécie isolada comumente de embutidos cárneos fermentados e curados. Ainda, *T. japonicum* mostrou produzir um composto glicolipídico ativo na inibição contra fungos patogênicos (SENER *et al.*, 2011), porém, os relatos sobre suas vias metabólicas e influências sensoriais ainda não estão claros na literatura.

Diversos autores esclarecem que as várias capacidades enzimáticas e vias bioquímicas da microbiota exibidas juntas estão invariavelmente relacionadas à formação de aroma, sabor e textura, demonstrando seu relevante papel nos processos de fermentação, desacidificação e maturação dos queijos. O que está associado, dentre outros fatores, à riqueza, equitabilidade e diversidade de espécies da comunidade microbiana, como as mesmas interagem entre si e com o ambiente (ANDRADE *et al.*, 2017; BANJARA *et al.*, 2015; BAS *et al.*, 2019; SILVA, 2020).

Por isso, as condições do clima, topográficas, manejo e alimentação do rebanho leiteiro, bem como o sistema produtivo, são outros elementos que atuam nas características de cada QMA.

Segundo Pereira (2019), a principal causa da variabilidade físico-química em queijos artesanais se dá pela composição do leite obtido, composição essa que pode ser influenciada pela genética e alimentação dos animais. A umidade relativa e temperatura ambiente, ou da câmara de maturação, também constituem fatores de interferência. Moreno (2013) esclarece que a oscilação dentro de índices qualitativos aceitáveis está relacionada à diferenciação na qual cada produtor de Queijo Minas Artesanal coloca em prática seu acervo cultural e sua experiência para controlar fatores ambientais e os inerentes ao próprio queijo.

A umidade do QMA é um parâmetro físico-químico preconizado por lei através do Decreto nº 44.864, de 01 de agosto de 2008, e da Portaria nº 2.033, de 23 de janeiro de 2021 do IMA. Essas legislações não se referem ao período mínimo de maturação, entretanto, determinam que a umidade em base úmida para comercialização do produto seja de até 45,9% (MINAS GERAIS, 2008). A Portaria nº 146, de 07 de março de 1996 do MAPA, que “Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos”, faz a classificação



dos queijos de acordo com sua umidade; dessa forma, os queijos do Serro podem ser classificados como queijos de média umidade (conhecidos como queijo de massa semidura), com umidade entre 36% e 45,9% (BRASIL, 1996).

Nas amostras, os teores de umidade encontrados variaram de 30,05% a 42,96%, com diferença significativa ( $p < 0,05$ ). Apenas o queijo da propriedade C obteve umidade média abaixo de 36%, sendo classificado como de baixa umidade, e os queijos das propriedades A, B e D se enquadram na classificação de queijos de média umidade. Por se tratar de um processo artesanal, a umidade e todos os outros parâmetros tornam-se difíceis de padronizar. No entanto, a porcentagem de umidade das amostras das 4 propriedades atende à legislação (MINAS GERAIS, 2008).

Costa Júnior *et al.* (2014), em estudo sobre maturação de QMA nos períodos seco e chuvoso, explicam que, no período seco, os queijos podem ser classificados tanto de baixa como média umidade, segundo regulamento técnico de identidade e qualidade (RTIQ) de queijos brasileiros (BRASIL, 2006). Os resultados obtidos neste trabalho são semelhantes aos encontrados em estudos referentes à caracterização físico-química de queijos artesanais do Serro, em que Oliveira *et al.* (2018) encontraram nos QMA valor médio de umidade de 41,20%. Do Vale *et al.* (2018) observaram que queijos produzidos na região do Serro maturados em umidade relativa (UR) de 85% e temperatura de 20 °C foram classificados como queijos de média umidade após 31 dias de maturação, devido à exposição de elevada umidade relativa do ar na câmara de maturação.

Com relação à acidez, os percentuais estiveram entre 1,24% e 1,52%, havendo diferença significativa ( $p < 0,05$ ), números semelhantes aos encontrados por Do Vale *et al.* (2018) no QMA do Serro maturado sob condições controladas, em que se obtiveram valores médios de 1,45%. Ferraz (2016) encontrou níveis de acidez dos queijos artesanais da Serra da Canastra, variando de 0,53% a 1,01%, inferiores aos obtidos neste estudo.

A acidez é proveniente da produção do ácido lático, produto da degradação da lactose pelas bactérias ácido-láticas que influenciam diretamente no pH e consequentemente no crescimento de diversos microrganismos e nas suas atividades enzimáticas durante a maturação (LAVASANI *et al.*, 2011; MARTINS *et al.*, 2015).

Pesquisadores descrevem que as variações encontradas em diferentes estudos se devem à contagem de microrganismos fermentadores da lactose presentes no leite cru, da disparidade no processo produtivo, especialmente nas etapas de prensagem e salga, além da quantificação de bactérias lácticas presentes no “pingo”, visto que é um inóculo natural composto por uma microbiota nativa e não padronizado (DO VALE, 2018; FIGUEIREDO, 2015).

