



MICHELE DE OLIVEIRA PAIVA ARAGÃO

**MICROBIOTA *TERROIR* DO QUEIJO MINAS ARTESANAL
CASCA FLORIDA DA REGIÃO DA CANASTRA**

LAVRAS – MG

2023

MICHELE DE OLIVEIRA PAIVA ARAGÃO

**MICROBIOTA *TERROIR* DO QUEIJO MINAS ARTESANAL CASCA FLORIDA DA
REGIÃO DA CANASTRA**

Tese 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 obtenção do título de Doutora.

Prof. Dr. Luís Roberto Batista

Orientador

Dra. Fabiana Reinis Franca Passamani

Coorientadora

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).

Aragão, Michele de Oliveira Paiva.

Microbiota terroir do Queijo Minas Artesanal Casca Florida da
região da Canastra / Michele de Oliveira Paiva Aragão. - 2023.

134 p.

Orientador(a): Luís Roberto Batista.

Coorientador(a): Fabiana Reinis Franca Passamani.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2023.

Bibliografia.

1. terroir. 2. diversidade. 3. Geotrichum candidum. I. Batista,
Luís Roberto. II. Passamani, Fabiana Reinis Franca. III. Título.

MICHELE DE OLIVEIRA PAIVA ARAGÃO

**MICROBIOTA *TERROIR* DO QUEIJO MINAS ARTESANAL CASCA FLORIDA DA
REGIÃO DA CANASTRA**

***TERROIR* MICROBIOTA OF BLOOMY RIND ARTISANAL MINAS CHEESE
FROM CANASTRA REGION**

Tese 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 obtenção do título de Doutora.

APROVADA em 14 de dezembro de 2023.

Dr. Luís Roberto Batista UFLA

Dr. Luiz Ronaldo de Abreu UFLA

Dra. Sandra Maria Pinto UFLA

Dra. Jaqueline de Paula Rezende UFLA

Dra. Michelle Ferreira Terra Ematnè IFNMG

Prof. Dr. Luís Roberto Batista

Orientador

Dra. Fabiana Reinis Franca Passamani

Coorientadora

LAVRAS - MG

2023

À Cecília e Aluisio, por tudo e por tanto.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, por nunca faltar quando mais precisei.

À Universidade Federal de Lavras, ao Departamento e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos pela oportunidade concedida para a realização deste trabalho.

Ao professor Luís Roberto Batista pela orientação, confiança, compreensão e por tanto conhecimento transmitido.

Às pesquisadoras Fabiana Passamani e Suzana Reis pela paciência, orientação, ajuda e, principalmente, pela amizade.

Ao professor Luiz Ronaldo de Abreu, por tanta partilha, humanidade e confiança no meu trabalho. À Cleuza, do Laboratório de Laticínios pela ajuda com as análises.

Aos produtores de Queijo Minas Artesanal da Canastra pelo fornecimento das amostras pela receptividade e confiança e especialmente à Valéria da APROCAN, pelo intermédio com os produtores e por todo auxílio e disponibilidade.

Aos amigos do Laboratório de Micologia e Micotoxinas de Alimentos, em especial Nathasha, Miriam, Bruna, João Pedro, Fernanda, Nadja, Fabiana Lima, Thalissa. Agradeço imensamente pela amizade, por toda ajuda e parceria.

Aos meus pais e a todos os meus amigos, pelo incentivo, apoio e momentos compartilhados. Vocês são fundamentais em minha vida!

Agradeço especialmente ao meu amor e companheiro de toda a vida Aluisio, pelo apoio, altruísmo, incentivo e por cada minuto dedicado aos cuidados da nossa filha. Sem seu apoio nada disso seria possível.

À minha filha Cecília por ser minha luz, fonte de força, coragem e amor e também meu maior incentivo. Você transformou o significado de todas as coisas para mim. Amo-te!

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

“...do lar, da saudade, do queijo, do tutu, do milho e do porco, do angu, do frango com quiabo.... Aí está Minas: a mineiridade.” (João Guimarães Rosa)

RESUMO GERAL

Minas Gerais se destaca pela produção de queijos em diversas microrregiões. Na Canastra, o queijo Minas artesanal tem ganhado reconhecimento e visibilidade em concursos mundo afora, se destacando entre os melhores do mundo, atraindo turistas e consumidores às queijarias produtoras. O modo tradicional de fabricação, a microbiota endógena, entre outros fatores, predizem as características e a qualidade sensorial do produto. Portanto, conhecer tais fatores é de grande importância para a garantia da identidade e segurança do produto. A determinação da microbiota típica do *terroir*, compreendendo os fungos filamentosos, bactérias e leveduras, presentes tanto na superfície quanto no interior do Queijo Minas Artesanal Casca Florida, da região da Canastra, foi o alvo deste estudo. Para tal, foram utilizados métodos dependentes e independentes de cultivo para avaliar amostras de seis propriedades distintas. A saber, sequenciamento amplicon das regiões ITS e 16S, identificação de fungos filamentosos e leveduras isolados por diluição seriada nos meios DRBC e YEPG e identificação de leveduras por MALDI-TOF MS. A utilização de diferentes métodos complementares permite traçar um perfil da microbiota total e o isolamento da microbiota cultivável para pesquisas futuras. Aspectos físico-químicos das amostras, como umidade, gorduras, proteínas, pH e cinzas foram correlacionados com a microbiota identificada. A investigação por método independente de cultivo mostrou que as espécies fúngicas mais prevalentes na casca e no interior foram *Geotrichum candidum* e *Diutina catenulata*. *Candida intermedia* foi mais abundante apenas no interior dos queijos. Entre as bactérias, a superfície apresentou maior diversidade de gêneros e espécies, como *Lactococcus* sp, *Brevibacterium* sp, *Corynebacterium variabile* e *Staphylococcus* sp. Apenas *Lactococcus* sp, *Streptococcus salivarius* e espécies não identificadas do gênero *Streptococcus* prevaleceram no interior dos queijos. Diferenças entre a prevalência de espécies se destacaram. Nas amostras com maior abundância de *G. candidum* e *Lactococcus* spp. notou-se menor prevalência de *D. catenulata* e *C. variabile*, respectivamente. Pelos métodos dependentes de cultivo foi possível isolar tanto no interior, quanto na superfície dos queijos analisados as espécies *Diutina catenulata*, *Kluyveromyces lactis*, *Kodamaea ohmeri*, *Trichosporon coremiiforme* e *Geotrichum candidum*. Somente da superfície isolou-se *Candida intermedia*, *Torulaspora delbrueckii* e *Trichosporon japonicum*, associadas às amostras com maiores valores de pH. No interior, encontrou-se as leveduras *Candida lucitaniae*, *Candida parapsilosis*, *Trichosporon asahii* e *Rhodotorula mucilaginosa*, relacionadas aos queijos mais úmidos. *G. candidum* e *K. lactis* foram relacionados aos queijos mais gordos. Os resultados colaboram para o entendimento da composição química e da comunidade microbiana dos queijos da região e contribuem para a implementação de estratégias que possam melhorar a qualidade e segurança na produção. Além disso, a preservação dos isolados possibilita estudos futuros que possam contribuir para o conhecimento das dinâmicas entre as comunidades microbianas do queijo Minas artesanal da Canastra.

Palavras-chave: *Terroir*. Diversidade. *Geotrichum candidum*. Metagenômica. MALDI-TOF MS.

GENERAL ABSTRACT

Minas Gerais stands out for its cheese production in several micro-regions. At Canastra, artisanal Minas cheese has gained recognition and visibility in competitions around the world, standing out among the best in the world, attracting tourists and consumers to the producing cheese farms. The traditional way of manufacturing, the endogenous microbiota, among other factors, predict the characteristics and sensorial quality of the product. Therefore, knowing these factors is of great importance to guarantee the identity and safety of the product. The determination of the typical microbiota of the *terroir*, comprising filamentous fungi, bacteria and yeasts, present both on the surface and mass of the Bloomy Rind Artisanal Minas Cheese from the Canastra region was the aim of this study. To this end, cultivation-dependent and independent methods were used to evaluate samples from six different farms. Namely, amplicon sequencing of the ITS and 16S regions, identification of filamentous fungi and yeasts isolated by serial dilution in DRBC, and YEPG medium and identification of yeasts by MALDI-TOF MS. The use of different complementary methods makes it possible to profile the total microbiota and isolate the cultivable microbiota for future research. Physicochemical aspects of the samples, such as moisture, fats, proteins, pH and ash were correlated with the identified mycobiota. Investigation using an independent cultivation method showed that the most prevalent fungal species in the rind and mass were *Geotrichum candidum* and *Diutina catenulata*. *Candida intermedia* was more abundant only in the mass of the cheeses. Among the bacteria, the surface showed a greater diversity of genera and species, such as *Lactococcus* sp, *Brevibacterium* sp, *Corynebacterium variabile* and *Staphylococcus* sp. Only *Lactococcus* sp, *Streptococcus salivarius* and unidentified species of the genus *Streptococcus* prevailed in the mass of the cheeses. Differences between species prevalence stood out. In samples with greater abundance of *G. candidum* and *Lactococcus* spp., a lower prevalence of *D. catenulata* and *C. variabile*, respectively, was noted. Using cultivation-dependent methods, it was possible to isolate the species *Diutina catenulata*, *Kluyveromyces lactis*, *Kodamaea ohmeri*, *Trichosporon coremiiforme* and *Geotrichum candidum* both in the mass and on the surface of the analyzed cheeses. *Candida intermedia*, *Torulaspora delbrueckii* and *Trichosporon japonicum* were isolated only from the surface, associated with samples with higher pH values. In the mass, the yeasts *Candida lucitaniae*, *Candida parapsilosis*, *Trichosporon asahii* and *Rhodotorula mucilaginosa* were found, related to moister cheeses. *G. candidum* and *K. lactis* were related to fattier cheeses. The results contribute to the understanding of the chemical composition and microbial community of cheeses in the region and contribute to the implementation of strategies that can improve quality and safety in production. Furthermore, the preservation of the isolates enables future studies that can contribute to the knowledge of the dynamics between the microbial communities of Canastra's artisanal Minas cheese.

Keywords: *Terroir*. Diversity. *Geotrichum candidum*. Metagenomics. MALDI-TOF MS.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

PRIMEIRA PARTE

Figura 1 - Mapa da microrregião da Canastra, Minas Gerais, Brasil.	18
Figura 2 - Queijo Minas Artesanal da Canastra em ambiente de maturação.	25

SEGUNDA PARTE

Figuras

Figura 1 - Fluxograma de produção do Queijo Minas Artesanal da Canastra.	45
Figura 2 - Amostra de queijo artesanal de casca florida da microrregião da Canastra.	49
Figura 3 - Modelo esquemático de preparação das amostras para análise metagenômica.	50
Figura 4 - Índice de Shannon para diversidade alfa de espécies fúngicas no queijo.	65
Figura 5 - Índice de Shannon para diversidade alfa de espécies bacterianas no queijo.	66
Figura 6 - UniFrac não ponderado para beta diversidade de fungos (A) e bactérias (B).	68
Figura 7 - Amostra de queijo artesanal de casca florida da microrregião da Canastra.	91
Figura 8 - Modelo esquemático de preparação das amostras para análises.	92

Gráficos

Gráfico 1 - Abundância relativa de fungos nas amostras de casca dos queijos.	55
Gráfico 2 - Abundância relativa de bactérias nas amostras de casca dos queijos.	57
Gráfico 3 - Abundância relativa de fungos no interior dos queijos.	61
Gráfico 4 - Abundância relativa de bactérias no interior dos queijos.	64
Gráfico 5 - Diversidade de fungos nas amostras de queijo.	69
Gráfico 6 - Diversidade de bactérias nas amostras de queijo.	70
Gráfico 7 - Prevalência de espécies presentes na superfície dos queijos.	72
Gráfico 8 - Prevalência de espécies bacterianas no interior dos queijos.	73
Gráfico 9 - Prevalência de espécies fúngicas no interior do queijo.	73
Gráfico 10 - Abundância relativa de leveduras presentes na casca dos queijos.	96
Gráfico 11 - Abundância relativa de leveduras presentes no interior dos queijos.	99

LISTA DE TABELAS

SEGUNDA PARTE

Tabela 1 - Características das queijarias produtoras de Queijo Minas Artesanal (continua)...	46
Tabela 2 - Local de produção das amostras de Queijo Minas Artesanal da Canastra.....	49
Tabela 3 - Subdivisão das amostras de queijo.....	50
Tabela 4 - UTOs, gêneros e espécies microbianas (números) das amostras de casca de queijo.	54
Tabela 5 - UTOs, gêneros e espécies microbianas (números) presentes no interior dos queijos.	60
Tabela 6 - Local de produção das amostras de Queijo Minas Artesanal da Canastra.....	90
Tabela 7 - Subdivisão das amostras de queijo.....	91
Tabela 8 - População média total de espécies fúngicas da superfície dos queijos avaliada nos meios de cultivo DRBC e YEPG em UFC por grama (UFC/g).....	95
Tabela 9 - População média total de espécies fúngicas do interior dos queijos avaliada nos meios de cultivo DRBC e YEPG em UFC por grama (UFC/g).....	98
Tabela 10 - Espécies de leveduras isoladas da casca e do interior do QMA da Canastra e preservadas em Coleção de Cultura de Microrganismos.	101
Tabela 11 - Aspectos físico-químicos das amostras da superfície e do interior dos Queijos.	102

