

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DO SUDESTE DE MINAS GERAIS – CAMPUS RIO POMBA**

**JULIANO PINHEIRO ARRIGHI PENA
LUZIA DAS DORES DE ASSIS
SAMUEL PINTO SANTOS**

**EFEITO DO USO DE BIOPOLÍMEROS NAS CARACTERÍSTICAS
MICROBIOLÓGICAS DE QUEIJOS MINAS ARTESANAIS DO SERRO**

RIO POMBA

2017

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca Jofre Moreira – IFET/RP

Bibliotecária: Ana Carolina Souza Dutra CRB 6 / 2977

P397e

Pena, Juliano Pinheiro Arrighi.

Efeito do uso de biopolímeros nas características microbiológicas de queijos Minas artesanais do Serro. / Juliano Pinheiro Arrighi Pena, Luzia das Dores de Assis e Samuel Pinto Santos. – Rio Pomba, 2017.

xi, 23f.

Orientador: Prof. José Manoel Martins.

Trabalho de Conclusão (Graduação) - Graduação em Tecnologia em Laticínios - Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais - Campus Rio Pomba.

1. Queijo artesanal. 2. Película comestível. 3. Maturação. I. Assis, Luzia das Dores. II. Santos, Samuel Pinto. III. Martins, José Manoel. IV. Título.

CDD:637.3

JULIANO PINHEIRO ARRIGHI PENA

LUZIA DAS DORES DE ASSIS

SAMUEL PINTO SANTOS

**EFEITO DO USO DE BIOPOLÍMEROS NAS CARACTERÍSTICAS
MICROBIOLÓGICAS DE QUEIJOS MINAS ARTESANAIS DO SERRO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas – Campus Rio Pomba, como requisito parcial para a conclusão do Curso de Graduação em Tecnologia em Laticínios para a obtenção do título de Tecnólogo em Laticínios.

Orientador: José Manoel Martins.

Coorientadores: Wellingta Cristina de Almeida do Nascimento Benevenuto.

Aurélia Dornelas de Oliveira Martins.

RIO POMBA

2017

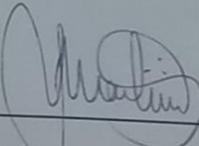
**JULIANO PINHEIRO ARRIGHI PENA
LUZIA DAS DORES DE ASSIS
SAMUEL PINTO SANTOS**

**EFEITO DO USO DE BIOPOLÍMEROS NAS CARACTERÍSTICAS
MICROBIOLÓGICAS DE QUEIJOS MINAS ARTESANAIS DO SERRO**

Trabalho de Conclusão apresentado ao
Campus Rio Pomba, do Instituto Federal
de Educação Ciência e Tecnologia do
Sudeste de Minas Gerais, como parte das
exigências do curso em Tecnologia em
Laticínios para a obtenção do título de
Tecnólogo em Laticínios.

APROVADA: 08 de dezembro de 2017.

Prof.^a. Aurélia Dornelas de O. Martins. Prof.^a. Wellington C. A. do N. Benevenuto.



Prof. José Manoel Martins.

Orientador e Presidente da Banca Examinador

Dedicatória

Dedicamos este trabalho a todos que de alguma forma estiveram presentes durante toda a execução do mesmo, pois sem o apoio de vocês não seria possível sua conclusão.

Juliano Pinheiro Arrighi Pena

Luzia das Dores Assis

Samuel Pinto Santos

AGRADECIMENTO

Primeiramente queria agradecer aos meus amigos e parceiros deste trabalho, Luzia Assis e Samuel Santos, e dizer a vocês que foi um grande desafio que enfrentamos juntos, que não foi fácil estarmos onde estamos agora, muito obrigado pela parceria.

Agradeço aos Professores José Manoel, Wellington e Aurélia pelos ensinamentos, apoio durante as análises, pela paciência, aos puxões de orelha e pelo companheirismo, sou imensamente grato por tê-los como professores e orientadores.

Quero agradecer a Jéssica Dornelas por ter dedicado seu tempo para nos ajudar durante nossas análises que foi suma importância para nós.

Agradeço a melhor técnica de Laboratório, Renata Campos, que sempre demonstrou disposição e muita paciência, e que sem sua presença para nos socorrer seria praticamente impossível finalizar este trabalho.

Ao companheiro Luan Rodrigo, a Thaiza Teixeira e também a Laíse Freitas e Beatriz Souza, agora só pergunto uma coisa a vocês, que TCC foi esse?

À minha família pelo apoio de sempre, e por acreditar que este dia chegaria.

À Professora Larissa Trevizano por acreditar no meu potencial e por sempre ter incentivado, a nunca desistir dos meus objetivos, você foi um divisor de água durante a minha graduação.

À Cooperativa de Produtores Rurais do Serro, por terem doado os queijos e ao Instituto Politécnico da Guarda, Portugal pelas películas.

A todos meus amigos de longa data e do Instituto que não cabe aqui citá-los, pois são muitos, mas levarei essas amizades por toda minha vida, pelos bons momentos compartilhados.

A todos meus amigos de turma Cristiane Freitas, Hélio Ricardo, Deiverson Pacheco, Alania Coelho, muito obrigado pela amizade de todos vocês.

Ao Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia Campus Rio Pomba, pela oportunidade de realizar minha graduação, utilizar toda sua estrutura para que realizássemos nosso trabalho.

Juliano Pinheiro Arrighi Pena

AGRADECIMENTO

Agradeço primeiramente a Deus por permitir a conclusão desta importante etapa em minha vida e por me colocar ao Seu lado, mesmo nas vezes em que pensei ou até mesmo fraquejei.

Ao Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais – Campus Rio Pomba pela estrutura e a cooperativa de produtores rurais do Serro que nos disponibilizou os queijos para a realização do trabalho.

Aos professores e orientadores José Manoel, Wellingta e Aurélia por nos confiar esta missão, pelas broncas dadas, puxões de orelha que serviram de incentivo para sempre seguir em frente, e ensinamentos a mim passados durante a realização do trabalho e curso. A Professora Larissa Trevizano minha imensa gratidão pelo incentivo para sempre seguir em frente, pela paciência e pelos bons conselhos a mim dedicados.

Aos meus pais Rosângela Maria e Caetano Pedro, aos quais tenho profunda gratidão e admiração, que apesar de todas as dificuldades por nós enfrentadas sempre se mostraram o caminho certo para continuar e nunca soltaram a minha mão. Tantas vezes precisei e sempre estavam a minha disposição para, me apoiar, sem vocês eu não conseguiria o meu muito obrigada. Aos meus irmãos Fabiano, Cleonice, Cleuza, Cristina, Fabrício e Márcia que sempre estiveram ao meu lado sempre apoiando e dando força para que eu sempre seguisse em frente. A minha madrinha Dorinha, pela paciência, broncas, risadas e carinho para comigo os meus sinceros agradecimentos.

Aos meus queridos sobrinhos Carlos Júnior, Edinaldo Miguel, Melissa Kelli, Kheizimara em especial para minha querida Vitoria Aparecida (*in memorian*).

Aos meus amigos companheiros de trabalho Juliano Arrighi, Samuel Santos que tenho imensa gratidão e admiração, que apesar das discussões, erros acertos e brincadeiras, sempre se mostraram disponível para ajudar e aturar nervosismos, estresses repentinos. Passamos por dificuldades imensas, erros indiscutíveis e também momentos de raiva vontade de largar tudo e sair correndo, mais superamos e agora estamos colhendo, juntos, os frutos do nosso trabalho. E hoje deixo os meus sinceros agradecimentos.