Como o volume de “pingo” adicionado ao leite pode oscilar entre as propriedades, diferentes concentrações de microrganismos fermentadores da glicose estão presentes na massa do queijo, causando alterações na intensidade e velocidade de fermentação, no teor de lactose transformada em ácido láctico, resultando na acidez desenvolvida. É comum nas regiões produtoras de QMA, dentre elas a do Serro, a utilização de maior quantidade de fermento endógeno no período da seca, compensando os efeitos adversos das temperaturas mais baixas sobre o processo de fermentação (LEMPK 2018; LIMA *et al.*, 2021; MARTINS, 2015).

Os valores de pH encontrados nas amostras das quatro propriedades variaram entre 5,20 e 5,93, notando-se diferença significativa ( $p < 0,05$ ). Esses resultados foram superiores aos encontrados por Figueiredo *et al.* (2015), que obtiveram pH de 4,69 a 5,31 em QMA produzidos em 5 propriedades da região do Serro, e por Chaves *et al.* (2016), em que o pH estava entre 4,96 e 5,48 no QMA da mesma região com períodos de maturação distintos. Souza *et al.* (2021), no estudo realizado em três propriedades produtoras de QMA também do Serro, os valores de pH estiveram na faixa de 5,77 a 7,07.

Em queijos, o pH pode variar em função de aspectos, como o tipo, a dose e a atividade dos fermentos lácticos. Nos queijos fabricados a partir de leite cru e “pingo” é provável que essa disparidade esteja relacionada ao fato desses queijos não serem fabricados com uso de culturas “starters” industrializadas, que são mais ativas (FERNANDES, 2018). Leveduras, que também fazem parte da microbiota do queijo, possuem a capacidade de aumentar o pH da massa, consumindo o ácido presente, e estão, portanto, vinculadas aos níveis de pH (LEMPK, 2018).

Cabrini (2017) relacionou o aumento do pH no QMA da região de Campo das Vertentes ao crescimento de leveduras e fungos filamentosos nos queijos com consequente produção de compostos aminados e desacidificação. Intervalos de pH entre 4,85 e 5,20 favorecem o início e avanço normal da maturação, e à medida que a proteólise progride há um aumento desses números devido à formação de compostos alcalinos, resultado da degradação proteica (FOX *et al.*, 2000).

Outros estudos confirmam que valores de pH em torno de 5,5 a 6,5 viabilizam a ação de proteases produzidas por fungos e leveduras responsáveis pelas características de sabor, aroma e textura do queijo (LEMPK, 2018; MORENO, 2013).

Para o conteúdo de gordura dos queijos produzidos nas quatro propriedades, os teores foram entre 28,0% e 34%, demonstrando diferença significativa ( $p < 0,05$ ), dados próximos aos descritos por Souza *et al.* (2021), com valores entre 27,5% e 33% de gordura. Do Vale *et al.* (2018) encontraram teor lipídico médio de 26,14% ao longo da maturação, Machado *et al.* (2004) encontraram valores na ordem de 29,22%, todos com queijos do Serro. Já Lima *et al.*

(2021) relataram 32,62% de gordura nos queijos produzidos no Triângulo Mineiro aos 22 dias de maturação.

Quanto à gordura no extrato seco (GES), as porcentagens encontradas foram entre 48,61% e 52,31%, com diferença significativa ( $p < 0,05$ ), classificando todas as amostras como queijos gordos (45,0% e 59,9% de gordura no extrato seco), de acordo com a Portaria nº 146/1996 (BRASIL, 1996). Resultados semelhantes foram descritos por Brumano (2016), com índices de GES entre 45% e 59,9%, e Oliveira *et al.* (2013), que ao analisarem queijos artesanais da região do Serro encontraram média da GES em 52,95%.

A respeito das determinações de gordura, é importante mencionar que o componente que naturalmente pode sofrer maior variação no leite é a gordura, isso em função de genética, idade, fase da lactação, ambiente e, particularmente, nutrição dos animais, somado ao fato do leite utilizado na fabricação de QMA não sofrer nenhum tipo de padronização (DO VALE *et al.*, 2018; PERES, 2019).

Considerando os teores de NaCl e NaCl na umidade se observa diferença significativa para os dois parâmetros ( $p < 0,05$ ), enquanto os valores de NaCl foram de 1,65% a 2,36%, NaCl na umidade foi de 4,71% a 5,73%, resultados próximos aos expostos por Oliveira *et al.* (2013), que notaram valores médios de NaCl de 1,77% e 1,86% para QMA do Serro e Canastra, respectivamente. Lima *et al.* (2021) encontraram teores médios de sal de 2,69% no QMA do Triângulo Mineiro, e Sales (2015) de 2,91% em QMA da região de Araxá.

Conforme Martins *et al.* (2015), a salga nos queijos da região do Serro é comumente realizada com sal grosso em sua superfície. Ao término do tempo desse processo, permanece uma porção remanescente do sal nessa superfície, que é então recolhido para ser utilizado em outra fabricação. Como o procedimento é feito manualmente e sem mensurações, resulta em adição de diferentes quantidades de sal na superfície dos queijos, podendo ser uma das causas da variação dos níveis de cloretos das amostras analisadas (MACHADO *et al.*, 2004).