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	27
1 INTRODUÇÃO	14
2 REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1 Queijo Canastra e seu contexto cultural	16
2.2 Evolução da comercialização do queijo Canastra	17
2.3 A microbiota do queijo Minas Artesanal	20
2.4 Bactérias lácticas em queijos	22
2.5 Fungos filamentosos e leveduras em queijos	23
2.6 Papel da microbiota na maturação do queijo	24
REFERÊNCIAS	28
SEGUNDA PARTE - ARTIGOS	39
ARTIGO 1 – Microbiota <i>terroir</i> da superfície e do interior do Queijo Minas Artesanal da Canastra, Minas Gerais, Brasil	40
RESUMO	41
ABSTRACT	42
1 INTRODUÇÃO	43
2 MATERIAIS E MÉTODOS	45
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
4 CONCLUSÃO	75
REFERÊNCIAS	76
ARTIGO 2 – Isolamento e identificação de leveduras da casca e do interior do Queijo Minas Artesanal da Canastra, Minas Gerais, Brasil	86
RESUMO	87
ABSTRACT	88
1 INTRODUÇÃO	89
2 MATERIAIS E MÉTODOS	90
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	95
4 CONCLUSÃO	106
REFERÊNCIAS	107
TERCEIRA PARTE	113
CONSIDERAÇÕES FINAIS	114
APÊNDICES	116
Apêndice A – Índices de diversidade	116

Apêndice B – Lista de microrganismos identificados.	120
Apêndice C – Cartilha destinada aos produtores de Queijo Minas Artesanal da microrregião da Canastra, Minas Gerais, Brasil.	127

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

O Queijo Minas Artesanal, patrimônio imaterial nacional, destaca-se pela sua importância sociocultural e econômica para as dez microrregiões que o produzem (IPHAN, 2014; MINAS GERAIS, 2020; VIEIRA *et al.*, 2022). Atualmente, os queijos mineiros fabricados com leite cru têm ganhado notoriedade em concursos mundo afora, comparando-se aos melhores queijos do mundo (MARTIN *et al.*, 2023).

Na Canastra, diversos estudos sobre a microbiota *terroir* dos queijos artesanais estão sendo realizados (KAMIMURA *et al.*, 2019; ARAGÃO *et al.*, 2022; KOTHE; MOHELLIBI; RENAULT, 2022; MARTIN *et al.*, 2023). Com base nestas pesquisas, nos últimos anos houve a criação de novos regulamentos específicos voltados para a produção dos queijos artesanais que estabelecem parâmetros físico-químicos e microbiológicos de qualidade dos queijos, a fim de garantir a segurança do consumidor e aumentar sua confiança do pelo produto (ARAÚJO *et al.*, 2020).

As variações na microbiota presente no ambiente, na matéria-prima e no queijo impactam na maturação e, conseqüentemente, nas características sensoriais do produto final (BIOLCATI *et al.*, 2020; KAMIMURA *et al.*, 2020). Essas diferenças podem estar ligadas a diversos fatores como técnicas de produção, às estações do ano, interações entre os microrganismos, entre outros (CARDOSO *et al.*, 2015; DORES; FERREIRA, 2012; FIGUEIREDO *et al.*, 2015; JONNALA *et al.*, 2018; QUIGLEY *et al.*, 2013). Traçar o perfil desta microbiota e suas variações permite preservar a identidade e determinar parâmetros de segurança e qualidade do produto.

Deste modo, o presente estudo teve por objetivo melhorar a compreensão sobre a comunidade microbiana, característica do *terroir* do queijo artesanal da Canastra e sua influência sobre a qualidade e segurança do produto. Para isto, caracterizou-se a microbiota, compreendendo fungos filamentosos, leveduras e bactérias, presentes tanto na superfície quanto no interior do queijo, a partir de sequenciamento de amplicon das regiões ITS e 16S do DNA microbiano presente no Queijo Minas Artesanal maturado por 15 dias.

Utilizou-se também métodos para isolar e identificar a microbiota fúngica cultivável, como a espectrometria de massa. Outro objetivo deste estudo foi correlacionar a microbiota identificada com os aspectos físico-químicos das amostras analisadas.

Este estudo foi dividido em dois capítulos, onde, em cada um deles, a análise da microbiota *terroir* se deu por técnicas diferentes de identificação. Deste modo, têm-se uma

melhor compreensão das variáveis envolvidas no estudo da diversidade microbiana e pode-se preservar microrganismos cultiváveis para estudos futuros.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Queijo Canastra e seu contexto cultural

A produção do queijo a partir do leite cru é considerada uma tradição no cotidiano das fazendas de Minas Gerais. Mesmo que haja a herança dos processos produtivos trazidos pelos colonizadores, o *saber-fazer* característico das regiões produtoras transmitido entre as gerações, se entrelaçaram e originaram um produto único e singular (MENESES, 2006; MERGAREJO NETTO, 2011). Os agentes físicos e naturais do ambiente de cada uma dessas regiões propiciam pastagens naturais típicas e o desenvolvimento de microrganismos específicos que se proliferam em cada um desses microclimas. Todos estes fatores, somados ao modo próprio de manipulação dão a cada queijo sua identidade, aparência e sabor específicos (IPHAN, 2014; SLOW FOOD BRASIL, 2021).

A variedade de queijos artesanais existentes no Brasil, cada qual com as particularidades regionais que os distinguem, especialmente no modo de produção, envolve valores construídos historicamente com vínculos de identidade social e cultural. Estes vínculos regionais abrangem os agricultores, produtores dos queijos, comerciantes e consumidores, com relevante importância histórica e socioeconômica (MARGALHO, 2020; PACHECO *et al.*, 2021).

A produção de queijos de forma artesanal não segue os modelos modernos de processamento da matéria-prima, que são voltados para produções maciças e padronizadas, em escala industrial. O queijo artesanal da Canastra possui Indicação Geográfica e sua forma de fazer traduz características que expressam uma tradição dinâmica que, mesmo com o avanço das tecnologias, processos produtivos e aparatos, se mantém com o passar do tempo (WILKINSON, 2008; Instituto Nacional da Propriedade Industrial – INPI, 2011).

Cada queijaria aplica sua história e cultura para a produção do seu produto, sendo esta, uma forma de agregar valor na produção leiteira, que por vezes enfrenta dificuldades para se manter no mercado, onde o preço pago pelo litro do leite ordenhado é, costumeiramente, considerado baixo (LICITRA, 2010; SIMONCINI, 2017).

Nos últimos anos notou-se um crescimento exponencial na produção do queijo da Canastra, bem como o reconhecimento mundial de sua qualidade, sabor, textura e aromas peculiares, sendo premiado diversas vezes dentro e fora do país. A visibilidade aumentada em virtude dos concursos nacionais e internacionais em torno deste e o aumento no interesse dos consumidores por produtos artesanais, também tem atraído turistas e consumidores às queijarias produtoras (ANTÔNIO; BORELLI, 2020; ARAÚJO *et al.*, 2020; MARTIN *et al.*, 2023).

Alguns estudos acompanharam a mudança do queijo Canastra de um mero produto de consumo local em um símbolo gastronômico e cultural. Cruz e Moreira (2019), abordaram quatro principais aspectos cruciais para essa mudança de cenário acerca deste queijo: a chancela do Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional (IPHAN) referente ao modo artesanal de feito; o reconhecimento que o queijo canastra possui devido ao seu *terroir*; a obtenção da indicação de procedência e, por fim, as ações de *marketing* alimentadas pelos próprios produtores rurais da região, fomentadas pelas certificações conquistadas e estudos que proporcionaram maior segurança para seu consumo. Além desses fatores, o associativismo dos produtores daquela região também foi um fator relevante na popularização do queijo (FLORES *et al.*, 2019).

Em 2019 existiam cerca de 9 mil produtores de Queijo Minas Artesanal em todo o estado de Minas Gerais, com produção aproximada de 40 mil toneladas anuais. Além disso, 112 queijarias estão registradas no Instituto Mineiro de Agropecuária com o Selo Arte, o que permite a comercialização dos queijos que levam este selo em todo o território nacional (BRASIL, 2019a; BRASIL, 2019b).

Em março de 2023 formalizou-se a candidatura dos Modos de Fazer o Queijo Minas Artesanal à Lista Representativa da Convenção para Salvaguarda do Patrimônio Cultural Imaterial da Humanidade, junto à UNESCO. Este processo visa assegurar a preservação de conhecimentos e técnicas relacionadas à produção de queijo, desenvolvidas ao longo dos últimos três séculos, por pequenos produtores rurais de Minas Gerais, envolvendo diversas instituições tanto em âmbito federal quanto estadual (ARCHDAILY, 2023).

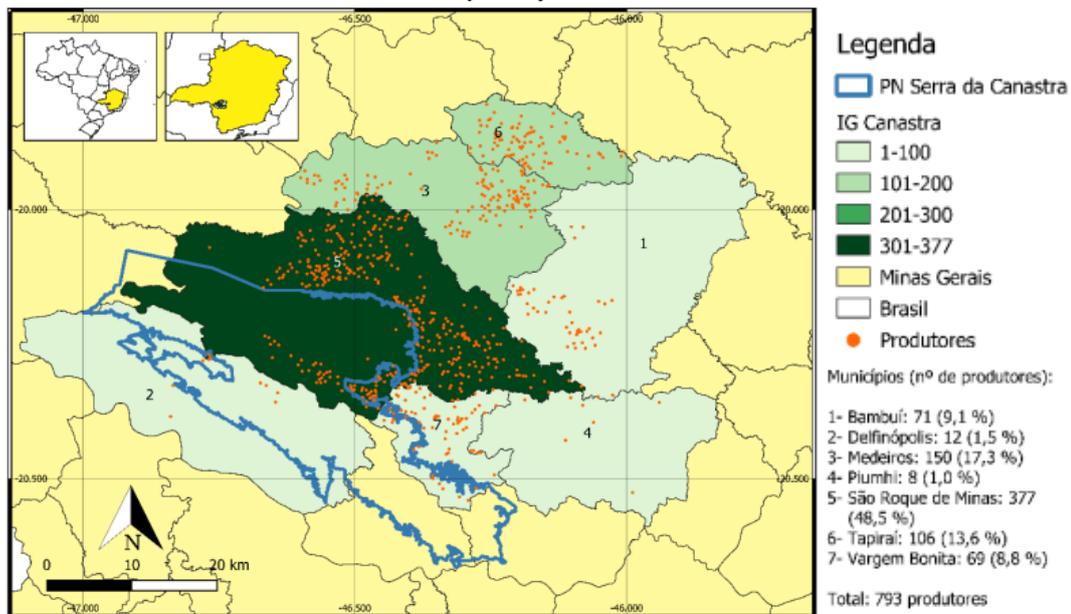
Sendo assim, na microrregião da Canastra a produção do queijo é de profunda importância, tanto econômica, uma vez que constitui a única fonte de renda para vários agricultores, quanto cultural, já que a produção do queijo artesanal é tradição passada de geração a geração (SEBRAE, 2021).

2.2 Evolução da comercialização do queijo Canastra

O queijo Canastra é comercializado atualmente com 14 dias de maturação, segundo exigências estabelecidas na Portaria N° 2051, de 07 de abril de 2021 (IMA, 2021). Esse período mínimo de maturação é estipulado devido às práticas artesanais e ausência de processamento térmico no processo de fabricação.

Até o ano de 2020, cerca de 800 produtores estavam inseridos na microrregião da Canastra, com produção anual aproximada de 6 mil toneladas de queijo, sendo, em média 20 peças por dia para cada produtor (FIGURA 1) (NASCIMENTO; ROSALIN; ISMAEL, 2021).

Figura 1 - Mapa da microrregião da Canastra, Minas Gerais, Brasil.



Fonte: Adaptado de Nascimento; Rosalin; Ismael (2021).

O Estado de Minas Gerais é responsável por produzir, aproximadamente, metade dos queijos fabricados no país (WILKINSON; CERDAN; DORIGON, 2017). A produção e comercialização do queijo Minas artesanal, que representa 20% do total de queijos produzidos em Minas, proporcionou a criação de uma economia regional, impulsionando as regiões produtoras, dinamizando o comércio local (SÁ, 2021).

A forma de comercialização e o consumo dos queijos artesanais constituem um traço marcante da identidade cultural de cada região produtora, que é transmitido de geração para geração (MENESES, 2006). O comércio do queijo garante renda para diversas propriedades leiteiras, contribuindo assim para a valorização do *saber-fazer* tradicional de cada região (SIMONCINI, 2017).