Aos antigos e velhos colegas de turma Luan Rodrigo, Hélio Ricardo, Cristiane Freitas, Alania Coelho, Deiverson Pacheco, Gabriel Reis, Thaiza Teixeira, que apesar das discussões e raivas por nós passadas também tivemos bons momentos de diversões e risadas. A Laíse Freitas, Beatriz Lurdes, Jéssica Dornelas, Leila Alves e demais amigos que sempre estiveram ao meu lado. Agradeço também o João Beline Xavier, Sandro Teófilo, que sempre estiveram dispostos a ajudar.

A técnica de laboratório Renata Campos que sempre esteve disposta a ajudar e ensinar. Você foi fundamental para a realização deste trabalho. A todos professores do departamento de Ciência e tecnologia de alimentos e funcionários dos laticínios Lindo Vale.

Luzia das Dores de Assis

AGRADECIMENTO

Primeiramente queria agradecer a Deus, pois foi importante para guiar a minha caminhada durante estes anos de curso.

Quero agradecer em especial aos meus amigos e parceiros de TCC Juliano Arrighi e Luzia das Dores, pois para o projeto ser realizado foi necessário um bom ambiente de trabalho e o interesse de todos, e que isto trouxe brincadeiras e responsabilidades que vou levar para minha vida como bons momentos.

Agradeço aos professores José Manoel, Wellington e Aurélia que como orientadores do projeto nos ajudaram muito, além deles, o professor Maurílio que me ensinou muito e mostrou que o trabalho gera resultado.

Quero agradecer o professor Roselir, que de forma que ficou marcado em minha vida, fez com que um grande erro meu acadêmico, fez me evoluir como pessoa e estudante.

Agradeço aos meus pais, Noêmia e Ivan, meus irmãos Leandro e Genilton pelo apoio moral e financeiro, Além deles meus padrinhos Geraldo e Lula que durante 2 anos me ajudaram financeiramente.

Aos auxiliares de laboratório do departamento de alimentos pela ajuda de todos dias de análises, e quero citar em especial uma grande amiga Patrícia, que durante muito tempo me aguentou e me ajudou.

Aos meus amigos de república, Alberto, Diego, Daniel, Hugo, Ronan e Wellyngton pela convivência de anos.

À Cooperativa de Produtores Rurais do Serro, por terem doado os queijos e ao Instituto Politécnico da Guarda, Portugal pelas películas.

Ao Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia Campus Rio Pomba.

Samuel Pinto Santos

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

José Alencar

EFEITO DO USO DE BIOPOLÍMEROS NAS CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DE QUEIJOS MINAS ARTESANAIS DO SERRO

Resumo

Juliano Pinheiro Arrighi Pena

Luzia das Dores de Assis

Samuel Pinto Santos

Dezembro, 2017

Orientador: Professor José Manoel Martins.

O queijo Minas artesanal do Serro é um produto de grande importância para a cultura e economia mineira, envolvendo a manutenção de milhares de famílias no campo. Por ser produzido a partir do leite cru, a maturação deste queijo é uma das principais etapas para a sua segurança, o que tem chamado a atenção de pesquisadores a respeito do tipo de tratamento que o mesmo poderá receber, com a utilização inclusive de películas bioprotetoras em sua casca para maior proteção contra contaminantes. O objetivo deste projeto foi avaliar o efeito do uso de biopolímeros superficiais nas características microbiológicas de queijo Minas artesanal do Serro, durante a maturação. Os biopolímeros foram utilizados em solução: konjac (1%) e quitosano (3%), além do controle. As análises microbiológicas de mesófilos aeróbios, fungos filamentosos e leveduras, número mais provável de coliformes totais e termotolerantes, estafilococos sp. e bactéria lácticas. As amostras foram doadas pela Cooperativa dos Produtores Rurais do Serro, proveniente do mesmo lote de fabricação de um único produtor, em 3 repetições, sendo codificadas e reservadas para análises durante o período de maturação (3, 10, 17 e 24 dias após fabricação), em umidade relativa do ar variando entre 77% a 82% em temperatura de $13^{\circ}\text{C} \pm 1$. Não houve influência dos tratamentos ($p > 0,05$) em nenhum dos grupos microbianos estudados, ao contrário do tempo de maturação dos queijos que influenciou ($p < 0,05$) as contagens de mesófilos aeróbios, estafilococos sp. e fungos filamentosos e leveduras no qual observou-se aumento das médias das contagens ($p < 0,05$) a partir do 10º dia de maturação dos queijos, mantendo-se constante nos demais dias de armazenamento. Observou-se que aos 17 dias de maturação, o tratamento 3 diferiu apenas do tratamento 1, com uma contagem menor ($p < 0,05$) de *Lactobacillus* sp., sendo o único tempo para T3 que também apresentou menor contagem ($p < 0,05$) durante a maturação. Para o grupo de Coliformes totais, somente o tempo 17 dias de maturação foi aquele que apresentou maior contagem ($p < 0,05$) em relação aos demais tempos. Assim, os biopolímeros não alteraram as contagens de nenhum dos grupos microbianos, devendo os mesmos serem estudados com outras hipóteses, por exemplo variando as suas concentrações e combinações entre si.

Palavras-chave: konjac, quitosano, maturação.

EFFECT OF THE USE OF BIOPOLYMERS IN THE MICROBIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF CHEESES ARTISANAL MINAS OF SERRO

Abstract

Juliano Pinheiro Arrighi Pena

Luzia das Dores de Assis

Samuel Pinto Santos

December, 2017

Adviser: Professor José Manoel Martins

The artisanal Minas cheese of the Serro is a product of great importance to the culture and mining economy, involving the maintenance of thousands of families in the country. Because it is produced from raw milk, this cheese maturation is one of the main steps for your security, what has caught the attention of researchers regarding the type of treatment you may receive, through the use of bioprotetoras in films including your bark p ARA greater protection against contaminants. The objective of this project was to evaluate the effect of the use of surface microbiological characteristics polymers of artisan Minas cheese of Serro, during maturation. The polymers were used in solution: konjac (1%) and Chitosan (3%) of the control. The microbiological analysis of aerobic mesophilic, filamentous fungi and yeasts, most probable number termotolerantes coliforms, estafilococos sp. and lactic acid bacteria. The specimens were donated by the cooperative of rural producers of Serro, from the same batch of manufacture of a single producer, in 3 repetitions, being encoded and reserved for analysis during the maturation period (3, 10, 17 and 24 days after fabrication), in relative humidity ranging between 77% and 82% at temperature of $13^{\circ}\text{C} \pm 1$. There was no influence of the treatments ($p > 0.05$) in any of the microbial groups studied, unlike the time of ripening of the cheeses that influenced ($p < 0.05$) aerobic mesophilic counts, estafilococos sp. and filamentous fungi and yeasts in which it was observed increase of the averages of the counts ($p < 0.05$) from the 10th day of maturation of the cheese, remaining constant in the remaining days of storage. It was observed that the 17 days of maturation, 3 treatment differed only 1 treatment, with a minor ($p < 0.05$) of *Lactobacillus* sp., being the only time for T3 which also showed lower count ($p < 0.05$) during maturation. For the total Coliform group, only the time 17 days of maturation was the one that showed the highest score ($p < 0.05$) compared to other times. Thus, the biopolymers did not alter the counts of any of the microbial groups, and should be studied with other hypotheses, varying for example their concentrations and combinations.