Moreno (2013), avaliando queijos de produtores cadastrados da região do Campo das Vertentes, concluiu que houve significativa variação de percentual do parâmetro de sal na umidade dentro de um mesmo lote e de um período para outro. Lempk (2013) e Soares (2014) também relataram a ausência de padronização nas porcentagens de cloreto de sódio em queijos artesanais.

Importante destacar que o controle de salga dos queijos é essencial para a condução de uma boa maturação, pois em maior ou menor proporção influi no crescimento de determinados microrganismos, podendo selecionar aqueles que são sensíveis ao sal ou halotolerantes. Quantidades entre 0,5% e 2,5% de sal na massa do queijo são consideradas normais e

desejáveis, já que regulam, mas não inibem, o processo de lipólise e proteólise (COSTA, 2004; FERNANDES, 2018; LIMA *et al.*, 2021).

A concentração de proteínas nos queijos das quatro propriedades variou entre 22,43% e 29,06%, com diferença significativa entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ). Costa Júnior *et al.* (2009) obtiveram teor médio de proteína de 21,19% em queijos da Canastra. Os resultados encontrados nesta pesquisa estão semelhantes aos verificados por Oliveira *et al.* (2018), na região do Serro, Lempk (2013), na microrregião de Montes Claros, e por Sales (2015), na região de Araxá. Já Martins *et al.* (2015) observaram variações no teor de proteína de Queijo Minas Artesanal da microrregião do Serro entre 27,6% e 37,0% (período da seca) e entre 25,2% e 35,3% (período chuvoso), em amplo estudo feito com queijos fabricados com pingo e maturados à temperatura ambiente nos tempos de 8 a 63 dias.

A proteína é o composto sólido dos queijos que sofre maior influência no processo de fabricação, particularmente por sua composição química e seu papel na obtenção do coalho. Ocorre que alterações de alguns parâmetros na tecnologia de produção aliadas à falta de padronização, como temperatura do leite no processo de coagulação, corte da massa e “mexedura”, podem afetar a retenção das proteínas na coalhada. Esses são fatores subjetivos nas produções artesanais, uma vez que são dependentes do tempo entre ordenha e fabricação dos queijos, avaliação “do ponto” da coalhada pelos produtores rurais, variabilidade entre os agentes coagulantes utilizados, dentre outros fatores. Quando a massa é quebrada antes do ponto ocorre perda de proteína pelo soro, impactando não somente o rendimento, mas também a maturação, comprometendo atributos organolépticos de textura e sabor (FURTADO, 2022; LIMA *et al.*, 2021).

O índice de extensão de maturação (IEM), ou índice de extensão de proteólise (IEP), consiste na estimativa da quantidade de caseína clivada em peptídeos. Esse índice inclui peptídeos de alta e média massa molecular, identificados em função da proteólise primária, que é potencializada pela ação da quimosina e plasmina, sofrendo ação do coalho. Por outro lado, o índice de profundidade de maturação (IPM), ou índice de profundidade de proteólise (IPP), indica a hidrólise desses peptídeos de alto e médio peso molecular, em peptídeos de baixo peso molecular, aminoácidos, oligopeptídeos, aminas, ácidos carboxílicos e amônia, sendo influenciado principalmente pelas enzimas do fermento utilizado (DO VALE *et al.*, 2018; KHATTAB *et al.*, 2019; MARTINS, 2006).

Para o IEM, foram encontrados valores entre 23,57% e 26,09%, com diferença significativa ( $p < 0,05$ ), valores superiores aos encontrados por Costa Júnior *et al.* (2014), com

índice de 13,2% no QMA do período chuvoso e 10,8% do período seco, e descritos por Oliveira *et al.* (2018), com 17,03% de índice de extensão em queijos do Serro com 24 dias de maturação.

Pereira (2019), pesquisando o QMA de Campo das Vertentes maturado em condições controladas, detectou percentis para IEM de 26,31% quando maturados à temperatura ambiente, 27,50% quando maturados a 18 °C, UR de 80% e 30,89% maturados a 12 °C e UR de 95%, aos 21 dias de maturação, mostrando a interferência de umidade e temperatura sobre a proteólise.

O índice de profundidade de maturação (IPM) variou de 18,44% a 20,84% entre as propriedades, havendo diferença significativa entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ), números acima dos expostos por Costa Júnior *et al.* (2014), que encontram 8,0% no período chuvoso e 5,9% no período seco, e aos de Oliveira *et al.* (2018) que obtiveram 17,03%. Já Pereira (2019) obteve IPM de 17,39% no queijo quando maturado à temperatura ambiente, 16,29% quando maturado a 18 °C e UR de 80%, e 14,55% maturado a 12 °C e UR de 95%, aos 21 dias de maturação.