De modo geral, a lida com o gado, a produção e a comercialização estiveram centralizadas aos produtores rurais, ou seja, o escoamento final do produto sendo responsabilidade direta da propriedade leiteira. Cabe destacar que a comercialização do queijo em relação a sua lucratividade oscila em diferentes épocas do ano. Por vezes o preço do quilo não acompanha a flutuação dos valores do mercado agrícola, como o aumento dos custos de

produção no período de seca, o que impacta diretamente na fonte de renda dos produtores que necessitam adquirir insumos para a produção leiteira e alimentação do gado (SIMONCINI, 2017).

Em sua coletividade, os produtores tiveram um crescente aumento da demanda pelo produto e, conseqüentemente, da renda devido à maior procura pelo consumidor e também ao acesso a melhores tecnologias, cursos e métodos de produção dentro dos padrões de higiene (MILKPOINT, 2021; ZACARCHENGO; VAN DENDER; REGO, 2017). Por outro lado, existem alguns gargalos referentes a adesão às associações, pois alguns produtores enfrentam dificuldades quanto à adequação de requisitos para a inclusão neste dispositivo. Assim, essas barreiras de entrada delimitam certo "padrão da associação", onde os pequenos produtores que não são capazes de arcar com essas adaptações ficam excluídos (CONGRESSO BRASILEIRO DE ORGANIZAÇÃO DO ESPAÇO, 2021).

Com o aumento da demanda e escoamento do produto fez-se necessária a presença de intermediários, sendo desenvolvida uma rede entre produtores e comerciantes, com a finalidade de facilitar o escoamento do queijo canastra para o mercado. Apesar de não ser estabelecida uma rede sólida e direta com os consumidores, os produtores compreendem que a manutenção da comercialização, mesmo no mercado informal, garante o sustento de suas famílias, distribuição de sua produção e a manutenção do território (ENANPEGE, 2021; SIMONCINI, 2017).

Por outro lado, alguns entraves financeiros se ampliam e impactam o mercado do produto. Para gerar renda necessária e manter a produção de queijo, ao repassar este para locais de revenda (entrepósitos), corta-se relações comerciais diretamente com o consumidor. Esta prática impacta no valor de venda, diluindo a lucratividade dos produtores (GIÁCOMO, 2021).

Uma das maiores dificuldades quanto à comercialização são os constantes conflitos gerados pela dúvida quanto à sua segurança para o consumidor. Porém, diversos estudos direcionados à sua composição microbiológica já demonstraram que o queijo artesanal da Canastra possui características consideradas seguras quanto ao fator microbiológico, principalmente após o período de maturação exigido pela legislação vigente (DORES, NOBREGA; FERREIRA, 2013; MARTINS *et al.*, 2015).

Em se tratando de segurança microbiológica é importante frisar que grande parte dos surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos associados à queijos são causados por contaminação no pós-processamento, ou seja, o emprego de tratamento térmico prévio não minimiza o risco (DONNELLY, 2013). Deste modo, a qualidade e segurança final do produto está diretamente ligada a utilização de matéria prima de qualidade, implementação de Boas

Práticas de Fabricação e Agropecuárias, bem como estrutura física e sanitária adequadas para o processamento do produto (ALMEIDA *et al.* 2012; BRASIL, 2019c; CAMPOS, 2019; DINIZ, 2013).

Devido ao seu feitiço tradicional e sua valorização regional, o queijo Minas artesanal está sujeito à fraude alimentar, prática esta que pode causar impactos econômicos negativos para as regiões e para os produtores, além de colocar em risco a saúde do consumidor (CARDIN *et al.*, 2022). Como exemplo, o estudo conduzido por Dalmaso *et al.* (2016) para investigar a comunidade microbiana em um tradicional queijo artesanal italiano, identificou a utilização de cultura *starter* pelos produtores.

A utilização de cultura comercial é contrária à técnica tradicional de fabricação dos queijos artesanais, que se utilizam da microbiota endógena para formação das características sensoriais do produto. Como forma de garantir a qualidade e tipicidade, métodos de autenticação da origem geográfica podem ser utilizados, entre eles a análise de DNA microbiano para rastreamento de estirpes biomarcadoras, ou seja, de microrganismos tradicionalmente presentes no produto. Como resultado pode-se obter melhorias nos processos de registro e também da segurança na comercialização (CARDIN *et al.*, 2022).

2.3 A microbiota do queijo Minas Artesanal

A microrregião da Canastra, localizada no estado de Minas Gerais, abriga o Parque Nacional da Serra da Canastra, abrangendo os municípios Vargem Bonita, São Roque de Minas, Medeiros, Bambuí, Piumhi, Tapiraí e Delfinópolis. Nessa região o bioma predominante é o Cerrado, com precipitação anual entre 1.300 a 1.700 mm e altitude entre 800 e 1.500 m. Segundo o sistema de Köppen, o clima da região é subtropical de altitude (Cwb), com estação seca e fria de abril a setembro (temperatura média de 17 °C) e estação chuvosa e quente de outubro a março (temperatura média de 22 °C) (SZABÓ *et al.*, 2018).

Acredita-se que queijos produzidos nas mesmas localidades teriam perfil da comunidade microbiana mais próximo do que aqueles fabricados distantes geograficamente (WOLFE *et al.*, 2014). Entretanto, a microbiota do Queijo Minas Artesanal é influenciada por diversos fatores, tais como: localização geográfica, fonte da matéria-prima, práticas agrônomicas e de fabricação e características ambientais da região. Este conjunto de fatores podem determinar a composição do leite, a diversidade e dinâmica de comunidades microbianas, bem como propriedades sensoriais e a qualidade do produto final, predizendo o *terroir* dos queijos da região (MARTIN *et al.*, 2016; SANT'ANNA *et al.*, 2017).

Ao avaliar amostras de pingo e queijo Canastra, Borelli *et al.* (2006) verificaram predominância das leveduras *Kodamaea ohmeri*, *Debaryomyces hansenii*, *Torulaspota delbrueckii* e *Kluyveromyces lactis*. Segundo Andrade *et al.* (2017) as leveduras *Kluyveromyces lactis*, *Torulaspota delbrueckii* e *Candida intermedia* mostraram-se importantes para agregar sabor e aroma ao queijo Minas artesanal da Canastra devido à produção de compostos aromáticos voláteis.

Nogueira *et al.* (2021) avaliaram o perfil sensorial do queijo Canastra e constataram que o queijo de maior aceitação foi marcado pela presença de bactérias como *Lactococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Lactobacillus plantarum* e *Streptococcus* spp..

No estudo de Silva (2020), os gêneros detectados com maior abundância em amostras de queijos Canastra foram *Debaryomyces*, *Trichosporon*, *Fusarium* e *Candida*. A micobiota core característica no estudo supracitado foi composta pelos gêneros *Candida*, *Trichosporon*, *Diutina*, *Kodamaea*, *Debaryomyces*, *Fusarium* e *Sarocladium*. Dessa maneira, sua presença nos queijos provenientes da região sugere que estes gêneros desempenham algum papel fundamental na identidade desses queijos.

Por meio de métodos avaliativos dependentes e independente de cultivo, Aragão *et al.* (2022) observaram no queijo Minas artesanal da Canastra a presença de *Fusarium* spp., *Geotrichum candidum*, *Paecilomyces* spp., *Trichosporon coremiiforme*, *T. japonicum*, *Candida catenulata* (atualmente *Diutina catenulata*), *Aspergillus* spp., incluindo *Aspergillus oryzae*, *Kluyveromyces lactis*, *Torulaspota delbrueckii* e *Debaryomyces* spp. (KHUNNAMWONG *et al.*, 2015). Santos (2021) observou a prevalência de espécies dos gêneros *Fusarium*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Acremonium* e *Trichothecium* em todas as amostras.

Com base na análise do gene marcador ITS em queijos da Canastra, Martin *et al.* (2023) observou a predominância das leveduras *Debaryomyces prosopidis*, *Trichosporon asahii*, *Kluyveromyces lactis* e *Torulaspota delbrueckii*, bem como dos fungos filamentosos *Fusarium solani*, *Acremonium citrinum*, *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. *Fusarium solani* foi a espécie mais prevalente identificada em queijos da Canastra por César *et al.* (2022), seguido de *Geotrichum candidum*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus westerdijkiae* e *Penicillium steckii*.

Souza *et al.* (2021) destacaram a incidência dos fungos *D. hansenii*, *G. candidum*, *Y. lipolytica*, *C. zeylanoides* e *K. lactis* como importantes para as características sensoriais do queijo Minas artesanal do Serro. Cesario (2022), ao estudar queijo Minas artesanal de Araxá encontrou como bactérias de maior incidência os gêneros *Streptococcus* sp., *Actinoalloteichus* sp., *Marinomonas* sp., *Lactococcus* sp. Quanto aos fungos, os gêneros mais abundantes foram

as leveduras *Kluyveromyces* sp., *Candida* sp., *Saccharomyces* sp., *Torulaspota* sp., e o gênero de fungos filamentosos *Fusarium* sp.

Dentre os microrganismos comumente associados ao queijo Minas artesanal, talvez o que mais se destaca seja *G. candidum* devido as características sensoriais que ele agrega e seu potencial de garantir a segurança microbiológica do produto (MARCELLINO; BENSON, 2013). Sua presença no queijo Minas artesanal tem sido importante para regulamentar a fabricação do produto e ampliar a comercialização, conforme a Resolução de Nº 42 da Secretaria de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento de Minas Gerais, que define a variedade casca florida do queijo Minas artesanal como tendo “dominância visual de fungos filamentosos, predominantemente *Galactomyces geotrichum* (*Geotrichum candidum* ou *Geotrichum silvicola*).” (MINAS GERAIS, 2022).

2.4 Bactérias lácticas em queijos

Bactérias do ácido láctico (BAL), provenientes do leite cru e do pingo têm papel importante na maturação e segurança do queijo Minas Artesanal. Estas são capazes de metabolizar substâncias antimicrobianas, entre elas ácido láctico, peróxido de hidrogênio e bacteriocinas responsáveis por inibir o desenvolvimento de microrganismos patogênicos, tanto *in vitro* como *in vivo*. Este grupo de bactérias também pode contribuir para a formação de sabor e redução do pH pela fermentação da lactose, além de desempenhar função probiótica (CASTRO *et al.*, 2016; PINHEIRO, 2018; VIEIRA *et al.*, 2022).

O crescimento das BAL no queijo ao longo do processo de maturação acontece em função da temperatura, perda de umidade e aumento da concentração de NaCl, entre outros (SANT’ANNA *et al.*, 2017). A atividade antagonista observada nesse período pelas BAL presentes no leite e no soro fermento natural, entre elas *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus fermentum* e *Lactobacillus brevis* sobre *Listeria monocytogenes* influenciou na redução do tempo de maturação do queijo para ser comercializado (CAMPAGNOLLO *et al.*, 2018; MACZUGA, 2020).

Sant’anna e colaboradores (2017) após analisar a presença de BAL em amostras de água, silagem, leite cru, pingo e queijo Minas artesanal da microrregião de Campo das Vertentes, isolaram e identificaram espécies pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Pediococcus*.

Em outros estudos que investigaram a diversidade microbiana de BAL em queijo Minas Artesanal das microrregiões do Serro, Canastra, Serra do Salitre, Araxá e Campos das

Vertentes, observou-se a prevalência de *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc* spp., *Lactococcus* spp. e *Streptococcus* spp. (PERIN, 2017; KAMIMURA *et al.*, 2019; CESARIO, 2022).

2.5 Fungos filamentosos e leveduras em queijos

Além da presença de bactérias do ácido láctico, o leite cru é marcado por espécies de fungos filamentosos e leveduras que contribuem, durante a maturação dos queijos, para o desenvolvimento das características de aroma, sabor e textura (HYMERY *et al.*, 2014). Estes microrganismos crescem melhor em temperaturas que variam de 25 a 28 °C e são mais tolerantes a condições adversas no meio, como menor disponibilidade de água e pH ácido. Fungos filamentosos necessitam de oxigênio, entretanto as leveduras são capazes de se desenvolver em ausência de oxigênio e altas concentrações de CO₂ (SILVA *et al.*, 2010).

Fungos filamentosos também podem estar presentes no ambiente de produção e não representarem riscos à saúde. Todavia, em ambientes de produção e maturação de queijos a predominância de espécies toxigênicas demanda especial atenção (KANDASAMY *et al.*, 2019).

Há a possibilidade de algumas espécies de fungos, capazes de produzir micotoxinas se desenvolverem no queijo, principalmente na superfície (NORTHOLT *et al.*, 1980). As principais espécies de fungos micotoxigênicos são pertencentes aos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* que, juntamente com *Mucor* spp. e *Geotrichum* spp. são os fungos filamentosos mais comuns em queijos maturados e fabricados com leite cru (PITT, 2000; LAVOIE *et al.*, 2012).