Keywords: konjac, quitosano, maturação.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Análise de variância (ANOVA) das contagens microbiológicas (UFC/g) de queijos Minas artesanais da região do Serro durante a maturação.....	13
Tabela 2 – Média das contagens de mesófilos aeróbios, <i>Staphylococcus</i> sp. e fungos filamentosos e leveduras de queijos Minas artesanais da região do Serro durante a maturação.....	14
Tabela 3 – Análise de variância (ANOVA) das contagens <i>Lactococcus</i> sp. e <i>Lactobacillus</i> sp. (log UFC/g) de queijos Minas artesanais da região do Serro revestidos com biopolímeros durante a maturação.....	16
Tabela 4 – Média das contagens de <i>Lactobacillus</i> sp. de queijos Minas artesanais da região do Serro durante a maturação.....	16
Tabela 5 – Análise de variância (ANOVA) das contagens de coliformes totais e termotolerantes (NMP/g) de queijos Minas artesanais da região do Serro durante a maturação.....	17
Tabela 6 – Média das contagens de coliformes totais de queijos Minas artesanais da região do Serro durante a maturação.....	18

SUMÁRIO

Dedicatória	i
Agradecimentos	ii
Resumo	iii
Abstract	ix
Lista de tabelas	x
Sumário	xi
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Queijos Minas Artesanal do Serro	3
2.2. Processo de fabricação	4
2.3. Microrganismos de interesse em queijos artesanais	4
2.3.1. <i>Staphylococcus sp.</i>	4
2.3.2. Grupo coliformes	5
2.3.3. Bactérias lácteas	6
2.3.4. Fungos filamentosos e leveduras	7
2.4. Maturação dos queijos	7
2.5. Biopolímeros	8
3. Objetivos	10
3.1. Objetivo Geral	10
3.2. Objetivos específicos	10
4. Material e métodos	11
4.1. Definição e coleta de amostras	11
4.2. Preparo de películas	11
4.2.1. Konjac	11
4.2.2. Quitosano	12
4.3. Análises Microbiológicas	12
4.4. Delineamento experimental	12
5. Resultados e discussão	13
6. Conclusão	19
7. Referências bibliográficas	20

1. INTRODUÇÃO

O estado de Minas Gerais concentra quase a metade de toda produção de queijos do Brasil, sendo boa parte dela representada pelos artesanais, produzidos por pequenos produtores da agricultura familiar. São cerca de 30 mil produtores de queijo artesanal, desses, 10 mil estão localizados nas principais regiões do estado: Araxá, Serra da Canastra, Cerrado, Triângulo Mineiro, Serra do Salitre, Serro e Campos das Vertentes (EMATER/MG, 2017).

O queijo é um alimento com alto valor nutritivo e pode ser armazenado por um período superior ao do leite, com menos riscos de perda do produto. Representa fonte de alimento e de renda para milhares de famílias que encontram nesta atividade seu principal meio de subsistência. A produção artesanal de queijos apresenta, além das relevantes questões sociais, grande importância cultural. A extensão da fabricação em pequena escala ou caseira, pode ser superficialmente avaliada pela quantidade de queijos artesanais que se encontra a venda em feiras populares, em todo o país, quase sempre vendidos frescos (LIMA, 2005).

A maturação é uma das principais etapas do processo de fabricação dos queijos, pois ela confere todas as características sensoriais, devido às transformações físicas e bioquímicas, que ocorrem pela ação dos microrganismos ali presentes, no caso dos queijos artesanais a microbiota “selvagem” ou específicas da região a qual são fabricados é a maior responsável por estas reações. Além de reduzir a níveis aceitáveis a presença de microrganismos indesejáveis.

Durante a maturação, algumas técnicas para evitar crescimento de microrganismos indesejáveis podem ser empregadas como por exemplo a utilização de biopolímeros, onde podem ser utilizadas para o tratamento da casca dos queijos, evitando trincas, ressecamento e o crescimento de contaminantes.

Os biopolímeros, são polímeros ou copolímeros produzidos a partir de matérias-primas de fontes renováveis, como: milho, cana-de-açúcar, celulose, quitina e outras. As fontes renováveis são assim conhecidas por possuírem um ciclo de vida mais curto comparado com fontes fósseis como o petróleo que leva milhares de anos para se formar (PEREIRA et.al., 2013).

O quitosano é um copolímero biodegradável constituído de unidades β (1-4)-2-amino-2-desoxi-D-glicopiranosose e β (1-4)-2-acetamido-2-desoxi-D-glicopiranosose (THARANATHAN e KITTUR, 2003). Ela pode ser definida como uma poliamina linear

de alta massa molar com grupos amino livres e hidroxilas reativas, formando soluções viscosas de gel, sendo facilmente solúvel em soluções aquosas da maioria dos ácidos orgânicos e inorgânicos com pH abaixo de 5,5. Nesta condição, há formação de um polímero catiônico através da protonação dos seus grupamentos amina (DAMIAN et al., 2005).

Outro polímero que merece destaque é o Konjak ou glucomanana, comumente extraída de tubérculos da planta *Amorphophallus Konjac* C. Koch, originária do sudeste da Ásia, é um polissacarídeo neutro da família das mananas, muito abundante na natureza.

A estrutura da glucomanana independentemente da sua origem é composta por monômeros D-manose e D-glicose unidos por ligação $\beta(1\rightarrow4)$, porém a relação de quantidade destes monômeros, a massa molecular e o grau de acetilação podem variar de acordo com a origem do tubérculo, processo de extração, etc. Para a glucomanana de Konjac (KGM) a relação de manose/glicose é aproximadamente 1,6:1. A quantidade de grupos acetila ligados à cadeia da glucomanana também difere quanto a sua origem, podendo variar de 5 a 10%. É amplamente aceito que o grau de acetilação é responsável pela solubilidade da glucomanana em água (CHEN, LI e LI, 2011).

O Konjac é um alimento não calórico, possui em sua composição a fibra dietética que não é digerida, podendo reduzir riscos de diabetes, doenças coronárias, além de auxiliar na perda de peso.

Estes polímeros têm a finalidade principal de proteger o alimento contra a deterioração microbiana consequentemente aumentando sua vida de prateleira. Sua aplicação é feita em diversos produtos como carnes, ovos, produtos lácteos e frutos.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do uso superficial de polímeros nas características microbiológicas de queijo Minas artesanal do Serro, durante a maturação.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Queijo Minas artesanal do Serro

O estado de Minas Gerais é destaque na produção de queijos artesanais no Brasil, colocando cerca 70 mil toneladas por ano no mercado. São quase 30 mil produtores envolvidos nessa atividade, sendo 1/3 deles presentes nas regiões do Serro, Cerrado, Serra da Canastra e Araxá, com uma produção anual de 29.005 toneladas em 46 municípios, gerando 26.792 empregos diretos (EMATER, 2017).

A produção do queijo artesanal do Serro teve início no período colonial, época em que mineiros da região começaram a colocar em prática as heranças deixadas pelos Portugueses. No século XVIII, época do garimpo, os garimpeiros, naturais de Portugal, à procura de ouro, começaram a produzir queijos com os processos semelhantes aos queijos Serra da Estrela. A princípio, os queijos artesanais eram produzidos somente para consumo próprio, mas pela dificuldade de acesso às fazendas, os queijos eram armazenados e melhor conservados quando faziam uso do soro fermento, denominado pingo (MUNDO DO LEITE, 2003).