O queijo elaborado na propriedade A obteve resultados médios superiores aos demais nos parâmetros que avaliam a proteólise, o que em conformidade com Moreno (2013) pode ser em função do maior teor de proteína e menor teor de gordura encontrados nesses queijos. Além do mais, notou-se nessas amostras menor espessura em relação às de outras propriedades.

A profundidade de maturação é resultado da ação proteolítica do fermento láctico sobre peptídeos liberados, sobretudo pelo coalho, produzindo aminoácidos e compostos de baixo peso molecular. Logo, está relacionada com a atividade proteolítica do fermento láctico e a microbiota da maturação. Brumano (2016); Dores e Ferreira (2012), reforçam que o "pingo" apresenta um balanceamento adequado de bactérias e leveduras, que vão se adaptando ao meio e criando determinadas condições que estimulam a diminuição de algumas espécies, enquanto outras começam a predominar, o que gera um ecossistema complexo de interação na matriz responsável pelas propriedades sensoriais e excentricidade desses queijos.

## 5 CONCLUSÃO

Na avaliação da composição físico-química houve diferença estatística em todos os parâmetros dentre as amostras; essas variações nos teores ocorrem naturalmente devido ao processo manual, miscigenação das raças e alimentação dos animais, o que caracteriza a tipicidade dos queijos.

A microbiota presente nas amostras de QMACF da região do Serro identificada no presente estudo é composta por *Geotrichum candidum*, *Candida catenulata*, *Candida palmiophila*, *Candida intermedia*, *Debaryomyces hansenii*, *Kodamaea ohmeri*,

*Kluyveromyces lactis*, *Pichia manshurica*, *Pichia kudriavzevii*, *Trichosporon japonicum*, *Torulaspora delbrueckii*, *Yarrowia lipolytica*, *Cladosporium* sp., *Fusarium oxysporium*, *Fusarium solanii*, *Penicillium waksmanii* Zalessky e *Penicillium corylophilum*. A ocorrência de diferentes espécies entre as amostras corrobora a premissa de que a diversidade é inerente à propriedade e fundamental por produzir diversos metabólitos que influenciam no sabor, aroma e textura dos queijos, sendo essencial para a identidade e qualidade de cada produto.

## REFERÊNCIAS

ADEGBOYE, B. D. *et al.* Probiotic potentials of yeasts isolated from Nunu (African fermented milk) and Wara (African soft cheese). **Adv. Food Sci**, v. 36, p. 115-124, 2014.

ALMEIDA, A. C. **Caracterização de leveduras isoladas de queijo coalho**. 2011. 66p. Dissertação (Mestrado em Biologia de Fungos) – Universidade federal de Pernambuco, Recife, 28 de janeiro de 2011.

ANDRADE, R. P. *et al.* Yeasts from Canastra cheese production process: Isolation and evaluation of their potential for cheese whey fermentation. **Food Research International**, v. 91, p. 72-79, 2017.

ANTÔNIO, M. B. De; BORELLI, B. A importância das bactérias lácticas na segurança e qualidade dos queijos Minas artesanais. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 75, n. 3, p. 204-221, 2020.

AOAC. **Official methods of analysis of the Association Analytical Chemists. 18.ed.** Gaithersburg, Maryland, 2006.

ARAGÃO, M. de O. P. **Diversidade de fungos filamentosos e leveduras em Queijo Minas Artesanal das microrregiões do Serro e da Serra da Canastra**. 2018. 118 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2018.

ARAGÃO, M. O. *et al.* Fungal community and physicochemical profiles of ripened cheeses from the Canastra of Minas Gerais, Brazil. **Journal of Food Science and Technology**, v. 59, n. 12, p. 4685-4694, 2022.

ARAÚJO FERNANDES, G. A. *et al.* Diversidade e potencial tecnológico de leveduras isoladas de queijo de coalho produzido em Pernambuco. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 4, p. e30010414139-e30010414139, 2021.

ARRUDA, A. D.; BERETTA, A. L. R. Z. Micotoxinas e seus efeitos à saúde humana: revisão de literatura. **RBAC**, v. 51, n. 4, p. 286-9, 2019.

BALLESTEROS, C. *et al.* Microbiological, biochemical and sensory characteristics of artisanal and industrial Manchego cheeses. **Food Control**, v. 17, n. 4, p. 249-255, 2006.