A principal micotoxina encontrada no leite é a aflatoxina M1, que é derivada da aflatoxina B1 produzida por algumas espécies de *Aspergillus*, entre elas *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. nomius*. Esta toxina pode ser encontrada em vários tipos de queijos devido ao uso de leite contaminado por fungos (BANJARA; SUHR; HALLEN-ADAMS, 2015; FONTAINE *et al.*, 2015). Apesar disso, micotoxinas podem estar presentes no leite ou no queijo devido a vários fatores, seja por contaminação direta ou indireta e não necessariamente pela presença de fungos filamentosos micotoxigênicos (MONTAGNA *et al.*, 2004; SENGUN, YAMAN; GONUL, 2008).

As micotoxinas mais comuns e estáveis em queijo são a citrinina, o penitrem A, a roquefortina C, a esterigmatocistina e a aflatoxina. Entretanto, segundo Sengun, Yaman e Gonul (2008), outras micotoxinas como patulina, ácido penicílico e toxina PR não persistem no queijo.

As leveduras estão associadas à microbiota secundária e podem desempenhar papéis importantes na maturação de uma grande variedade de queijos artesanais, embora algumas espécies possam causar deterioração (BORELLI *et al.*, 2006; CARDOSO *et al.*, 2015). Além de *Debaryomyces hansenii*, espécie de maior predominância em queijos artesanais, *Kluyveromyces lactis*, *K. marxianus*, *Candida zeylanoides* e o fungo filamentosos leveduriforme *Geotrichum candidum* são encontradas com frequência e podem auxiliar as culturas iniciais através da atividade proteolítica e lipolítica, participando do processo de maturação e formação de aroma (ANASTASIOU *et al.*, 2022; BORELLI *et al.*, 2006; CARDOSO *et al.*, 2015; HOOG; SMITH, 2004; NÓBREGA *et al.*, 2008; PERKINS *et al.*, 2020).

O *G. candidum* se desenvolve rapidamente na superfície do queijo no início da maturação e colabora para o desenvolvimento de aromas e sabores típicos e outras características do queijo. Sua atividade enzimática, em especial aquela desempenhada por enzimas lipolíticas é responsável pela formação de compostos voláteis, entre eles ésteres, álcoois, ácidos graxos, metil cetonas e lactonas, que conferem perfil sensorial agradável. Além disso, esta espécie também atua na quebra de açúcares e proteínas do leite e na inibição do crescimento de outros fungos filamentosos indesejáveis, responsáveis por defeitos em queijos (BOUTROU; KERRIOU; GASSI, 2006; JASTER *et al.*, 2019; KOŇUCHOVÁ *et al.*, 2016; MARCELLINO; BENSON, 2013; SACRISTÁN, 2012; ŠTEFÁNIKOVÁ *et al.*, 2020).

2.6 Papel da microbiota na maturação do queijo

A qualidade e as características sensoriais dos queijos, como aroma, sabor e textura são provenientes de compostos voláteis e outras moléculas resultantes de alterações microbiológicas e bioquímicas que acontecem durante a maturação. A formação destas substâncias é influenciada pela origem da matéria prima, pelos aspectos tecnológicos empregados nos processos de produção, pela composição e complexidade de interações entre a comunidade microbiana endógena do leite, do ambiente e pelas culturas iniciadoras utilizadas (FOX *et al.*, 2017; KORENA *et al.*, 2023; TILOCCA *et al.*, 2020).

Durante a maturação (FIGURA 2) observa-se alterações na acidez, pH e nos teores de gordura, umidade e lactose, devido à fermentação e produção de ácido láctico (PINHEIRO, 2018). Estas modificações somadas à ação das proteases e lipases produzidas pela microbiota do queijo colaboram para a formação de compostos aromáticos (ZHENG *et al.*, 2018). O aroma

é um importante atributo de qualidade, sendo responsável pela aceitação ou rejeição do produto pelos consumidores (BEZERRA *et al.*, 2017).

Figura 2 - Queijo Minas Artesanal da Canastra em ambiente de maturação.



Fonte: Da autora (2023).

Em geral, no início da maturação o valor do pH dos queijos é de aproximadamente 5, devido à acidificação do meio pelas BAL iniciadoras, favorecendo, assim, o crescimento de leveduras (MONNET *et al.*, 2015). A metabolização de ácido lático e a ação das proteases produzidas pelos fungos ou mesmo das enzimas advindas do leite, como a plasmina, contribuem para o aumento da concentração de compostos alcalinos, aumentando o pH da superfície e atingindo valores superiores a 7,5 (DORES, 2007; MONTEL *et al.*, 2014; UNNO *et al.*, 2021). Ao final da maturação, o ambiente alcalino favorece o crescimento de fungos e bactérias sensíveis à ácidos, que exercem importante papel na formação de características sensoriais desejáveis do produto (UNNO *et al.*, 2021).

A perda de umidade do queijo no decorrer do processo de maturação, bem como alterações de pH, concentração de sais e também fatores abióticos como localização geográfica,

umidade relativa e sazonalidade são fatores decisivos para mudanças na comunidade microbiana (SANT'ANNA, 2017). A maturação também contribui para o controle microbiológico, propiciando um ambiente desfavorável para o crescimento de microrganismos patogênicos sendo, portanto, fundamental para a segurança do queijo (DORES, 2013; SOARES *et al.*, 2018).

O desenvolvimento de microrganismos com o queijo é um fator decisivo para a formação de metabólitos característicos do produto. Diversos compostos voláteis, produzidos principalmente pela atividade enzimática de fungos no estágio de maturação, estão associados ao perfil de sabor e aroma característicos dos queijos. Em geral estes compostos compõem a classe dos ácidos, ésteres, cetonas, hidrocarbonetos, aldeídos, álcoois, compostos sulfurados e terpenos (JESUS FILHO *et al.*, 2021). Sua formação se dá a partir da utilização de ácidos graxos e aminoácidos, sendo as principais vias metabólicas envolvidas na formação desses compostos a glicólise, além da lipólise e proteólise, que também contribuem significativamente para as modificações de textura e sabor desejáveis (MCSWEENEY *et al.*, 2017; SULEJMANI; HAYALOGLU, 2016).

Diversos estudos determinaram o perfil de compostos voláteis aromáticos produzidos pelos fungos, responsáveis por agregar características sensoriais desejáveis nos queijos. A levedura *Kluyveromyces lactis* capaz de se desenvolver também no interior dos queijos, produz compostos como etanol, acetaldeído, aldeídos e álcoois de cadeia ramificada e ésteres de ácido acético, que são responsáveis por notas alcoólicas, frutadas e acéticas (ATANASSOVA *et al.*, 2016). *Yarrowia lipolytica* participa da síntese de sulfetos, cetonas de cadeia curta e furanos (SØRENSEN *et al.*, 2011). *Geotrichum candidum*, foi associado à produção de metil cetonas, ácidos graxos, ésteres e principalmente álcoois primários (JOLLIVET *et al.*, 1994).

Debaryomyces hansenii, levedura descrita como um dos principais constituintes da microbiota presente na superfície de queijos maturados, metaboliza aldeídos e álcoois de cadeia ramificada (SØRENSEN *et al.*, 2011). Cinco compostos voláteis como ácido octanoico e ácido hexanoico, oriundos da atividade lipolítica desta levedura, além de 2-metil-ácido butanoico, 3-metil-1-butanol e 2-heptanol, possivelmente oriundos da atividade proteolítica e da oxidação de ácidos graxos já foram identificados (BERTUZZI *et al.*, 2018; SILVA, 2020).

A liberação de ácidos graxos e aminoácidos livres, resultantes da atividade de *Candida* spp. pode favorecer o crescimento de bactérias que compõe a microbiota por utilizar este substrato. Pequenas concentrações de ácidos graxos livres são importantes para a formação de sabores e aromas, já os aminoácidos são precursores de álcoois, aldeídos, compostos sulfurosos, aminas e ácidos carboxílicos. Durante a maturação, as espécies deste gênero também são

responsáveis por produzir compostos, entre eles ácido propanoico e hexanoico, importantes para as características sensoriais do queijo (BERTUZZI *et al.*, 2018).

Por outro lado, fungos filamentosos como *Fusarium* spp., *Cladosporium* spp., *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. presentes no ambiente e no local de fabricação podem se desenvolver nos queijos e alterar negativamente as características do produto, causando descoloração, aparência desagradável e sabores indesejáveis (CÉSAR *et al.*, 2022; MARTIN; COTTER, 2023; SEDDEK; GOMAH; OSMAN, 2016; SOUZA *et al.*, 2021).

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. C., *et al.* Caracterização da produção de queijo artesanal na região de Montes Claros, norte de Minas Gerais. **Acta Veterinaria Brasilica**, [Mossoró], v. 6, n. 4, p. 312-320, 2012. Disponível em: [https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/acta-veterinaria-brasilica/6-\(2012\)-4/caracterizacao-da-producao-de-queijo-artesanal-na-regiao-de-montes-cla/](https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/acta-veterinaria-brasilica/6-(2012)-4/caracterizacao-da-producao-de-queijo-artesanal-na-regiao-de-montes-cla/). Acesso em: 06 maio 2023.
- ANASTASIOU, R. *et al.* Omics approaches to assess flavor development in cheese. **Foods**, [Switzerland], v. 11, n. 2, p. 188, Jan. 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35053920/>. Acesso em: 19 maio 2023.
- ANDRADE, R. P. *et al.* Yeasts from Canastra cheese production process: Isolation and evaluation of their potential for cheese whey fermentation. **Food Research International**, [United Kingdom], v. 91, p. 72-79, Jan. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28290329/>. Acesso em: 11 abr. 2023.
- ANTÔNIO, M. B.; BORELLI, B. A importância das bactérias lácticas na segurança e qualidade dos queijos Minas artesanais. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, [Juiz de Fora], v. 75, n. 3, p. 204-221, 2020. Disponível em: <https://www.revistadoilct.com.br/rilct/article/view/799>. Acesso em: 14 mar. 2023.
- 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**, [India], v. 59, n. 12, p. 4685-4694, Dec. 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36276518/>. Acesso em: 19 mar. 2023.
- ARAÚJO, J. P. A. *et al.* Uma análise histórico-crítica sobre o desenvolvimento das normas brasileiras relacionadas a queijos artesanais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [Belo Horizonte], v. 72, n. 5, p. 1845-1860, set./out. 2020. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/hXbSqrB9NfTcJJrMP946FRs/?format=html>. Acesso em: 18 jun. 2023.
- ARCHDAILY TEAM. **Queijo Minas poderá ingressar na lista de Patrimônio Cultural Imaterial da Humanidade**. 2023. Disponível em: <https://www.archdaily.com.br/br/999224/queijo-minas-podera-ingressar-na-lista-de-patrimonio-cultural-imaterial-da-humanidade>. Acesso em: 23 jun. 2023.
- ATANASSOVA, M. R., *et al.* Characterization of yeasts isolated from artisanal short-ripened cows' cheeses produced in Galicia (NW Spain). **Food Microbiology**, [United states], v. 53, p. 172-181, Feb. 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26678145/>. Acesso em: 29 abr. 2023.
- BANJARA, N.; SUHR, M. J.; HALLEN-ADAMS, H. E. Diversity of yeast and mold species from a variety of cheese types. **Current Microbiology**, [United states], v. 70, n. 6, p. 792-800, June 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25694357/>. Acesso em: 09 maio 2023.
- BERTUZZI, A. S. *et al.* Omics-based insights into flavor development and microbial succession within surface-ripened cheese. **mSystems**, [United States], v. 3, n. 1, p. e00211-

17, Jan./Feb. 2018. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5790873/>. Acesso em: 11 jun. 2023.

BEZERRA, T. K. A. *et al.* Volatile profile in goat coalho cheese supplemented with probiotic lactic acid bacteria. **LWT-Food Science and Technology**, [United States], v. 76, p. 209-215, Mar. 2017. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643816301773?via%3Dihub>.

Acesso em: 14 abr. 2023.

BIOLCATI, F. *et al.* Microbial characterization of an artisanal production of Robiola di

Roccamare cheese. **Journal of Dairy Science**, [United States], v. 103, n. 5, p. 4056-4067,

May 2020. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030220301910>. Acesso em: 17 maio

2023.

BORELLI, B. M. *et al.* Yeast populations associated with the artisanal cheese produced in the

region of Serra da Canastra, Brazil. **World Journal Microbiology and Biotechnology**.

[Netherlands], v. 22, p. 1115–1119. Apr. 2006. Disponível em:

<https://link.springer.com/article/10.1007/s11274-006-9151-3>. Acesso em: 04 jun. 2023.

BOUTROU, R.; KERRIOU, L.; GASSI, J.-Y. Contribution of *Geotrichum candidum* to the proteolysis of soft cheese. **International Dairy Journal**, [Netherlands], v. 16, n. 7, p. 775-783, July 2006. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0958694605001470?via%3Dihub>.