O pingo é uma cultura endógena, resultante do final da dessoragem da massa de queijo já salgada, sendo retirado para a produção do dia seguinte. Seu uso pode contribuir com a inibição de diversas fermentações indesejáveis e poderá conferindo ao queijo características físico-químicas e organolépticas específicas (FERREIRA, 2002).

Em relação aos queijos industrializados, o queijo do Serro possui algumas características parecidas com o Minas Padrão, sendo classificado como uma de suas variedades. Ele é cilíndrico, com 14 cm de diâmetro, altura variando de 4 a 6 cm e a sua elasticidade e resistência depende do tempo em que o queijo teve de maturação (FURTADO,1980).

2.2. Processo de fabricação

O queijo do Serro é da categoria artesanal, devendo seguir normas de processamento estabelecidas em legislação, fabricado a partir de leite cru, produzido por pequenos produtores rurais, sem quaisquer utilizações de técnicas industriais (MINAS GERAIS, 2002)

O leite deve, imediatamente após a ordenha (pode ser manual ou mecânica), passar por filtração realizada através de um filtro ou tecido sintético. Após esta etapa o leite é transferido para o tanque de fabricação; onde são adicionados o pingo e o coalho. Após a coagulação a coalhada é quebrada e deixada em repouso por aproximadamente 5 minutos para que haja o descanso da massa e separação do soro. Em seguida é feita a expulsão de parte do soro e a enformagem da massa, que é prensada manualmente e a salga é realizada em um dos lados do produto. Após quatro horas o queijo é virado e adicionado de sal do outro lado; o pingo é coletado de um dia para o outro, ao final da salga, para ser usado na próxima fabricação. Os queijos são retirados da forma, levados à secagem e maturação por um período que varia de três a cinco dias, antes da comercialização (DORES, 2007).

2.3. Alguns microrganismos de interesse em queijos artesanais

Os produtos provenientes do leite, como o queijo, são altamente nutritivos, por isso são ideais para o desenvolvimento tanto de microrganismos patogênicos como também microrganismos deteriorantes. *Salmonella sp.*, *Bacillus cereus*, *Brucella sp.*, *Campylobacter*, *Escherichia coli (E. coli)*, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus (S.aureus)* são alguns exemplos de microrganismos patogênicos associados a surtos de toxinfecções alimentares, nos quais leite e produtos lácteos foram envolvidos (HAJDENWURCEL, 2012).

2.3.1. *Staphylococcus sp.*

Os estafilococos podem gerar doenças por possuir facilidade em se multiplicar e disseminar amplamente nos tecidos. É produtor de substâncias extracelulares,

como a enterotoxina, que pode ser um problema de intoxicação alimentar. Sua produção é através de cepas de *S. aureus* que se desenvolvem em alimentos que contém em sua composição carboidratos e proteínas (HENNEKINNE et al., 2012).

As células de *S. aureus* são eliminadas com facilidade pelos tratamentos térmicos aplicados nos processos, mas as enterotoxinas produzidas por este patógeno são termorresistentes, ou seja, resistem a altas temperaturas como por exemplo a pasteurização que é normalmente o tratamento aplicado ao leite e seus derivados (SANTANA et al., 2010).

S. aureus é um patógeno que sempre está sendo pesquisado em alimentos, sendo o queijo um dos principais carreadores de toxinfecção alimentar. A presença desses patógenos no queijo está diretamente envolvida com a aplicação incorreta das boas práticas de fabricação do mesmo (REIBNITZ, TAVARES e GARCÍA, 1998).

2.3.2. Grupo Coliformes

A presença de coliformes nos queijos está diretamente relacionada com a qualidade do leite. Estes microrganismos provocam alterações no leite, como degradação das gorduras, além de tornar o alimento impróprio para o consumo. Este grupo de microrganismos pode se tornar um veículo de doenças, e sendo possível sua contaminação em qualquer etapa do processo de fabricação do queijo artesanal (OLIVERA et al., 1998).

O grupo dos coliformes totais engloba as bactérias na forma de bastonetes gram-negativos, não esporulados, aeróbios ou anaeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose levando a produção de gás, em 24 a 48 horas a 35°C (SILVA, JUNQUEIRA e SILVEIRA, 2017).

A definição de coliformes a 45°C teve como objetivo selecionar os coliformes de origem intestinal humano e de animais de sangue quente e inclui ao menos três gêneros: *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella*, (JAY, 2005). Sabe-se que algumas dessas cepas não são de origem fecal. Este é o motivo da determinação de coliformes a 45°C em alimentos possuir menor importância, ou seja, é menos representativa para indicar a presença de contaminação fecal do que a enumeração direta de

Escherichia coli, que pode ser introduzida nos alimentos a partir de fontes não-fecais (SILVA, JUNQUEIRA e SILVEIRA, 2017).

2.3.3. Bactérias lácteas

Com papel importante no desempenho da fermentação de alimentos, as bactérias lácteas não contribuem somente com o desenvolvimento de características sensoriais desejáveis, elas também ajudam na conservação e aumenta o valor nutritivo da matéria-prima (MAGRO, CORBACHO e SORRIBES, 2000).

As bactérias lácteas produzem alguns agentes antimicrobianos, podendo reduzir a contaminação por microrganismos deteriorantes ou mesmo patogênicos (CARR; CHILL e MAIDA, 2002).

A acidificação é um fator primário na preservação de produtos de fermentação láctica. Todavia, outros compostos, como o diacetil, dióxido de carbono, peróxido, etanol e bacteriocinas, podem exercer ação inibitória sobre diferentes grupos microrganismos (HELANDER, VON WRIGHT e MATTILA-SANDHOLM, 1997). Essa atividade ocorre devido ao aumento competitivo com outros microrganismos nos alimentos, intensificado pelos efeitos inibitórios de seus metabólitos (MARTINIS, ALVES e FRANCO, 2003). Sua principal produção, o ácido láctico, associado aos outros ácidos, como acético e propiônico, produz no alimento uma acidez que não é propícia para multiplicação e sobrevivência de bactérias gram-positivas e negativas, bem como de fungos e leveduras (GUERRA e BERNARDO, 2001).

Bactérias lácticas possuem papel importante no desenvolvimento das propriedades organolépticas de alimentos fermentados. Por meio da indução de grande parte das enzimas glicolíticas, lipolíticas e proteolíticas, as bactérias lácticas promovem transformações em nutrientes fundamentais dos produtos agrícolas em compostos com propriedades organolépticas complexas. Estas transformações permitem que as bactérias lácticas alterem as estruturas e o aroma dos alimentos fermentados e contribuem para o desenvolvimento das suas qualidades gastronômicas (JAY, 2005).

2.3.4. Fungos Filamentosos e leveduras

Os fungos filamentosos que são provenientes, principalmente do solo e do ar, podem indicar falhas na higiene do ambiente e ainda produzir micotoxinas capazes de ocasionar sérios problemas à saúde do consumidor (JAY, 2005).