- BANJARA, N. *et al.* Diversity of yeast and mold species from a variety of cheese types. **Current microbiology**, v. 70, n. 6, p. 792-800, 2015.
- BAS, D. *et al.* Production of enzymemodified cheese (EMC) with ripened white cheese flavour: I-effects of proteolytic enzymes and determination of their appropriate combination. **Food and Bioproducts Processing**. v. 117, p. 287-301, 2019.
- BELDA, I. *et al.* The biology of *Pichia membranifaciens* killer toxins. **Toxins**, v. 9, n. 4, p. 112, 2017.
- BENEDICT, K.; CHILLER, T. M.; MODY, R. K. Invasive fungal infections acquired from contaminated food or nutritional supplements: a review of the literature. **Foodborne pathogens and disease**, v. 13, n. 7, p. 343-349, 2016.
- BERTUZZI, A. S. *et al.* Detection of volatile compounds of cheese and their contribution to the flavor profile of surface-ripened cheese. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 17, n. 2, p. 371-390, 2018.
- BORELLI, B. M. *et al.* Yeast populations associated with the artisanal cheese produced in the region of Serra da Canastra, Brazil. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 22, n. 11, p. 1115-1119, 2006.
- BOUTROU, R.; GUÉGUEN, M. Interests in *Geotrichum candidum* for cheese technology. **International journal of food microbiology**, v. 102, n. 1, p. 1-20, 2005.
- BRANDIELLI, M. C. *et al.* Physicochemical parameters and lactic acid bacteria count during ripening of Brazilian regional cheese manufactured with the addition of autochthonous cultures. **Food Science and Technology**, v. 13, n. 7, p. 243-259, 2019.
- BRASIL. MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos. **Instrução Normativa n. 68, de 12 de dezembro de 2006**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 14 dez. 2006.
- BRASIL. **Portaria nº 146, de 7 de março de 1996**. Aprovar os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. Brasília, 1996. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/suasa/regulamentos-tecnicos-de-identidade-e-qualidade-de-produtos-de-origem-animal-1/rtiq-leite-e-seus-derivados>. Acesso em 23 de janeiro de 2023.
- BRUMANO, E. C. D. C. **Impacto do tipo de fermento endógeno na qualidade e tempo de maturação de queijo Minas artesanal produzido em propriedades cadastradas pelo IMA (Instituto Mineiro de Agropecuária) na região do Serro-MG**. 2016. 136 p. Tese – (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2016.
- CABEZAS, L. *et al.* Comparison of microflora, chemical and sensory characteristics of artisanal Manchego cheeses from two dairies. **Food Control**, v. 18, n. 1, p. 11-17, 2007.

CABRINI, C. C. **Influência do fermento natural sobre as características microbiológicas, físico-químicas e perfil de textura do queijo minas artesanal da região Campo das Vertentes**. 2017. 58p. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais. Montes Claros, 2017.

CARDOSO, V. M. *et al.* The influence of seasons and ripening time on yeast communities of a traditional Brazilian cheese. **Food Research International**, v. 69, p. 331-340, 2015.

CHAVES, A. C. S. D. *et al.* Características físicas e químicas de queijo minas do Serro com diferentes períodos de maturação. 2016. 6p. **Congresso brasileiro de ciência e tecnologia de alimentos**, 2016. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/1057868>. Acesso em 27 de janeiro de 2023.

COSTA JÚNIOR, L. C. G. *et al.* Variações na composição de queijo Minas artesanal da Serra da Canastra nas quatro estações do ano. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 64, n. 371, p. 13-20, 2009.

COSTA JÚNIOR, L. C. G.; M. V. J.; M. F. A. R. *et al.* Maturação do Queijo Minas Artesanal da Microrregião Campo das Vertentes e os efeitos dos períodos seco e chuvoso. **Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes**, v. 69, n. 2, p. 111-120, 2014.

COSTA, P. S. B. **Análise de custos do MALDI-TOF (espectrometria de massas) em comparação com a tecnologia Vitek 2 Compact em hospital de referência terciária**. 2021. 52p. Dissertação (Mestrado em Gestão de saúde) – Universidade de São Paulo. São Paulo, 2021.

COSTA, R. G. B.; LOBATO, V. ABREU, L. R. MAGALHÃES, F. A. R. Salga de queijos em salmoura: uma revisão. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora**, v.59, n. 336, p. 41-49, 2004.

DIAS, A. K. C. *et. al.* Assessment of Potential Antifungal of new Synthetic Compounds Organotin on Penicillium Fungi Growing on Cheese Ripening Chambers. **International Journal of Advanced Engineering Research and Science**. v. 6, n. 4, 2019.

DIAS, A. S. Micotoxinas em produtos de origem animal. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 5, p. 1-15, 2018.

DO VALE, R. C. *et. al.* Influence of the type of ferment in the physicochemical characteristics of cheese Minas artesanal do Serro-Minas Gerais, matured in controlled conditions. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 73, n. 2, p. 82-90, 2018.

DORES, M.T.; FERREIRA, C.L.L.F. Queijo Minas Artesanal, tradição centenária: ameaças e desafios. **Revista Brasileira de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.2, p.26-34, 2012.

EMATER MG - Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Minas Gerais. **Caracterização da Região do Serro como produtora de queijo Minas artesanal**. 2002.



FERNANDES, L. E. **Desenvolvimento de tecnologia de queijo tipo Minas artesanal da microrregião do Campo das Vertentes para produção industrial com emprego de leite pasteurizado**. 2018. 112p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados) – Universidade Federal de Juiz de Fora. Juiz de Fora, 2018.

FERRAZ, W. M. **Queijo Minas artesanal da Serra da Canastra: influência do ambiente sobre a maturação**. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais, Rio Pomba, 2016.