Acesso em: 19 mar. 2023.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 9.918, de 18 de julho de 2019. **Dispõe sobre o processo de fiscalização de produtos alimentícios de origem animal produzidos de forma artesanal**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 19 de julho de 2019a. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2019-2022/2019/decreto/d9918.htm. Acesso em: 14 abr. 2023.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 73, de 23 de dezembro de 2019. **Estabelece o Regulamento Técnico de Boas Práticas Agropecuárias destinadas aos produtores rurais fornecedores de leite para a fabricação de produtos lácteos artesanais, necessárias à concessão do selo ARTE**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 30 de dezembro de 2019b. Disponível em:

<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/producao-animal/selo-arte-selo-queijo-artesanal/legislacao/INSTRUONORMATIVAN73DE23DEDEZEMBRODE2019INSTRUONORMATIVAN73DE23DEDEZEMBRODE2019DOUImprensaNacional.pdf/view>. Acesso em: 14 abr. 2023.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Lei nº 13.860, de 18 de julho de 2019. **Dispõe sobre a elaboração e a comercialização de queijos artesanais e dá outras providências**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 19 de julho de 2019c. Disponível em:

<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/producao-animal/selo-arte-selo-queijo-artesanal/legislacao/lei-no-13-860-de-18-de-julho-de-2019.pdf/view>. Acesso em: 09 maio

2023.

CAMPAGNOLLO, F. B. *et al.* Selection of indigenous lactic 78 acid bacteria presenting anti-listerial activity, and their role in reducing the maturation period and assuring the safety of traditional Brazilian cheeses. **Food Microbiology**, [United States], v. 73, p. 288-297, Aug. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29526214/>. Acesso em: 19 maio 2023.

CAMPOS, G. Z. **Avaliação microbiológica de queijos minas artesanais provenientes da Serra da Canastra durante e após o período de maturação.** 2019. 90p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

CARDIN, M. *et al.* Authenticity and Typicity of Traditional Cheeses: A Review on Geographical Origin Authentication Methods. **Foods**, [], v.11, n. 21, p. 3379, Oct. 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/11/21/3379>. Acesso em: 22 maio 2023.

CARDOSO, V. *et al.* The influence of seasons and ripening time on yeast communities of a traditional Brazilian cheese. **Food Research International**, [United Kingdom], v. 69, p. 331-340, Mar. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996914008291>. Acesso em: 26 mar. 2023.

CASTRO, R. D. *et al.* Lactic acid microbiota identification in water, raw milk, endogenous starter culture, and fresh Minas artisanal cheese from the Campo das Vertentes region of Brazil during the dry and rainy seasons. **Journal of Dairy Science**, [United States], v. 99, n. 8, p. 6086-6096, Aug. 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030216303502>. Acesso em: 06 jun. 2023.

CÉSAR, I. C. R. *et al.* **Filamentous Fungi from Artisanal Cheeses Produced in Canastra Region, Brazil.** SSRN, [New York], June 2022. Disponível em: https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=4142335. Acesso em: 17 maio 2023.

CESARIO, B. I. R. **Sucessão microbiana no processo de maturação do Queijo Minas Artesanal produzido na região de Araxá-MG, coma presença do mofo branco.** 2022. 74p. Dissertação (mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2022.

CONGRESSO BRASILEIRO DE ORGANIZAÇÃO DO ESPAÇO - SEMINÁRIO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GEOGRAFIA, 3; 15., 2021. **Anais [...]**. Rio Claro: Associação dos Geógrafos Brasileiros, 2021.

CRUZ, B. S.; MOREIRA, L. M. L. A transformação de alimentos tradicionais em produtos simbólicos: um estudo de caso com o Queijo Canastra. **Revista Ingesta**, [São Paulo], v. 1, n. 2, p. 173-174, dez. 2019. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/revistaingesta/article/view/164627>. Acesso em: 09 mar. 2023.

DALMASSO, A. *et al.* Characterization of microbiota in Plaisentif cheese by high-throughput sequencing. **LWT-Food Science and Technology**, [United States], v. 69, p. 490-496, June 2016. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643816300834?via%3Dihub>. Acesso em: 19 maio 2023.

DINIZ, M. F. S. **Queijo Canastra: um estudo envolvendo aspectos culturais e parâmetros de inocuidade do alimento**. 2013. 159 p. Dissertação (Mestrado em Ciências e tecnologias de alimentos) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

DONNELLY, C. W. From pasteur to probiotics: a historical overview of cheese and microbes. **Microbiology Spectrum**, [United States], v. 1, n. 1, p. 1-12, Oct. 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26184821/>. Acesso em: 09 abr. 2023.

DORES, M. T. **Queijo Minas Artesanal da Canastra maturado à temperatura ambiente e sob refrigeração**. 2007. 103p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.

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**, [Campinas], v. 33, n. 1, p. 180–185, mar. 2013. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cta/a/wbj3mHBNprWfYy8x6STH6rK/?lang=en>. Acesso em: 02 maio 2023.

DORES, M. T.; FERREIRA, C. L. L. F. Queijo Minas Artesanal, tradição centenária: ameaças e desafios. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, [Viçosa], v. 2, n. 2, p. 26-34, dez. 2012. Disponível em: <https://periodicos.ufv.br/rbas/article/view/2754>. Acesso em: 26 maio 2023.

ENANPEGE, XVI., 2021, Campina Grande. **Anais [...]**. Campina Grande: Realize Editora, 2021. Disponível em: <https://mail.editorarealize.com.br/artigo/visualizar/81910>. Acesso em: 12 jun. 2023.

FIGUEIREDO, S. P. *et al.* Características do leite cru e do queijo Minas artesanal do serro em diferentes meses. **Archives of Veterinary Science**, [Curitiba], v. 20, n. 1, p. 68-82, 2015. Disponível em: <https://revistas.ufpr.br/veterinary/article/view/37243>. Acesso em: 12 abr. 2023.

FLORES, D. J. O. *et al.* Vantagens e desvantagens de uma associação: o caso de produtores de queijo Canastra. In: **XII Jornada Científica**, IFMG, Bambuí, 2019. Disponível em: https://sistemas.bambui.ifmg.edu.br/open_conference/index.php/jornadacientifica/jc2019/paper/view/264. Acesso em: 29 mar. 2023.

FONTAINE, K. *et al.* Occurrence of roquefortine C, mycophenolic acid and aflatoxin M1 mycotoxins in blue-veined cheeses. **Food Control**, [Netherlands], v. 47, p. 634-640, Jan. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713514004319?via%3Dihub>. Acesso em: 06 abr. 2023.

FOX, P. F. *et al.* Biochemistry of Cheese Ripening. In: FOX, P. F.; GUINEE, T. P.; COGAN, T. M.; MCSWEENEY, P. L. H. **Fundamentals of Cheese Science**. 2nd ed. Boston: Springer, 2017. p. 391-442.

HOOG, G. S.; SMITH, M. TH. Ribosomal gene phylogeny and species delimitation in *Geotrichum* and its teleomorphs. **Studies in Mycology**, [Netherlands], v. 50, p. 489-515, 2004. Disponível em: https://www.studiesinmycology.org/sim/Sim50/046-Ribosomal_gene_phylogeny_and_species_delimitation_in_Geotrichum_and_its_teleomorphs.pdf. Acesso em: 19 abr. 2023.

HYMERY, N. *et al.* Filamentous fungi and mycotoxins in cheese: a review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, [United States], v. 13, n. 4, p. 437-456, July 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33412699/>. Acesso em: 14 maio 2023.

IMA - INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria N° 2051, de 07 de abril de 2021. **Define o período de Maturação do Queijo Minas Artesanal produzido nas microrregiões de Araxá, Campo das Vertentes, Canastra, Cerrado, Serra do Salitre, Serro e Triângulo Mineiro**. Belo Horizonte, 07 de abril de 2021. Disponível em: <http://ima.mg.gov.br/institucional/portarias/1819-portarias/1966-portarias-ano-2021>. Acesso em: 11 jun. 2023.

INPI - INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL. **Guia de implementação de indicações geográficas para produtos: orientações para o desenvolvimento de projetos para o reconhecimento de uma indicação geográfica no INPI**. Brasília, 2011. 86p.

IPHAN - INSTITUTO DO PATRIMÔNIO HISTÓRICO E ARTÍSTICO NACIONAL. **Modo artesanal de fazer queijo de Minas: Serro, Serra da Canastra e Serra do Salitre (Alto Paranaíba)**. Brasília: IPHAN, 2014. 142p. Disponível em: http://portal.iphan.gov.br/uploads/publicacao/Dossie_Queijo_de_Minis_web.pdf. Acesso em: 22 maio 2023.

JASTER, H. *et al.* Quality assessment of the manufacture of new ripened soft cheese by *Geotrichum candidum*: physico-chemical and technological properties. **Food Science and Technology**, [Campinas], v. 39, n. 1, p. 50-58, 2019. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cta/a/whThmchfNmM7CgTfFNWGmnn/>. Acesso em: 09 abr. 2023.

JESUS FILHO, M. de. *et al.* Key aroma compounds of Canastra cheese: HS-SPME optimization assisted by olfactometry and chemometrics. **Food Research International**, [United Kingdom], v. 150, p. 110788, Dec. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996921006888>. Acesso em: 08 maio 2023.

JOLLIVET, N. *et al.* Production of volatile compounds in model milk and cheese media by eight strains of *Geotrichum candidum* Link. **Journal of Dairy Research**, [United Kingdom], v. 61, n. 2, p. 241-248, May 1997. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/journals/journal-of-dairy-research/article/abs/production-of-volatile-compounds-in-model-milk-and-cheese-media-by-eight-strains-of-geotrichum-candidum-link/E6108FB0BED1DFC56B1BB0815AB2EC6F>. Acesso em: 14 mar. 2023.

JONNALA, B. R. Y. *et al.* Sequencing of the cheese microbiome and its relevance to industry. **Frontiers in Microbiology**, [Switzerland], v. 9, p. 1020, May 2018. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2018.01020/full>. Acesso em: 19 mar. 2023.

KAMIMURA, B. A. *et al.* Amplicon sequencing reveals the bacterial diversity in milk, dairy premises and Serra da Canastra artisanal cheeses produced by three different farms. **Food Microbiology**, [United States], v. 89, p. 103453, Aug. 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32138999/>. Acesso em: 22 maio 2023.

KAMIMURA, B. A. *et al.* Brazilian artisanal cheeses: an overview of their characteristics, main types and regulatory aspects. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, [United States], v. 18, n. 5, p. 1636-1657, Sept. 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33336917/>. Acesso em: 29 abr. 2023.

KANDASAMY, S. *et al.* Characterisation of fungal contamination sources for use in quality management of cheese production farms in Korea. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, [South Korea], v. 33, n. 6, p. 1002-1011, Oct 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7206383/>. Acesso em: 09 mar. 2023.

KHUNNAMWONG, P. *et al.* Description of *Diutina* gen. nov., *Diutina siamensis*, fa sp. nov., and reassignment of *Candida catenulata*, *Candida mesorugosa*, *Candida neorugosa*, *Candida pseudorugosa*, *Candida ranongensis*, *Candida rugosa* and *Candida scorzettiae* to the genus *Diutina*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, [United Kingdom], v. 65, n. 12, p. 4701-4709, Dec. 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26410375/>. Acesso em: 17 maio 2023.

KOŇUCHOVÁ, M. *et al.* Biodiversity evaluation of *Geotrichum candidum* link. Is arthrosporic nucleus number in *Geotrichum candidum* related to the fungus biodiversity. **Scientia Agriculturae Bohemica**, [Germany], v. 47, n. 4, p. 181-186, 2016. Disponível em: <https://sab.czu.cz/en/r-8044-archive/r-11549-2016-issues/r-11641-04-2016/biodiversity-evaluation-of-geotrichum-candidum-link-is-arthr.html>. Acesso em: 05 abr. 2023.

KORENA, K. *et al.* Microbial Succession in the Cheese Ripening Process—Competition of the Starter Cultures and the Microbiota of the Cheese Plant Environment. **Microorganisms**, [Switzerland], v. 11, n. 7, p. 1735, July 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37512907/>. Acesso em: 05 abr. 2023.

KOTHE, C. I.; MOHELLIBI, N.; RENAULT, P. Revealing the microbial heritage of traditional Brazilian cheeses through metagenomics. **Food Research International**, [United Kingdom], v. 157, p. 111265, July 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35761577/>. Acesso em: 17 maio 2023.

LAVOIE, K. *et al.* Characterization of the fungal microflora in raw milk and specialty cheeses of the province of Quebec. **Dairy Science & Technology**, [United states], v. 92, n. 5, p. 455-468, Sept. 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23125908/>. Acesso em: 14 jun. 2023.

LICITRA, G. World wide traditional cheeses: Banned for business?. **Dairy Science & Technology**, [United States], v. 90, n. 4, p. 357-374, May 2010. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1051/dst/2010016>. Acesso em: 13 abr. 2023.

MACZUGA, J. M. **Potencial antagonista de bactérias do ácido lático isoladas do leite cru contra *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes***. 2020. 48p. Dissertação (mestrado) - Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná, Florianópolis, 2020.

MARCELLINO, N.; BENSON, D. R. The good, the bad, and the ugly: tales of mold-ripened cheese. **Microbiology Spectrum**, v. 1, n. 1, p. 1-27, Oct 2013. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/pdf/10.1128/microbiolspec.cm-0005-12>. Acesso em: 14 jun. 2023.