Fungos alteram alimentos, pois produzem enzimas que hidrolizam proteínas, lipídeos e carboidratos, dando origem a uma série de produtos dessa degradação, que promovem modificação na coloração, aparência desagradável, perda de sabor e também produção de metabólitos tóxicos, conhecidos como micotoxinas, tornando os impróprios para o consumo (FRANCO E LANDGRAF, 1996). Quando os produtos têm um alto teor de água e são armazenados sob alta umidade, eles tendem a se deteriorar pela ação de bactérias e leveduras. A deterioração por bolores ocorre mais facilmente quando a superfície do produto se torna seca ou quando este é armazenado sob condições que não favorecem o crescimento de bactérias ou leveduras (JAY, 2005).

A presença de fungos filamentosos (bolores) e leveduras viáveis em número elevado podem indicar deficientes condições higiênicas de equipamentos, falhas no processamento e/ou armazenamento, além de matéria prima excessivamente contaminada. Na legislação brasileira não possuem limites de bolores e leveduras para os queijos Minas frescal, coalho, colonial, tipo Minas e requeijão marajoara (LOURENÇO e SOUSA, 2005).

2.4. Maturação dos queijos

A maturação é uma fase de transformações físicas, químicas e microbiológicas, que ocorre no queijo tanto na periferia como no interior, sob a ação de enzimas lipolíticas e proteolíticas, sendo a maioria de origem microbiana, por meio de fenômenos complexos, podendo variar de um queijo para o outro (PERRY, 2004).

Os compostos resultantes da maturação como os aminoácidos, aMinas, ácidos, tióis, tioésteres de proteínas, ácidos graxos, metilcetonas, lactonas, ésteres de lipídeos, ácidos orgânicos, como o láctico, acético e propiônico, dióxido de carbono,

ésteres e alcoóis de lactose, são os responsáveis pelas características sensoriais de cada tipo de queijo (FOX,1993).

A lipólise ocorre no queijo em decorrência da ação das enzimas, que possuem importância na produção de aroma. Em alguns queijos a lipólise não é longa, sendo mais significativa em queijos produzidos por meio de leite cru. Estas enzimas podem ser naturais do leite, dos microrganismos endógenos, ou do próprio fermento adicionado, pode ser de preparações enzimáticas usadas durante a fabricação, oriundas de produtos como ácidos graxos voláteis de cadeia curta que incluem o butírico, capríco, caprílico e cáprico (FOX,1993).

Por sua vez, a proteólise é o principal processo bioquímico que ocorre durante a maturação da maioria dos queijos. Ela provoca a degradação das proteínas presentes tendo como resultado produtos mais solúveis (SOUSA; ARDO e McSWEENEY, 2001).

A proteólise ajuda nas transformações que ocorrem na textura, através da quebra da rede proteica, abaixamento da atividade de água, formação de novas ligações com os grupos carboxilas e aMinas liberados e, com o aumento do pH, principalmente para diversos queijos maturados por fungos, facilitando a liberação de compostos aromáticos. A proteólise possui contribuição direta no sabor devido à formação dos peptídeos e aminoácidos livres (SOUSA, ARDO e McSWEENEY, 2001). Um fator que afeta diretamente a proteólise é a quantidade de sal, provocando inibição das bactérias lácticas e conseqüentemente inibição de produção de enzimas proteolíticas (KINDSTEDT, 1993).

2.5. Biopolímeros

Os polímeros, do qual a produção é estimada na ordem de 180.000.000 t/ano, tem importância primordial na sociedade moderna, pois está presente em quase todos os setores da economia presente como: medicina, agricultura, construção civil, embalagens e eletroeletrônicos (PRADELLA, 2006).

O quitosano, um biopolímero derivado da quitina por desacetilação em meios alcalinos, é produzido a partir de cascas de crustáceos, não é tóxico, é biocompatível

e muito útil para embalagem de alimentos, além de ser um dos mais abundantes amino polissacarídeos existentes no ambiente. Possui características biodegradáveis e suas propriedades antimicrobianas em conjunto com a cationicidade e as propriedades formadoras de filme, torna-se uma excelente embalagem contra a contaminação por microrganismos. Uma das razões da característica antimicrobiana da quitosana é o seu grupo amino com carga positiva, o qual interage com as membranas das células microbianas carregadas negativamente, levando à dispersão dos constituintes protéicos dos microrganismos (ELSABEE E ABDYOU, 2013).

O filme de quitosano tem como função proteger o alimento contra deterioração por microrganismos, aumentando assim sua vida de prateleira. Estes filmes já estão sendo utilizados como cobertura em carnes, ovos, produtos lácteos e frutos (CHIEN, SHEU e YANG, 2007).

Altieri et al. (2005) ao estudar eficiência antibacteriana da quitosana em queijo mussarela constataram que a quitosana inibiu o crescimento de microrganismos Gram positivos, como *Streptococcus*. Constataram ainda, que a presença deste polissacarídeo não influenciou o crescimento das bactérias ácidoláticas, ao contrário, ocorreu um sutil estímulo com relação à sua multiplicação, demonstrando assim, que o uso de quitosana seria uma opção vantajosa para estender a vida de prateleira deste alimento em termos tecnológicos e econômicos.

De acordo com Gao e Nishinari, (2004) glucomanana é um polissacarídeo neutro, extraída de tubérculos de *Amorphophallus konjac C. Koch*, planta típica do sudeste asiático e muito abundante na natureza.

A sua extração é por meio da lavagem dos tubérculos. Logo após a lavagem realiza-se o corte em forma de fatias, promovendo em seguida a secagem. O konjac é estimado como um alimento não calórico, possui fibra dietética não digerível conseguindo até mesmo reduzir o risco de diabetes, doenças coronárias e também auxilia na perda de massa gorda (NISHINARI, 2000).

Marin (2006) apresenta resultados significativos para selagem de alface americana minimamente processada com filme biodegradável de amido de mandioca. O produto apresentou uma boa qualidade sensorial, baixa contaminação microbiológica e vida útil adequada para o tipo de produto.

3. OBJETIVOS

3.1. Geral:

Avaliar o efeito do uso superficial de biopolímeros nas características microbiológicas de queijo Minas artesanal do Serro, durante a maturação.

3.2. Específicos:

- Realizar análises microbiológicas de queijo Minas artesanais do Serro revestidos com biopolímeros;
- Verificar o efeito do uso de biopolímeros nas contagens microbiológicas de queijos Minas artesanais do Serro maturados em condições controladas;
- Avaliar o efeito do uso de biopolímeros em queijos Minas artesanais do Serro durante a maturação em condições controladas.

4. MATERIAL E MÉTODOS

As análises dos queijos foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais, Campus Rio Pomba.

4.1. Definição e coleta das amostras

As amostras de queijos Minas artesanais, proveniente de um único produtor e mesmo lote de fabricação, para cada uma das três repetições, foram doadas pela Cooperativa de Produtores Rurais do Serro, totalizando 30 amostras. As películas foram doadas pelo Instituto Politécnico da Guarda – Guarda, Portugal.

Foram utilizados 3 tratamentos diferentes: 1) controle (sem uso de polímero); 2) uso do polímero quitosano (3% em solução aquosa); e 3) uso do polímero konjac (1% em solução aquosa). As amostras foram codificadas, revestidas pelos biopolímeros (T2 e T3) e reservadas para análises durante o período de maturação nos seguintes tempos 3, 10, 17 e 24 dias após fabricação, utilizando-se BOD como ambiente de maturação, com umidade relativa do ar (URA) variando de 77% a 82% e temperatura de $13 \pm 1^\circ\text{C}$.