FIGUEIREDO, S. P. *et al.* Characteristics of raw milk and artisanal cheese produced in Serro, Minas Gerais state, Brazil, in different months. **Archives of Veterinary Science**, v. 20, n. 1, p. 68-82, 2015.

FLEET, G. H. Yeast spoilage of foods and beverages. In: **The yeasts**. Elsevier, p. 53-63, 2011.

FOX, P. F. *et al.* **Fundamentals of cheese science**. Gaithersburg: Aspen, 2000.

FRÖHLICH-WYDER, M.T. *et al.* Cheese yeasts. **Yeast**, v. 36, n. 3, p. 129-141, 2019.

FURTADO, M. M. **Queijos Especiais**. 1ª edição. São Paulo. Ed. Setembro 2013. 276p.

FURTADO, M. M. **Receituário Brasileiro de Queijos**. 1ª edição. São Paulo. Ed. Ativaonline 2022. 331p.

GARDINI, F. *et al.* Characterization of yeasts involved in the ripening of Pecorino Crotonese cheese. **Food Microbiology**, v. 23, n. 7, p. 641-648, 2006.

GARNIER, L. *et al.* Diversity and control of spoilage fungi in dairy products: Na update. **Microorganisms**, v. 5, n. 3, p. 42, 2017.

GONZALES-BARRON, U. *et al.* Behavior of *Listeria monocytogenes* in the presence or not of intentionally-added lactic acid bacteria during ripening of artisanal Minas semi-hard cheese. **Food microbiology**, v. 91, p. 103545, 2020.

IMA - Instituto Mineiro de Agropecuária. **Portaria n° 546 de 29 de outubro de 2002**. Identifica a Micro Região do Serro. Belo Horizonte, Brasil.

INPI – Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Indicação geográfica: Regulamento para indicação de procedência Serro para o queijo Minas artesanal. 2011. Disponível em: [https://www.gov.br/inpi/pt-br/servicos/indicacoes-geograficas/arquivos/cadernos-de-especificacoes-tecnicas/copy\\_of\\_Serro.pdf](https://www.gov.br/inpi/pt-br/servicos/indicacoes-geograficas/arquivos/cadernos-de-especificacoes-tecnicas/copy_of_Serro.pdf). Acesso em 20 de dezembro de 2022.

IPHAN – Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional. **Identidade Mineira**. Disponível em: <http://portal.iphan.gov.br/pagina/detalhes/612>. Acesso em 17 de novembro de 2022.

JAHN, R. C. *et al.*, Deterioração fúngica em indústria de queijo tipo tropical. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 8, n. 1, p. 16-25, 2017.

JENSEN, R.H.; ARENDRUP, M.C. *Candida palmiophila*: Characterization of a Previously Overlooked Pathogen and Its Unique Susceptibility Profile in Comparison with Five Related Species. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 49, n. 2, p. 549-556, 2011.

JEONG, D. M. *et al.* Genomic features, aroma profiles, and probiotic potential of the *Debaryomyces hansenii* species complex strains isolated from Korean soybean fermented food. **Food Microbiology**, v. 105, p. 104011, 2022.

KAMIMURA, B. A. *et al.* Large-scale mapping of microbial diversity in artisanal Brazilian cheeses. **Food microbiology**, v. 80, p. 40-49, 2019.

KHATTAB, A. R.; GUIRGUIS, H. A.; TAWFIK, S. M. *et al.* Cheese ripening: A review on modern technologies towards flavor enhancement, process acceleration and improved quality assessment. **Trends Food Sci. Technol.**, v. 88, p. 343-360, 2019.

KURTZMAN, C. P.; FELL, J. W.; BOEKHOUT, T. **The yeasts: a taxonomic study**. 5<sup>a</sup> edição. Ed. Elsevier, 2011. 2079p.

LAVASANI, A. R. S. *et al.* Changes in physicochemical and organoleptic properties of traditional Iranian cheese Lighvan during ripening. **International journal of dairy technology**, v. 65, n. 1, p. 64-70, 2012.

LEMPK, M. W. **Caracterização físico-química, microbiológica e tecnológica do queijo artesanal da microrregião de Montes Claros-MG**. 2013. 91p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Universidade Federal de Minas Gerais. Montes Claros, 2013.

LEMPK, M. W. **Influência do inóculo rala sobre as características físico-químicas, microbiológicas e reológicas do Queijo Minas Artesanal do Serro MG**. 2018. 86p. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2018.

LESLIE, J.F.; Summerell, B.A. **The Fusarium Laboratory Manual**. Ames:Blackwell Publishing, 2006.

LI, S. *et al.* Probiotic potential of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA)-producing yeast and its influence on the quality of cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 6, p. 6559-6576, 2021.

LIMA, C. D. L. C. *et al.* Lactic acid bacteria and yeasts associated with the artisanal Minas cheese produced in the region of Serra do Salitre, Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, p. 266-272, 2009.

LIMA, C. F. *et al.* **Estudo do tempo de maturação do Queijo Minas Artesanal do Triângulo Mineiro: análises microbiológicas e físico-químicas**. 2021. 114p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, 2021.