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**, [United States], v. 103, n. 9, p. 7908-7926, Sept. 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32684468/>. Acesso em: 17 abr. 2023.

MARTIN, B. *et al.* The contribution of mountain pastures to the link to terroir in dairy and meat products. **Options Méditerranéennes**, [France], v. 116 105-115, 2016. Disponível em: <https://om.ciheam.org/om/pdf/a116/00007429.pdf>. Acesso em: 17 abr. 2023.

MARTIN, J. G. P. *et al.* Seasonal variation in the Canastra cheese mycobiota. **Frontiers in Microbiology**, [Switzerland], v. 13, p. 5437, Feb. 2023. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2022.1076672/full>. Acesso em: 14 maio 2023.

MARTIN, J. G. P.; COTTER, P. D. Filamentous fungi in artisanal cheeses: A problem to be avoided or a market opportunity?. **Heliyon**, [Netherlands], v. 9, n. 4, p. e15110, Mar. 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37151695/>. Acesso em: 17 maio 2023.

MARTINS, J. M. *et al.* Determining the minimum ripening time of artisanal Minas cheese, a traditional Brazilian cheese. **Brazilian Journal of Microbiology**, [São Paulo], v. 46, n. 1, p. 219-230, Jan./Mar. 2015. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjm/a/cKxgCqBZXVzWr8TSq8SLxSc/>. Acesso em: 22 abr. 2023.

McSWEENEY, P. L. H. *et al.* **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology**. 4th ed, Cambridge: Academic Press, 2017. 1302p.

MENESES, J. N. C. **Queijo Artesanal de Minas**. Patrimônio Cultural do Brasil – Dossiê interpretativo. Belo Horizonte: Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional – IPHAN, 2006. 156p.

MERGAREJO NETTO, M. **A geografia do queijo Minas artesanal**. 2011. 420 p. Tese (Doutorado em Geografia) – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2011.

MILKPOINT. **MG: produtores de queijos artesanais pretendem aumentar a produção**. Giro de Notícias, 2021. Disponível em: <https://www.milkpoint.com.br/noticias-e-mercado/giro-noticias/pequeno-produtor-dobra-aposta-nos-queijos-228471/>. Acesso em: 14 jun. 2023.

MINAS GERAIS. Decreto 48.024, de 19 de ago. de 2020. **Regulamenta a Lei no 23.157, de 18 de dezembro de 2018, que dispõe sobre a produção e a comercialização dos queijos artesanais de Minas Gerais**. Belo Horizonte: Diário Oficial do Estado de Minas Gerais,

2020. Disponível em: <https://www.almg.gov.br/legislacao-mineira/DEC/48024/2020/>. Acesso em: 14 jun. 2023.

MINAS GERAIS. SECRETARIA DE ESTADO DE AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO – SEAPA. Resolução N° 42, de 27 de dez. de 2022. **Reconhece e define sobre Queijo Minas Artesanal de Casca Florida (QMACF)**. Diário Oficial do Estado de Minas Gerais, 2022.

MONNET, C. *et al.* Growth and adaptation of microorganisms on the cheese surface. **FEMS Microbiology Letters**, [United Kingdom], v. 362, n. 1, p. 1-9, Jan. 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25790503/>. Acesso em: 17 maio 2023.

MONTAGNA, M. T. *et al.* Investigation of fungal contamination in sheep and goat cheeses in southern Italy. **Mycopathologia**, [Netherlands], v. 158, n. 2, p. 245-249, Aug. 2004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15518354/>. Acesso em: 19 maio 2023.

MONTEL, M. C. *et al.* Traditional cheeses: rich and diverse microbiota with associated benefits. **International Journal of Food Microbiology**, [Netherlands], v. 177, p. 136-154, May 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24642348/>. Acesso em: 14 abr. 2023.

NASCIMENTO, R. S.; ROSALIN, J. P.; ISMAEL, V. P. Os Elementos da Produção de Queijo Minas Artesanal na Região da Serra da Canastra (MG): Paisagem e Território na Perspectiva da Geografia Cultural. **Revista Geoaraguaia**, [Barra das Garças], v. 11, n. 1, p. 278-293, 2021. Disponível em: <https://periodicoscientificos.ufmt.br/ojs/index.php/geo/article/view/12655>. Acesso em: 02 abr. 2023.

NÓBREGA, J. E. *et al.* Variações na microbiota leveduriforme do fermento endógeno utilizado na produção do queijo Canastra. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, [Juiz de Fora], v. 63, n. 364, p. 14-18, 2008. Disponível em: <https://www.revistadoilct.com.br/rilct/article/view/59>. Acesso em: 19 jun. 2023.

NOGUEIRA, T. S. *et al.* Different types of packaging influence sensory profile of Canastra artisanal cheese. **Food Packaging and Shelf Life**, [Netherlands], v. 28, p. 100673, June 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2214289421000417?via%3Dihub>. Acesso em: 17 maio 2023.

NORTHOLT, M. D. *et al.* Fungal growth and the presence of sterigmatocystin in hard cheese. **Journal – Association of Official Analytical Chemistry**, [United States], v. 63, n. 1, p. 115-119, Jan. 1980. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7380782/>. Acesso em: 14 abr. 2023.

PACHECO, A. F. C. *et al.* **Queijo minas artesanal**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, Divisão de Extensão, 2021. 64p.

PERIN, L. M. *et al.* Bacterial ecology of artisanal Minas cheeses assessed by culture-dependent and -independent methods. **Food Microbiology**, [United States], v. 65, p. 160–169, Aug. 2017. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0740002016306086>. Acesso em: 22 maio 2023.

PERKINS, V. *et al.* Phenotypic and genetic characterization of the cheese ripening yeast *Geotrichum candidum*. **Frontiers in Microbiology**, [Switzerland], v. 11, p. 737, May 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32457706/>. Acesso em: 29 abr. 2023.

PINHEIRO, J. S. **Maturação do Queijo Minas Artesanal: comportamento de *Listeria monocytogenes*, aceitação sensorial e predição do tempo por espectroscopia no infravermelho.** 2018. 116 p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2018.

PITT, J. I. Toxigenic fungi and mycotoxins. **British Medical Bulletin**, [United Kingdom], v. 56, n. 1, p. 184-192. 2000. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10885115/>. Acesso em: 14 maio 2023.

QUIGLEY, L. *et al.* The complex microbiota of raw milk. **FEMS Microbiology Reviews**, [United Kingdom], v. 37, n. 5, p. 664-698, Sept. 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23808865/>. Acesso em: 17 maio 2023.

SÁ, L. F. C. **Queijo minas artesanal do Campo das Vertentes: caracterização, diagnóstico de produção e comercialização em período de pandemia da COVID-19.** 2021. 95p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais - Campus Rio Pomba, 2021.

SACRISTÁN, N. *et al.* Technological characterization of *Geotrichum candidum* strains isolated from a traditional Spanish goats' milk cheese. **Food Microbiology**, [United States], v. 30, n. 1, p. 260-266, May 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22265310/>. Acesso em: 22 abr. 2023.

SANT'ANNA, F. M. *et al.* Assessment of the probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from Minas artisanal cheese produced in the Campo das Vertentes region, Brazil. **International Journal of Dairy Technology**, [United States], v. 70, n. 4, p. 592-602, June 2017. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1471-0307.12422>. Acesso em: 24 abr. 2023.

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.

SEBRAE - SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS. **Queijo de Canastra: o paladar inconfundível do Canastra, conquistado gota a gota, do pingo que escorre do queijo fresco.** 2021. Disponível em: <https://sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/origens/queijo-de-canastra,aa7e467412ff7710VgnVCM100000d701210aRCRD>. Acesso em: 20 jun. 2023.

SEDDEK, N. H.; GOMAH, N. H.; OSMAN, D. M. Fungal flora contaminating Egyptian Ras cheese with reference to their toxins and enzymes. **Food Science and Technology**,

[Campinas], v. 4, n. 4, p. 64-68, 2016. Disponível em:
https://www.hrpub.org/journals/article_info.php?aid=5106. Acesso em: 19 maio 2023.

SENGUN, I.; YAMAN, D. B.; GONUL, S. Mycotoxins and mould contamination in cheese: a review. **World Mycotoxin Journal**, [Netherlands], v. 1, n. 3, p. 291-298, Aug. 2008. Disponível em: https://brill.com/view/journals/wmj/1/3/article-p291_291.xml. Acesso em: 22 maio 2023.

SILVA, J. M. M. **Micobiota core de queijos de leite cru produzidos na região da Serra da Canastra**. 2020. 63p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2020.

SILVA, M. C. D. *et al.* Influência dos procedimentos de fabricação nas características físico-químicas, sensoriais e microbiológicas de queijo de coalho. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, [São Paulo], v. 69, n. 2, p. 214-221, 2010. Disponível em: <https://docs.bvsalud.org/biblioref/ses-sp/2010/ses-17985/ses-17985-1821.pdf>. Acesso em: 22 abr. 2023.

SIMONCINI, J. B. V. B. **Produzir para viver ou viver para produzir: conflitos vividos pelos produtores familiares e as estratégias de resistência no território do queijo Canastra**. Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2017.

SLOW FOOD BRASIL. **Arca do gosto: Minas Gerais**. 100 alimentos da sociobiodiversidade. São Paulo: Associação Slow Food do Brasil, 2021. 1022p.

SOARES, D. B. *et al.* Análise sanitária e físico-química e adequação bacteriológica do queijo Minas artesanal produzido em duas propriedades. **Ciência Animal Brasileira**, [Goiânia], v. 19, p. 1-13, 2018. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cab/a/ywLkGX9YSC6crBTRZYS6X8t/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 22 maio 2023.

SØRENSEN, L. M. *et al.* Flavour compound production by *Yarrowia lipolytica*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Debaryomyces hansenii* in a cheese-surface model. **International Dairy Journal**, [Netherlands], v. 21, n. 12, p. 970-978. Dec. 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0958694611001816?via%3Dihub>. Acesso em: 19 mar. 2023.

SOUZA, T. P. *et al.* Mycobiota of Minas artisanal cheese: Safety and quality. **International Dairy Journal**, [Netherlands], v. 120, 105085, Sept. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0958694621001138?via%3Dihub>. Acesso em: 19 maio 2023.

ŠTEFÁNIKOVÁ, J. *et al.* The impact of different factors on the quality and volatile organic compounds profile in “Bryndza” cheese. **Foods**, [Switzerland], v. 9, n. 9, p. 1195, Aug. 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/9/9/1195>. Acesso em: 14 mar. 2023.

SULEJMANI, E.; HAYALOGLU, A. A. Influence of curd heating on proteolysis and volatiles of Kashkaval cheese. **Food Chemistry**, [United Kingdom], v. 211, p. 160-170, Nov. 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27283619/>. Acesso em: 15 mar. 2023.

SZABÓ, M. P. J. *et al.* Ticks (Acari: Ixodidae) in the Serra da Canastra National Park in Minas Gerais, Brazil: species, abundance, ecological and seasonal aspects with notes on rickettsial infection. **Experimental and Applied Acarology**, [Netherlands], v. 76, n. 3, p. 381-397, Nov. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30317459/>. Acesso em: 16 maio 2023.

TILOCCA, B. *et al.* Milk microbiota: Characterization methods and role in cheese production. **Journal of Proteomics**, [Netherlands], v. 210, p. 103534, Jan. 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31629058/>. Acesso em: 22 mar. 2023.

UNNO, R. *et al.* Evaluation of the relationships between microbiota and metabolites in soft-type ripened cheese using an integrated omics approach. **Frontiers in Microbiology**, [Switzerland], v. 12, p. 681185, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34168634/>. Acesso em: 29 abr. 2023.

VIEIRA, A. C. A. *et al.* Potencial probiótico de bactérias ácido-láticas isoladas de queijo Minas artesanal. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, [Juiz de Fora], v. 77, n. 1, p. 32-42, 2022. Disponível em: <https://www.revistadoilct.com.br/rilct/article/view/869>. Acesso em: 26 maio 2023.

WILKINSON, J. **Mercados, redes e valores: o novo mundo da agricultura familiar**. Porto Alegre: UFRGS, 2008. 213p.

WILKINSON, J.; CERDAN, C.; DORIGON, C. Geographical Indications and “Origin” Products in Brazil – The Interplay of Institutions and Networks. **World Development**. [United Kingdom], v. 98, p. 82–92, 2017. Disponível em: https://www.academia.edu/86196610/Geographical_Indications_and_Origin_Products_in_Brazil_The_Interplay_of_Institutions_and_Networks?uc-sb-sw=6834262. Acesso em: 29 maio 2023.

WOLFE, B. E. *et al.* Cheese rind communities provide tractable systems for in situ and in vitro studies of microbial diversity. **Cell**, [United States], v. 158, n. 2, p. 422–433, July 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25036636/>. Acesso em: 06 maio 2023.