4.2. Preparo das películas

4.2.1. Konjac

O konjac foi diluído a 1% em água destilada e colocado em aparelho agitador até sua completa solubilização, que durou aproximadamente doze horas e aplicado com auxílio de espátula. Esta concentração foi definida em testes realizados anteriormente.

4.2.2. Quitosano

O quitosano foi diluído a 3% em solução de ácido acético a 1% e colocado em aparelho agitador até sua completa solubilização que durou aproximadamente vinte e quatro horas. Esta concentração foi definida em testes realizados anteriormente.

Durante a aplicação, com o auxílio de espátula, para a completa formação de película, foi utilizado uma solução de tripolifosfato a 8% para auxiliar na precipitação do quitosano quando entrasse em contato com o queijo.

4.3. Análises microbiológicas

Foram realizadas análises de contagens para mesófilos aeróbios, fungos filamentosos e leveduras, de *Estafilococos* sp., bactérias lácticas, e para coliformes totais e termotolerantes, pelo método de determinação do número mais provável. As análises de bactérias lácticas foram realizadas em meio MRS e M17, respectivamente, *Lactococcus* sp. e *Lactobacillus* sp. de acordo com Silva et al. (2007) e Brasil (2003).

Foram pesadas 25g de cada amostra em partes representativas de pontos distintos do queijo e homogeneizadas em 225 mL de solução citrato de sódio à 2,0%.

4.4. Deliniamento experimental

O experimento foi montado segundo o esquema fatorial (3x4) sendo 3 tratamentos e 4 tempos de armazenamento, no delineamento em blocos casualizados (DBC), com 3 repetições.

Os dados foram interpretados por meio da análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, usando o programa estatístico SISVAR (sistema de análise de variância versão 5.3 (FERREIRA, 2010)).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 encontra-se o resumo da análise de variância (ANOVA) dos resultados das contagens de mesófilos aeróbios, *Estafilococos* sp., fungos filamentosos e leveduras durante a maturação.

Tabela 1 – Análise de variância (ANOVA) das contagens microbiológicas (log UFC/g) de queijos Minas artesanais da região do Serro revestidos com biopolímeros durante a maturação.

Quadrado Médio				
FV	GL	MA	SA	FFL
Tratamento	2	0,1361ns	0,0845ns	0,1610ns
Dias	3	16,1171*	12,0776*	8,0731*
Trat.xDias	6	0,5150ns	0,4227ns	0,0616ns
Bloco	2	4,6988*	1,6790*	2,3160ns
Erro	22	0,6492	0,4843	0,8606

*F significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey; ns - F Não significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. (MA) mesófilos aeróbios; (SA) *Estafilococos* sp.; (FFL) fungos filamentosos e leveduras.

Não houve influência dos tratamentos ($p > 0,05$) em nenhum dos grupos microbianos estudados, ao contrário do tempo de maturação dos queijos ($p < 0,05$) que influenciou as contagens de todos os grupos de microrganismos.

Na Tabela 2 encontram-se as contagens médias de mesófilos aeróbios, *Estafilococos* sp., fungos filamentosos e leveduras de queijos Minas artesanais da região do Serro revestidos com biopolímeros durante a maturação.

Tabela 2 – Média das contagens de mesófilos aeróbios, Estafilococos sp. e fungos filamentosos e leveduras de queijos Minas artesanais da região do Serro revestidos com biopolímeros durante a maturação.

(Log UFC/g)	Tempo (dias)			
	3	10	17	24
Mesófilos aeróbios	5,51 b	7,66 a	8,34 a	8,34 a
Estafilococos sp.	5,07 b	7,06 a	7,16 a	7,71 a
Fungos filamentosos e leveduras	5,74 b	7,41 a	7,68 a	7,75 a

Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Para os três grupos microbianos presentes na Tabela 2 observou-se aumento das médias das contagens ($p < 0,05$) a partir do 10º dia de maturação dos queijos, mantendo-se constante nos demais dias de armazenamento dos produtos.

O grupo de mesófilos aeróbios apresentou contagens semelhantes ao grupo de bactérias do ácido láctico, principalmente de *Lactobacillus* sp (Tabela 4), o que pode ser um indício deste último estar contido no primeiro.

Ferraz (2016), analisou queijo Minas Artesanal durante seu período de maturação e encontrou contagem de mesófilos no oitavo dia de maturação igual 8,39 log UFC/g, resultado semelhante ao encontrado no presente trabalho entre os dias 17 e 24 de maturação foi de 8,34 log UFC/g. Isso pode ser justificado devido à relação com as altas contagens de bactérias lácticas o que pode interferir na contagem desse grupo microbiano.

Segundo Martins, et al. (2015), queijos maturados sob refrigeração podem apresentar aumento das contagens de mesófilos aeróbios nas 3 primeiras semanas de armazenamento, havendo redução gradativa das contagens ao longo da maturação.

Martins et al. (2015) estudaram queijos artesanais da região do Serro verificaram que houve diminuição das contagens de mesofilos aeróbios a partir de 36 dias com contagem de 8,12 Log UFC/g de maturação sobe refrigeração e umidade controlada de 8°C e 77% respectivamente.

Para *Estafilococos sp.*, Martins et al. (2015) encontraram valores semelhantes para a contagem inicial verificada no presente trabalho, mas ao contrário do que se observou, mesmo sob refrigeração, as contagens diminuíram ao longo do tempo de maturação. Dessa forma nenhuma das amostras analisadas apresentou valores dentro dos padrões da legislação (MINAS GERAIS, 2008)

Em relação a contagem de *Estafilococos sp.*, foi constatado o aumento ($p < 0,05$) durante os dias de maturação dos queijos diferentemente dos resultados das contagens encontradas no trabalho de Soares (2014), onde não houve diferença significativa durante o período de maturação dos queijos atingindo somente 3,51 log UFC/g no 26º dia de armazenamento.

Trabalho realizado por Tunç e Hos (2012), em queijos maturados observou que houve redução nas contagens de *Estafilococos sp.* após uma semana de maturação, mantendo em declínio até 63 dias.

As contagens de fungos filamentosos e leveduras variaram entre $7,0 \times 10^4$ a $5,2 \times 10^8$ UFC/g. Elevadas contagens de fungos em queijos de baixa maturação podem comprometer a qualidade visual do produto, uma vez que fungos filamentosos e leveduras são potenciais deterioradores.

O aumento das contagens de fungos filamentosos e leveduras a partir do 10º dia de maturação pode ser justificado pela natureza deste grupo microbiano, que pode estar presente na maioria dos ambientes de maturação de queijos, povoando principalmente a sua casca, onde encontram condições favoráveis de crescimento, em razão do pH, umidade e atividade de água.

Santos e Silva (2014), encontraram em valores médios estimados de $6,5 \times 10^6$ UFC/g (estimado) de fungos e leveduras em amostras de queijos Minas artesanais coletados em feiras situadas no Distrito Federal.

De acordo com a análise de variância para o grupo das bactérias do ácido láctico, não houve diferença ($p > 0,05$) entre os tratamentos aplicados (Tabela 3).

Tabela 3 – Análise de variância (ANOVA) das contagens *Lactococcus* sp. e *Lactobacillus* sp. (log UFC/g) de queijos Minas artesanais da região do Serro revestidos com biopolímeros durante a maturação.