LUIZ, L. M. P. *et al.* Isolation and identification of lactic acid bacteria from Brazilian Minas artisanal cheese. **CyTA-Journal of Food**, v. 15, n. 1, p. 125-128, 2017.

- MACHADO, E. C. *et al.* Características físico-químicas e sensoriais do queijo Minas artesanal produzido na região do Serro, Minas Gerais. **Food Science and Technology**, v. 24, p. 516-521, 2004.
- MARGALHO, L. P. *et al.* Brazilian artisanal cheeses are rich and diverse sources of nonstarter lactic acid bacteria regarding technological, biopreservative, and safety properties—Insights through multivariate analysis. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 9, p. 7908-7926, 2020.
- MARTINS, J. M. **Características físico-químicas e microbiológicas durante a maturação do queijo Minas artesanal da Região do Serro**. 2006. 158 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.
- MARTINS, J. M. *et al.* Determining the minimum ripening time of artisanal Minas cheese, a traditional Brazilian cheese. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, p. 219-230, 2015.
- MENDOZA, L. M. *et al.* Diversity and enzymatic profile of yeasts isolated from traditional llama meat sausages from north-western Andean region of Argentina. **Food research international**, v. 62, p. 572-579, 2014.
- MINAS GERAIS. Secretaria de estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento – SEAPA. **Resolução N° 42, 27 de dezembro 2022**. Reconhece e define sobre Queijo Minas Artesanal de Casca Florida (QMACF). Belo Horizonte, 27 de dezembro 2022. Diário do executivo, p 7. Disponível em: <http://jornal.iof.mg.gov.br/xmlui/handle/123456789/276763>. Acesso em 13 de janeiro de 2023.
- MINAS GERAIS. **Decreto nº 44.864, de 1º de agosto de 2008**. Altera o Regulamento da Lei nº 14.185, de 31 de janeiro de 2002, que dispõe sobre o processo de produção de queijo Minas artesanal. Minas Gerais, Belo Horizonte, 02 ago. 2008.
- MIRANDA, N. M. Z. de. **Caracterização probiótica de leveduras isoladas de queijo Minas artesanal**. 2020.58p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Diamantina, 2020.
- MORENO, V. J. **Caracterização física e físico-química do queijo Minas artesanal da microrregião Campo das Vertentes**. 2013. 132p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados) – Universidade Federal de Juiz de Fora. Juiz de Fora, 2013.
- MURLIKI, J. B. **Caracterização físico-química e da microbiota fúngica em queijo colonial**. 2017. Disponível em: [https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/176496/Poster\\_53680.pdf](https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/176496/Poster_53680.pdf). Acesso em 23 de janeiro de 2023.
- NICAUD, J.-M. *Yarrowia lipolytica*. **Yeast**, v. 29, n. 10, p. 409-418, 2012.
- NOGUEIRA, M. C. L.; LUBACHEVSKY, G.; RANKIN, S. A. A study of the volatile composition of Minas cheese. **LWT-Food Science and Technology**, v. 38, n. 5, p. 555-563, 2005.

NORMAND, A. C. *et al.* Optimization of MALDI-ToF mass spectrometry for yeast identification: a multicenter study. **Medical Mycology**, v. 58, n. 5, p. 639-649, 2020.

OLIVEIRA, D. F. *et al.* Caracterização físico-química de queijos Minas Artesanal produzidos em diferentes microrregiões de Minas Gerais. **Oikos: Família e Sociedade em Debate**, v. 24, n. 2, p. 185-196, 2013.

OLIVEIRA, S. P. P. *et al.* Physical-chemical characteristics of artisanal Minas cheese of the Serro with pingo and with rala. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 73, n. 4, p. 235-244, 2018.

OZTURK, I. Presence, changes and technological properties of yeast species during processing of pastirma, a Turkish dry-cured meat product. **Food Control**, v. 50, p. 76-84, 2015.

PATEL, R. A moldy application of MALDI: MALDI-ToF mass spectrometry for fungal identification. **Journal of Fungi**, v. 5, n. 1, p. 4, 2019.

PEREIRA, D. A. **Efeito de diferentes condições de maturação nas características do Queijo Minas artesanal**. 2019. 100 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2019.

PEREIRA, D. B. C. *et al.* **Físico-química do leite e derivados: métodos analíticos. 2. ed., rev. e ampliada**. Juiz de Fora: Oficina de Impressão Gráfica e Editora, 2001. 234p.

PEREIRA, M. N. *et al.* Micobiota do Queijo Artesanal Serrano produzido em Santa Catarina, Brasil. **Revista de Ciências Agroveterinárias**. v. 18, n. 4, 2019.

PERES, F. D. **Características de qualidade do queijo Minas artesanal do Serro produzido e maturado no verão**. 2019. 84p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Diamantina, 2019.

PERKINS, V. *et al.* Phenotypic and genetic characterization of the cheese ripening yeast *Geotrichum candidum*. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 737, 2020.