ZACARCHENCO, P. B.; VAN DENDER, A. G. F.; REGO, R. A. (Eds.). **Brasil Dairy Trends 2020**. 1. ed. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos - ITAL, 2017. 343p.

ZHENG, X. *et al.* Dynamic correlations between microbiota succession and flavor development involved in the ripening of Kazak artisanal cheese. **Food Research International**, [United Kingdom], v. 105, p. 733-742, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29433268/>. Acesso em: 12 jun. 2023.

SEGUNDA PARTE - ARTIGOS

ARTIGO 1 – Microbiota *terroir* da superfície e do interior do Queijo Minas Artesanal da Canastra, Minas Gerais, Brasil

Michele de Oliveira Paiva Aragão¹, Luís Roberto Batista^{1*}

¹Departamento 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 1407

E-mail: luisrb@dca.ufla.br

RESUMO

O queijo artesanal produzido na microrregião da Canastra tem ganhado visibilidade em concursos mundo afora, se destacando entre os melhores queijos do mundo. O reconhecimento da qualidade sensorial do produto e a intensa divulgação midiática em torno deste, tem atraído turistas e consumidores às queijarias produtoras. A microbiota típica do *terroir* presente no queijo sofre influência de diversos fatores. Desse modo, conhecer esta comunidade microbiana possibilita melhorias e adequações no processo de fabricação, além de identificar fraudes, visando garantir a qualidade e a segurança no consumo de queijos artesanais. Determinar um perfil para a microbiota, compreendendo os fungos filamentosos, bactérias e leveduras, presentes tanto na superfície quanto no interior do Queijo Minas Artesanal Casca Florida, da região da Canastra, foi o alvo deste estudo. Para tal, foi realizado sequenciamento amplicon das regiões ITS e 16S de amostras da casca e da massa dos queijos de seis propriedades distintas. As espécies fúngicas mais prevalentes na casca e no interior foram *Geotrichum candidum* e *Diutina catenulata*. *Candida intermedia* foi mais abundante apenas no interior dos queijos. Entre as bactérias, a superfície apresentou maior diversidade de gêneros e espécies, como *Lactococcus* sp., *Brevibacterium* sp., *Corynebacterium variabile* e *Staphylococcus* sp. Apenas *Lactococcus* sp., *Streptococcus salivarius* e espécies não identificadas do gênero *Streptococcus* prevaleceram no interior dos queijos. Diferenças entre a prevalência de espécies se destacaram. Nas amostras com maior abundância de *G. candidum* e *Lactococcus* spp. notou-se menor prevalência de *D. catenulata* e *C. variabile*, respectivamente. Os resultados colaboram para o conhecimento da comunidade microbiana dos queijos da região e contribuem para a implantação de estratégias que possam melhorar a qualidade e segurança na produção.

Palavras-chave: *Terroir*. Diversidade. *Geotrichum candidum*. Metagenômica.

ABSTRACT

The cheese produced in the Canastra micro-region has gained visibility in competitions around the world, standing out among the best cheeses in the world. Recognition of the sensory quality of the product and the intense media publicity around it has attracted tourists and consumers to the cheese producing dairies. The typical terroir microbiota present in cheese is influenced by several factors. Therefore, knowing this microbial community enables improvements and adjustments in the manufacturing process, in addition to identifying fraud, aiming to guarantee the quality and safety in the consumption of artisanal cheeses. Determining a profile for the microbiota, comprising filamentous fungi, bacteria and yeasts, present both on the surface and mass of the Bloomy Rind Artisanal Minas Cheese from the Canastra region was the aim of this study. For this, amplicon sequencing of the ITS and 16S regions of rind and mass samples of cheeses with six different properties was carried out. The most prevalent fungal species on the bark and inside were *Geotrichum candidum* and *Diutina catenulata*. *Candida intermedia* was more abundant only inside the cheeses. Among the bacteria, the surface showed a greater diversity of bacterial genera and species, such as *Lactococcus* sp., *Brevibacterium* sp., *Corynebacterium variabile* and *Staphylococcus* sp. Only *Lactococcus* sp., *Streptococcus salivarius* and unidentified species of the genus *Streptococcus* prevailed inside the cheeses. Differences between species prevalence stood out. In samples with greater abundance of *G. candidum* and *Lactococcus* spp., a lower prevalence of *D. catenulata* and *C. variabile*, respectively, was noted. The results contribute to the knowledge of the microbial community of cheeses in the region and contribute to the implantation of strategies that can improve quality and safety in production.

Keywords: *Terroir*. Diversity. *Geotrichum candidum*. Metagenomics.

1 INTRODUÇÃO

Os queijos artesanais de Minas Gerais, patrimônio imaterial nacional são produtos com longa história e grande importância sociocultural. Sua fabricação em pequena escala, a partir de processos artesanais e rudimentares é definida e certificada dentro das microrregiões produtoras (IPHAN, 2014; MINAS GERAIS, 2020). São reconhecidas atualmente dez microrregiões produtoras de Queijo Minas Artesanal, sendo elas: Araxá, Campo das Vertentes, Cerrado, Serra da Canastra, Serras da Ibitipoca, Serra do Salitre, Serro, Triângulo Mineiro, Diamantina e Entre Serras da Piedade ao Caraça (VIEIRA *et al.*, 2022).

O queijo produzido na microrregião da Canastra tem ganhado espaço e notoriedade em concursos mundo afora, sendo reconhecido entre os melhores queijos do mundo (MARTIN *et al.*, 2023). O reconhecimento da qualidade sensorial do produto em concursos internacionais e a intensa divulgação midiática em torno deste, também tem atraído turistas e consumidores às queijarias produtoras.

Nos últimos anos houve a criação de novos regulamentos específicos voltados para a produção dos queijos artesanais que estabelecem parâmetros físico-químicos e microbiológicos de qualidade dos queijos a fim de garantir a segurança do consumidor e aumentar sua confiança do pelo produto (ARAÚJO *et al.*, 2020; KAMIMURA *et al.*, 2019). Além disso, a microbiota característica do *terroir* dos queijos artesanais da Canastra tem sido amplamente estudada (ANDRADE *et al.*, 2017; ARAGÃO *et al.*, 2022; KAMIMURA *et al.*, 2019; KAMIMURA *et al.*, 2020; KOTHE; MOHELLIBI; RENAULT, 2022; MARTIN *et al.*, 2023; PERIN *et al.*, 2017).

Sabe-se que há uma variação na microbiota dos queijos entre as microrregiões, entre as queijarias produtoras e até mesmo entre os queijos de um mesmo produtor. Essas diferenças podem estar relacionadas ao processo de produção, às estações do ano, à utilização ou não de fermentos, ao tempo de maturação e à composição das bactérias ácido lácticas e leveduras presentes (DORES; FERREIRA, 2012; CARDOSO *et al.*, 2015; FIGUEIREDO *et al.*, 2015; JONNALA *et al.*, 2018).

A variabilidade da microbiota do leite, bem como do soro, das queijarias e do soro fermento (pingo) tem forte relevância na formação da microbiota do produto final (KAMIMURA *et al.*, 2020). Em sincronia, bactérias ácido lácticas, fungos filamentosos e leveduras têm papel importante na maturação do queijo através da fermentação da lactose, proteólise, lipólise, metabolização do lactato e produção de compostos aromáticos desejáveis (BIOLCATI *et al.*, 2020; QUIGLEY *et al.*, 2013).

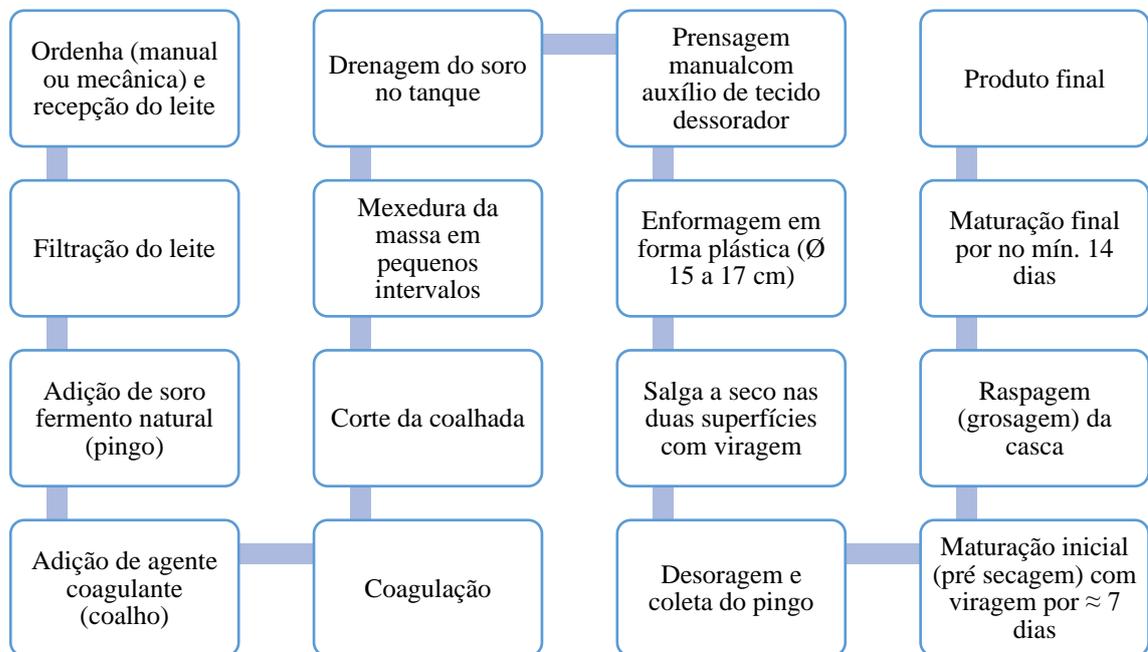
Deste modo, o presente estudo teve por objetivo melhorar a compreensão sobre a comunidade microbiana, característica do *terroir* do queijo artesanal da Canastra e sua influência sobre a qualidade e segurança do produto. Para isto, caracterizou-se a microbiota, compreendendo fungos filamentosos, leveduras e bactérias, presentes tanto na superfície quanto no interior do queijo, a partir de sequenciamento de amplicon das regiões ITS e 16S.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Caracterização da área de estudo

De modo geral, as queijarias produtoras se assemelham em estrutura e modo de fazer o queijo, conforme o fluxograma de produção do Queijo Minas Artesanal da Canastra (FIGURA 1). De acordo com critérios específicos exigidos pela legislação, todas as propriedades certificadas analisadas cumprem alguns requisitos básicos de higiene e segurança, de acordo com as Boas Práticas de Fabricação e Boas Práticas Agropecuárias (BRASIL, 2019).

Figura 1 - Fluxograma de produção do Queijo Minas Artesanal da Canastra.



Fonte: Da autora (2023). Adaptado de Monteiro; Matta (2018).

Na Tabela 1, detalham-se as informações coletadas *in situ* para caracterização do local de estudo e do *saber-fazer* específico de cada uma das queijarias produtoras envolvidas no estudo, incluindo as particularidades no modo tradicional de fazer o queijo.

Tabela 1 - Características das queijarias produtoras de Queijo Minas Artesanal (continua).

Características	Queijarias					
	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6
Ordenha	Mecânica	Mecânica	Mecânica	Mecânica	Mecânica	Mecânica
Controle microbiológico	CMT, análise leite (mensal), queijo e água (semestral)	CBT, análise do leite (mensal), do queijo e água (semestral)	CBT, acidímetro	CMT (quinzenal)	Análise leite (mensal), queijo	Acidímetro
Recepção do leite	Tanque (inox)	Tanque (inox)	Galão (plástico)	Tanque (inox)	Tanque (inox)	Galão (plástico)
Soro fermento	Pingo	Pingo	Pingo	Pingo	Pingo	Pingo
Agente coagulante	Clerice 80/20 (Sacco®)	Clerice 80/20 (Sacco®)	Quimofit (BV®)	Quimofit (BV®)	Quimofit (BV®)	Quimofit (BV®)
Volume produção diário	20/12 peças	24 peças	23 peças	8 peças	20/40 peças	31 peças
Período de produção	Manhã/Tarde	Manhã	Manhã	Manhã	Manhã	Manhã
EPI's	Uniforme/ Touca/ Bota	Uniforme/ Touca/ Bota/ Avental	Jaleco/ Touca/ Bota/ Avental	Roupa limpa/ Touca/ Bota	Uniforme/ Touca/ Bota/ Máscara	Uniforme/ Touca/ Avental/ Bota

Tabela 1 - Características das queijarias produtoras de Queijo Minas Artesanal (continua).