Quadrado Médio			
FV	GL	Lab	Lac
Tratamento	2	0,0966ns	0,0670ns
Dias	3	3,0881*	0,8108ns
Trat.xDias	6	0,8700*	0,5358ns
Bloco	2	1,7565*	2,0839ns
Erro	22	0,2651	0,6214

*F significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey; ns - F Não significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. Lab) *Lactobacillus* sp.; (Lac) *Lactococcus* sp.

Todavia, houve diferença ($p < 0,05$) para interação tempo x tratamento ($p < 0,05$) (Tabela 4).

Tabela 4 – Média das contagens de *Lactobacillus* sp. (log de UFC/g) em queijos Minas artesanais da região do Serro durante a maturação.

Tratamentos	Tempo (dias)			
	3	10	17	24
Controle	8,91 aA	7,21 bA	8,69 aA	8,07 abA
Quitosano	8,91 aA	7,20 bA	7,81 abAB	8,62 aA
Konjac	8,91 aA	8,11 bA	7,42 bB	7,72 aA

Médias seguidas pela letra minúscula na linha e letra maiúscula na coluna não diferem entre si ,pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Aos 17 dias de maturação, o biopolímero konjac se diferiu apenas do tratamento controle, com uma contagem menor ($p < 0,05$) de *Lactobacillus* sp.

Para o tratamento controle, os tempos 3 e 17 dias diferem do décimo dia de maturação. Já o biopolímero quitosano apresentou diferença ($p < 0,05$) entre os dias 10 e 3, e 10 e 24 durante a maturação. Por fim o biopolímero konjac apresentou diferença para os tempos 3 e 17, e 17 e 24 dias de maturação.

Sobral et al. (2012), usaram a nisina no processo de fabricação de queijo Minas artesanal, obtendo diferença ($p < 0,05$) em seus tratamentos, mas com aumento crescente de *Lactobacillus* sp. até 50 dias de maturação. Somente após esse tempo

é que as médias das contagens foram diminuindo. Foi observada uma alta incidência de *Lactococcus* sp. no início da maturação, com uma queda brusca após 10 dias, constante aumento até 20 dias e queda posterior até 60 dias de maturação.

Altieri et al. (2005) ao estudar eficiência antibacteriana da quitosano em queijo mussarela constataram que a quitosana inibiu o crescimento de microrganismos Gram positivos, como *Streptococcus*. Constataram ainda, que a presença deste polissacarídeo não influenciou o crescimento das bactérias ácido lácticas, ao contrário, ocorreu um sutil estímulo com relação à sua multiplicação, demonstrando assim, que o uso de quitosano seria uma opção vantajosa para estender a vida de prateleira deste alimento em termos tecnológicos e econômicos.

Na Tabela 5 encontra-se o resumo da análise de variância das médias das determinações de coliformes totais e termotolerantes em log NMP/g, nos tempos 3, 10, 17 e 24 dias de armazenamento.

Tabela 5 – Análise de variância (ANOVA) da determinação de número mais provável de coliformes totais e termotolerantes (log NMP/g) de queijos Minas artesanais d região do Serro durante a maturação.

Quadrado Médio			
FV	GL	Coliformes totais	Coliformes termotolerantes
Trat.	2	0.1239ns	0.0735ns
Dias	3	4.2692*	1.2977ns
Trat. x Dias	6	0.3331ns	0.3562ns
Bloco	1	0.0384ns	3.8400ns
Erro	11	0.3914	0.5616

*F significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey; ns - F Não significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Não houve influência dos biopolímeros ($p > 0,05$) no número mais provável de coliformes totais e termotolerantes das amostras de queijos Minas artesanais do Serro. O número mais provável de coliformes totais foi afetado apenas pelo tempo de maturação ($p < 0,05$). O número mais provável de coliformes termotolerantes no presente trabalho foi $1,08 \times 10^3$ NMP/g, estando fora dos padrões da legislação.

O tempo exerceu influência somente na contagem de coliformes totais ($p < 0,05$) dos queijos Minas artesanais da região do Serro (Tabela 6).

Tabela 6 – Média das contagens de coliformes totais (log NMP/g) de queijos Minas artesanais da região do Serro durante a maturação.

Coliformes totais	Tempo (dias)			
	3	10	17	24
Log NMP/g	2,44 A	2,77 A	3,93 B	1,94 A

Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Para o grupo de Coliformes totais, somente o tempo 17 dias de maturação foi aquele que apresentou maior contagem ($p < 0,05$) em relação aos demais tempos, estando o mesmo fora dos padrões da legislação para queijos de leite cru. Somente os tempos 3 e 24 dias foram aqueles que apresentaram valores dentro dos padrões legais.

Resultados semelhantes para coliformes totais foram encontrados por Soares (2014), que ao avaliar queijo Minas padrão encontrou que as contagens médias diminuíram a partir do primeiro dia, e aumentaram no décimo dia de maturação e após os doze dias de maturação diminuía constantemente.

Em contrapartida, MELO (2013), observou diminuição de coliformes totais em queijos artesanais Serrano Após 30 dias de maturação, provavelmente devido ao aumento de acidez no produto e redução da atividade de água.

6. CONCLUSÃO

Os biopolímeros utilizados não exerceram efeitos na redução das contagens microbianas contaminantes dos queijos. Entretanto, não influenciaram na contagem de bactérias do ácido láctico.

Outros estudos são sugeridos para se avaliar o efeito destes biopolímeros em concentrações diferentes durante a maturação dos queijos Minas artesanais.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTIERI, C. , Socorro c., Sinigaglia, M. **Use of Chitosan to Prolong Mozzarella Cheese Shelf Life**. Journal of Dairy Science, v. 88, n. 8, p. 2683-2688, 2005.

BRASIL, 2003. Instrução Normativa Nº 62, DE 26 DE AGOSTO DE 2003. **Publicado no Diário Oficial da União** de 18/09/2003 , Seção 1 , Página 14.

CARR, F. J.; CHILL, D.; MAIDA, N. The lactic acid bacteria: a l survey. **Critical Reviews in Microbiology**, v.28, n.4, p.281-370, 2002.

CHIEN, P. J., SHEU, F., YANG, F. H. Effects of edible chitosan coating on quality and shelf life of sliced mando fruit. **Journal of Food Engineering**, v. 78, p. 225-229. 2007.

DAMIAN, C., BEIRÃO H. L., FRANCISCO, A., ESPÍRITO SANTO, P. L. M., TEIXEIRA, E. Quitosana: um amino polissacarídeo com características funcionais. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, V.16, n.2, p.195-205.2005.

DORES, M., T. Queijo Minas Artesanal da canastra maturado à temperatura ambiente sob refrigeração. **Dissertação** (Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos) UFV, 2014.

ELSABEE M.Z.; ABDU, E.S. (2013). Chitosan based edible films and coatings: A review. **Materials Science and Engineering C**, 33, 1819–1841

EMATER. **Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural**. Mapa do queijo artesanal mineiro. Comunicação pessoal. Belo Horizonte, MG. Novembro de 2017.

FERRAZ, W., M. MATURAÇÃO, INFLUÊNCIA DO AMBIENTE SOBRE A. 2016. **Tese de Doutorado**. Instituto Federal de Educação.

FERREIRA, C. L. L. F. Queijo: Mineiros tentam ajustar modernidade e produção artesanal. **Revista Globo Rural**, ano 17, n.200, p.41, 2002.