PERRONE, G.; SUSCA, A. *Penicillium* species and their associated mycotoxins. **Mycotoxigenic Fungi: Methods and Protocols**, p. 107-119, 2017.

PERRY, K. SP. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química nova**, v. 27, n. 2, p. 293-300, 2004.

PINEDA, A. P. A. *et al.* Overview on Diversity and Microbiological Safety of Brazilian Artisanal Cheeses. **Preprints**, 2020.

PITT, J. I. **A laboratory guide to common *Penicillium* species**, Sydney. **Food Science Australia**, 2000. 187 p.

RANTSIOU, Kalliopi *et al.* Microflora of Feta cheese from four Greek manufacturers. **International Journal of Food Microbiology**, v. 126, n. 1-2, p. 36-42, 2008.

- 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. 107 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.
- SAMSON, R. A. *et al.* **Food and indoor fungi.** CBS laboratory manual series 2. **CBSFungal Biodiversity Centre**, 2010.
- SANTOS, A.; MARQUINA, D. Killer toxin of *Pichia membranifaciens* and its possible use as a biocontrol agent against grey mould disease of grapevine. **Microbiology**, v. 150, n. 8, p. 2527-2534, 2004.
- SANTOS, M. A. de A. **Characterization of Artisanal Minas Cheese produced in the region of Serra da Canastra: fungal diversity and volatile compounds profile.** 2021. 74 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2021.
- SARAIVA, C. B. *et al.* Aspectos ambientais da produção do queijo minas artesanal. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 67, n. 388, p. 41-47, 2012.
- SENER, L.; RIBAS, R.; VALENTE, P. Optimization of the cultivation conditions for the production of an antimicrobial compound by *Trichosporon japonicum* QU139. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 9, n. 1, 2011.
- SILVA, J. M. **Micobiota core de queijos de leite cru produzidos na região da Serra da Canastra.** 2020. 63 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2020.
- SOARES, D. B. **Caracterização físico-química e microbiológica do queijo minas artesanal da região de Uberlândia-MG.** 2014. 124p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, 2014.
- SOBRAL, D. *et al.* Nisin reduces the *Staphylococcus aureus* count without changing the characteristics of artisanal Minas cheese from Araxá. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 74, n. 1, p. 1-12, 2019.
- SOBRAL, D. *et al.* Principais defeitos em queijo Minas artesanal: uma revisão. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 72, n. 2, p. 108-120, 2017.
- SORENSEN, L. M. *et al.* Flavour compound production by *Yarrowia lipolytica*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Debaryomyces hansenii* in a cheese-surface model. **International dairy journal**, v. 21, n. 12, p. 970-978, 2011.
- SOUZA, T. P. *et al.* Mycobiota of Minas artisanal cheese: Safety and quality. **International Dairy Journal**, v. 120, p. 105085, 2021.
- TEMPEL, T. V. D.; JAKOBSEN, M. Yeasts associated with Danablu. **International Dairy Journal**, v. 8, n. 1, p. 25-31, 1998.

- VALENTE, G. L. C. **Caracterização microbiológica e físico-química de água, leite cru, soro-fermento, swabs de superfícies e queijo Minas artesanal da região de Campo das Vertentes ao longo da maturação nas estações de seca e chuva.** 2022. 110p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2022.
- WANDERLEY, L. *et al.* Occurrence and pathogenicity of *Candida* spp. in unpasteurized cheese. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 11, n. 2, 2013.
- WELTHAGEN, J. J.; VILJOEN, B. C. Yeast profile in Gouda cheese during processing and ripening. **International journal of food microbiology**, v. 41, n. 3, p. 185-194, 1998.
- WOLFSCHOON-POMBO, A. F.; LIMA, A. Extensão e profundidade de proteólise no queijo Minas Frescal. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.44, n.261-266, p.50-54, 1989.
- YILDIZ, M. *et al.* Microbiological characteristics and identification of yeast microbiota of traditional mouldy civil cheese. **International Dairy Journal**, v. 116, p. 104955, 2021.
- YOUNIS, G. *et al.* Antimicrobial activity of yeasts against some pathogenic bacteria. **Veterinary world**, v. 10, n. 8, p. 979, 2017.
- ZACARCHENCO, P. B.; TRENTO, F. K. H.; SPADOTI, L. M.; GALLINA, D. A.; SILVA, A. T. Bolors e Leveduras em Queijos. **TecnoLat-Expresso**, Ano II, n. 8, p. 92-99, 2011.
- ZHENG, X. *et al.* Potential characterization of yeasts isolated from Kazak artisanal cheese to produce flavoring compounds. **MicrobiologyOpen**, v. 7, n. 1, p. e00533, 2018.
- ZHENG, X.; SHI, X.; WANG, B. A review on the general cheese processing technology, flavor biochemical pathways and the influence of yeasts in cheese. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 703284, 2021.
- ZIVKOVIC, M. *et al.* Evaluation of probiotic potential of yeasts isolated from traditional cheeses manufactured in Serbia and Croatia. **Journal of Intercultural Ethnopharmacology**, v. 4, n. 1, p. 12, 2015.