FOX, P. F. Cheese: chemistry, physics and microbiology Vol 1 – General aspects. London U. K. 1993A. **Chapman & Hall**, 2. Ed., 1993. 601 p.

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

FURTADO, M.M. Queijo do Serro: tradição na história do povo mineiro. **Revista Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.35, p.33-36, 1980.

GAO, S. J.; NISHINARI, K. Effect of deacetylation rate on gelation kinetics of konjac glucomannan. **Colloids and Surfaces B-Biointerfaces**, v. 38, p. 241-249, 2004.

GUERRA, M. M. M.; BERNARDO, F.M.A. Caracterização de efeitos inibidores de *Listeria Monocytogenes*. Scott A, produzidos pela microflora de maturação de queijos

do Alentejo. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.96, n.538, p.65-69, 2001.

HAJDENWURCEL, J. R. Produção segura na cadeia alimentar do leite. In: PORTUGAL, J. A. B. et al. (Ed.) **Segurança alimentar na cadeia do leite**. Juiz de Fora - MG: Templo Gráfica e Editora Ltda., 2012. p.99–112.

HELANDER, I. M.; VON WRIGHT, A.; MATTILA-SANDHOLM, T. M. Potential of lactic acid bacteria and novel antimicrobials against gram-negative. **Trends in Food Science and Technology**, v.8, n.5, p.146-150, 1997.

HENNEKINNE, J.-A.; BUYSER, M.-L.; DRAGACCI, S. Staphylococcus aureus and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. **FEMS Microbiology Reviews**. v.36, n.4, p.815-836, 2012.

JAY, J.M. **Microbiologia de alimentos**. Porto Alegre: Ed. Artmed. Ed. 6, 2005.

KINDSTEDT, P. S. Effect of manufacturing factors, composition and proteolysis on the functional characteristics of mozzarella cheese. **Critical Reviews in Foods Science**. v.33, p.167 – 187, 1993.

MINAS GERAIS, **Lei Estadual nº 14.185, de 31 de janeiro de 2002**. Dispõe sobre o processo de produção do Queijo Minas Artesanal e dá outras providências. Belo Horizonte, MG. 2002.

LIMA, C. D. L.C. Avaliação microbiológica e química do queijo Minas artesanal da Serra do Salitre-MG. 2005.138f. **Tese (Doutorado em Microbiologia do Instituto de Ciências biológicas)** – Universidade Federal de Minas Gerais. 2005.

LOURENÇO, L.F.H.; SOUSA, C.L. Análise microbiológica e teste de aceitação de requeijão marajoara elaborado com leite de búfala. **Higiene Alimentar**, v.19, n.132, p.84-88, junho 2005.

MAGRO, M. L. M.; CORBACHO, J. M. M.; SORRIBES, C. H. et al. Las bacteriocinas de las bacterias lácticas 1: **definición, clasificación, caracterización y métodos de detección alimentaria**, v.37, p.59-66, 2000.

MARIN, Tatiana. Embalagem ativa para alface – americana (lactuca sativa). Minimamente processado. 2006. 57 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciência de alimentos) – Centro de Ciência Agrária, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2006.

MARTINIS, E. C. P.; ALVES, V.F.; FRANCO, B. D. G. M. Bioconservação de alimentos: aplicação de bactérias lácticas e suas bacteriocinas para a garantia da segurança microbiológica de alimentos. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v.29, p.114-119, 2003.

MARTINS, J. M.; GALINARI, E.; PIMENTEL FILHO, N. J. RIBEIRO JR, J. I.; FURTADO, M. M.; FERREIRA, C. L. L. F. Determining the minimum ripening time at

room temperature and under refrigeration of Minas artisanal cheese, a traditional Brazilian cheese. Brazilian. **Journal of Microbiology**, v. 46, n. 1, p. 219-230, 2015.

MELO, F., D., Dalmina, A. K.,Pereira N. M., Ramella V. M., Neto T. A., Vaz K. E., Ferraz, M. S. Avaliação da inocuidade e qualidade microbiológica do queijo artesanal serrano e sua relação com as variáveis físico-químicas e o período de maturação. **Revista Acta Scientiae Veterinariae**, 2013, 41:1152, pág. 4.

MUNDO DO LEITE. Produção, Industrialização e Consumo. **Revista Mundo do Leite**, nº 4, DBO Editores. Maio de 2003.

NISHINARI, K. Konjac Glucomannan. In: DOXASTAKIS, G. e KIOSSEOGLOU, V. (Ed.). **Novel Macromolecules in Food Systems**: Elsevier, v.41, p.309-330, 2000.

OLIVERA, C. A. F. MORENO, J. F. G., MESTIERI, L., GERMANO, P. M. L. et al. Características físico-químicas e microbiológicas de queijos Minas frescal e mussarela produzido em algumas fábricas de laticínios do Estado de São Paulo. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 12, n.55, p.31-35, 1998.

PERRY, K.S.P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova** vol.27 no.2 São Paulo March/Apr. 2004.

PRADELLA, J. G. C. - "Biopolímeros e Intermediários Químicos", **relatório técnico** nº 84396-205, Centro de Tecnologia de Processos e Produtos, Laboratório de Biotecnologia Industrial – LBI/CTPP (2006).

REIBNITZ, M.G.R., TAVARES, L.B.B., GARCÍA, J.A. Presencia de coliformes fecales, Escherichia coli y Staphylococcus aureus coagulasa y DNAs a positivos en queso. **Revista Argentina de Microbiologia**, v.30, n.1, p.8-12,1998.

SANTANA, E.H.W. Determinação do perigo de consumo do leite cru relacionado a intoxicação estafilocócica. **Tese de Doutorado no curso de Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina**. Londrina, 2006.

SANTOS, T. S. D., & SILVA, M. C. D. (2014). CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA – UNICEUB FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E SAÚDE CURSO DE NUTRIÇÃO. **Trabalho de Conclusão de Curso Avaliação microbiológica da qualidade higiênica de queijos tipo Minas, comercializados em Brasília**, p.10, 2014.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA. Contagem de Bactérias Lácticas. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3ª ed. São Paulo:Varela, 2007. cap. 14, p.183-189.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**, 1. Ed. São Paulo-SP: Livraria Varela Ltda., 2017.

SOARES, D. B. Caracterização físico-química e microbiológica do queijo Minas Artesanal da região de Uberlândia-MG. **Dissertação** apresentada a pós-graduação em ciência veterinária pela UFU, 2014.

SOBRAL, D.; TEODORO, V. A. M.; PINTO, M. S.; MACHADO, G. M.; COSTA, R. G. B.; CARVALHO, A. F.; Efeito da nisina na contagem de *Lactococcus* e *Lactobacillus* em queijo Minas artesanal da região de Araxá - MG. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, [S.l.], v. 68, n. 391, p. 5-10, dez. 2013

SOUSA, M. J.; ARDÖ, Y.; Mc. SWEENEY, P. L. H. Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. **International Dairy Journal**, v.11, p. 327-345, 2001.

SOUZA, M. E. **Aconteceu no Serro**. Belo Horizonte: BDMG Cultural, 1999.
THARANATHAN, R. N.; KITTUR, F. S Chitin- the undisputed biomolecule of great potential. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, V.43, nº 1, p. 61-87. 2003.

TUNÇ, K; HOS, A. Investigation of survival of *Staphylococcus aureus* during maturing of white cheese. **Turkish Journal of Science & Technology**, v. 7, n. 1, p. 55-60, 2012.