Características	Queijarias					
	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6
Material das prateleiras	Madeira (Cedrinho: <i>Erisma uncinatum</i> /Pinus: <i>Pinus elliotti</i>) e inox (pré-secagem)	Madeira (Cedrinho: <i>Erisma uncinatum</i>)	Madeira (Pinus: <i>Pinus elliotti</i>)	Madeira (Pinus: <i>Pinus elliotti</i>)	Madeira (Cedrinho: <i>Erisma uncinatum</i>)	Madeira (Cedrinho: <i>Erisma uncinatum</i> /Pinus: <i>Pinus elliotti</i>)
Climatização (controle umidade/temperatura)	Ar condicionado	Ar condicionado (máx. 19 °C)	Umificador (>40%)	-	Ar condicionado (máx. 20 °C); Janela aberta	Ventilador na área de maturação inicial
Certificação	SIF	Selo Arte	SIM	SIM	Selo Arte	SIM
Adaptações do processo de produção	Maturação inicial (72 horas) enformado; Maturação final (4° dia)	Maturação inicial (48 horas) ainda enformado; Desenformagem e grosagem (4° dia); lavagem do queijo em	Maturação inicial (24 horas); Grosagem (3° dia); Pré-secagem (24	Maturação inicial (24 horas); Grosagem e Maturação	Adição de 50% do pingo no tanque de recepção; Maturação inicial (3 a 5 dias); Grosagem (7° dia);	Adição de sal no tanque de recepção; Maturação inicial (72 horas) ainda enformado; Desenformagem e

Tabela 1 - Características das queijarias produtoras de Queijo Minas Artesanal (conclusão)

Características	Queijarias					
	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6
		água morna e soro coletado no dia (6° dia); pré-secagem (24 horas); maturação final (7° dia) com limpeza diária com pano	horas); Maturação final (4° dia)	final (3° dia);	Maturação final (8° dia); Limpeza com solução de água morna, sal e vinagre para controle de fungos filamentosos na superfície	grosagem (4° dia); Maturação final (7° dia)

Legenda: “Q” identifica as queijarias onde as amostras foram coletadas; CMT: *California Mastitis Test*; CBT: Contagem Bacteriana Total; Cedrinho: *Erisma uncinatum*; Pinus: *Pinus elliotti*; EPI's: equipamentos de proteção individual; SIM: Selo de Inspeção Municipal; SIF: Selo de Inspeção Federal.

Fonte: Da autora (2023).

2.2 Amostragem

Foram selecionados queijos Minas artesanal do tipo casca florida produzidos em queijarias produtoras certificadas da microrregião da Canastra que mostraram interesse em participar do estudo. Estas estão localizadas nos municípios de São Roque de Minas e Medeiros, na microrregião da Canastra, no estado de Minas Gerais, Brasil (TABELA 2).

Tabela 2 - Local de produção das amostras de Queijo Minas Artesanal da Canastra.

Amostras	Queijaria	Localização geográfica		
		Latitude	Longitude	Altitude (m)
A1	Q1	20°11'09"S	46°21'43"W	766 m
A2	Q2	20°06'45"S	46°15'13"W	889 m
A3	Q3	20°01'08"S	46°28'08"W	1.075 m
A4	Q4	20°02'40"S	46°33'05"W	1.225 m
A5	Q5	20°06'24"S	46°19'15"W	826 m
A6	Q6	20°01'52"S	46°27'49"W	1.050 m

Legenda: "A" identifica as amostras de queijo; "Q" identifica as queijarias onde as amostras foram coletadas.

Fonte: Da autora (2023).

As amostras, com tempo de maturação de 15 dias (FIGURA 2) foram coletadas nas queijarias no mês de julho de 2021, armazenadas em sacos estéreis e transportadas em temperatura ambiente até a Unidade de Recursos Microbiológicos (URMICRO), da Universidade Federal de Lavras (UFLA). As amostras foram então preparadas e enviadas para laboratório especializado em análise metagenômica para posterior análise.

Figura 2 - Amostra de queijo artesanal de casca florida da microrregião da Canastra.



Fonte: Da autora (2023).

2.3 Preparação das amostras

As peças de queijo foram preparadas e fracionadas em ambiente estéril. Após o corte das peças foi realizada a divisão de cada amostra de queijo em duas subamostras distintas (casca e interior), conforme Tabela 3.

Tabela 3 - Subdivisão das amostras de queijo.

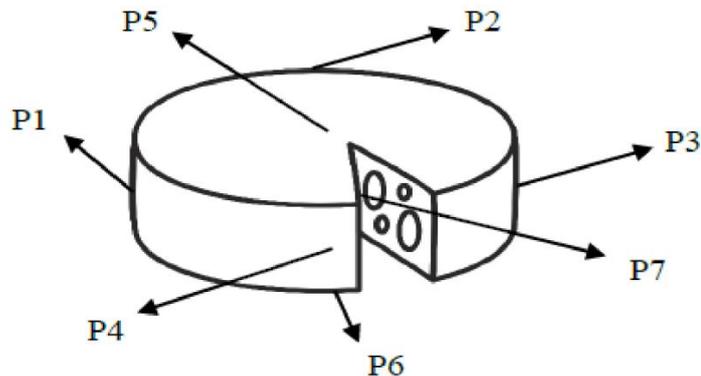
Amostras	Subamostras derivadas	
	Casca	Interior
A1	A1r	A1m
A2	A2r	A2m
A3	A3r	A3m
A4	A4r	A4m
A5	A5r	A5m
A6	A6r	A6m

Legenda: “A” identifica as amostras de queijo; “r” identifica as subamostras da casca (*rind*); “m” identifica as subamostras do interior ou massa do queijo (*mass*).

Fonte: Da autora (2023).

Assim, foram coletados fragmentos das amostras de pontos equidistantes da casca, sendo os pontos P1, P2, P3 e P4 referente às laterais e os pontos P5 e P6 da superfície e da base do queijo, respectivamente. Também foram coletados fragmentos das amostras do interior do queijo, no ponto mais central e distante da superfície (ponto P7), conforme esquema mostrado na Figura 3.

Figura 3 - Modelo esquemático de preparação das amostras para análise metagenômica.



Fonte: Da autora (2023).

Os fragmentos das subamostras da casca e do interior foram armazenados separadamente em tubos estéreis tipo *ependorf* de 2 mL, submetidos a congelamento progressivo (inicial: -18 °C; final: -80 °C) e enviados sob refrigeração para análise metagenômica.

2.3.1 Extração e amplificação do DNA

As amostras foram enviadas para a empresa BPI – Biotecnologia, Pesquisa e Inovação (Botucatu, São Paulo, Brasil) onde realizou-se a extração do DNA total de cada amostra. A extração foi realizada usando-se o kit ZR Fungal/Bacterial DNA MiniPrep™ (Zymo Research) de acordo com protocolo do fabricante.

As reações de PCR foram realizadas, obtendo-se volume final de 20 µL, contendo: 10 µL de GoTaq® Green PCR Master Mix (Promega), 1 uL do oligonucleotídeo *forward* a 10 µM, 1 uL do oligonucleotídeo *reverse* a 10 µM, 2 µL de DNA genômico e água ultrapura estéril suficiente para 20 µL.

Para a região ITS foram utilizados os *primers* ITS3-F (5'- TCGTCGGCAGCG TCAGATGTGTATAAGAGACAGGCATCGATGAAGAACGCAGC-3') e ITS4-R (5'- GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGTCCTCCGCTTATTGATATGC-3'). O programa de amplificação consistiu em desnaturação inicial a 95 °C por 5 minutos seguida por 35 ciclos de desnaturação a 95 °C por 30 segundos, anelamento a 56 °C por 40 segundos, extensão a 72 °C por 1 minuto e uma extensão final a 72 °C por 5 minutos. As reações de amplificação foram conduzidas em termociclador Veriti™ Thermal Cycler (Applied Biosystems). Após reação de amplificação de cada amostra foi comprovada a amplificação através de eletroforese em gel de agarose 2% corado com UniSafe Dye 0,03% (v/v). Fragmentos de aproximadamente 400bp de tamanho foram selecionados.

Para a amplificação da região 16S foram utilizados os *primers* 16S V3-V4-F (5'- TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG-3') e 16S V3-V4-R (5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACT ACHVGGGTATCTAATCC-3'). O programa de amplificação consistiu em desnaturação inicial a 95 °C por 3 minutos seguida por 27 ciclos de desnaturação a 95 °C por 30 segundos, anelamento a 55 °C por 30 segundos, extensão a 72 °C por 30 segundos e uma extensão final a 72 °C por 5 minutos. As reações de amplificação foram conduzidas em termociclador Veriti™ Thermal Cycler (Applied Biosystems). Após reação de amplificação de cada amostra foi

comprovada a amplificação, através de eletroforese em gel de agarose a 2% corado com UniSafe Dye 0,03% (v/v). Fragmentos de aproximadamente 600bp de tamanho foram selecionados.

2.3.2 Purificação e preparação da biblioteca

Os produtos de amplificação foram submetidos às etapas de purificação utilizando-se *bead* magnética Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter), de acordo com o protocolo do fabricante. Os indexadores foram inseridos nos adaptadores comuns, que são necessários para a geração de *clusters* e sequenciamento das amostras. A reação de indexação foi realizada seguindo o protocolo do kit Nextera XT Index (Illumina) e os códigos de índice foram adicionados seguindo as recomendações do fabricante.

As bibliotecas geradas foram submetidas às etapas de purificação utilizando *bead* magnética Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter), para remoção fragmentos muito pequenos da população total de moléculas e restos de *primers*. Em seguida realizou-se a quantificação pela metodologia de PCR Tempo Real utilizando Kit KAPA-KK4824 (Library Quantification Kit - Illumina/Universal) no equipamento QuantStudio 3 (Applied Biosystems), todos de acordo com protocolo do fabricante. Foi gerado um *Pool* equimolar de DNA, através da normalização de todas as amostras a 4nM, para realização do sequenciamento, que foi conduzido utilizando-se o sistema Illumina MiSeq de sequenciamento de nova geração (Illumina® Sequencing) e kit MiSeq Reagent V2 500 ciclos, gerando *paired-end reads* de 250pb.

2.3.3 Bioinformática

A bioinformática de foi realizada com o *software* QIIME 2 2021.11 (Quantitative Insights into Microbial Ecology) (BOLYEN *et al.*, 2019). Os dados da sequência bruta de qualidade foram filtrados usando o *plug-in* q2-demux, seguido por limpeza final com DADA2, via q2-dada2 (CALLAHAN *et al.*, 2016). Todas as variantes de sequência de amplicon (ASVs) foram alinhadas com MAFFT, via alinhamento q2 (KATOHI *et al.*, 2002) e usadas para construir uma árvore filogenética com fasttree2, via q2-filogenia (PRICE; DEHAL; ARKIN, 2010).

Foram realizadas métricas de diversidade alfa para avaliar a complexidade da diversidade de espécies para cada amostra, como características observadas, índice de Shannon

(SHANNON, 1948) e diversidade filogenética de Faith (Faith PD) (FAITH, 1992). Métricas de diversidade beta para avaliar diferenças das amostras em complexidade de espécies, como UniFrac ponderado (LOZUPONE *et al.*, 2007), UniFrac não ponderado (LOZUPONE; KNIGHT, 2005), distância de Jaccard e dissimilaridade de Bray-Curtis também foram realizadas. As análises de Coordenadas Principais (PCoA) foram estimadas usando diversidade q2 depois que as amostras foram rarefeitas (subamostradas, sem substituição) usando-se 10.000 sequências para bactérias e 5.000 para fungos para cada amostra.

A taxonomia foi atribuída aos ASVs usando o classificador de características q2 (BOKULICH *et al.*, 2018) e o classificador de taxonomia de “Bayes naïve classify-sklearn” contra as sequências de referência Silva-138-99% para bactéria (QUAST *et al.*, 2013; YILMAZ *et al.*, 2013) e Unite-ver8-99% para fungos (NILSSON *et al.*, 2019).

2.4 Análise dos dados

Para filtragem dos dados, considerou-se as UTOs (Unidade Taxonômica Operacional) identificadas a nível de gênero e espécie. Para determinação da abundância relativa das espécies encontradas foram consideradas UTOs que apresentaram um índice $>0,1\%$ de abundância (VERCE; VUYST; WECKX, 2019; KAMIMURA *et al.*, 2020; NERO *et al.*, 2021;). A microbiota central foi apurada com base nas espécies e gêneros identificados com, no mínimo, 10% de prevalência em cada amostra (NERO *et al.*, 2021).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Microbiota presente na superfície

Ao todo, 283.911 UTOs de espécies fúngicas, representadas por 8 gêneros e 9 espécies distintas foram identificados nas amostras da casca dos queijos analisados. 97.953 UTOs referentes a espécies bacterianas foram encontradas, sendo representadas por 19 gêneros e 12 espécies (TABELA 4).

Tabela 4 - UTOs, gêneros e espécies microbianas (números) das amostras de casca de queijo.

Amostra	Fungos			Bactérias		
	UTOs	Gêneros	Espécies	UTOs	Gêneros	Espécies
A1r	42.579	5	6	14.598	12	4
A2r	70.733	5	4	10.152	11	5
A3r	14.800	4	4	23.000	8	6
A4r	21.311	5	6	5.641	7	2
A5r	54.367	4	5	19.810	12	6
A6r	80.121	5	5	24.752	10	4

Legenda: “A” identifica as amostras de queijo; “r” identifica as subamostras da casca (*rind*).

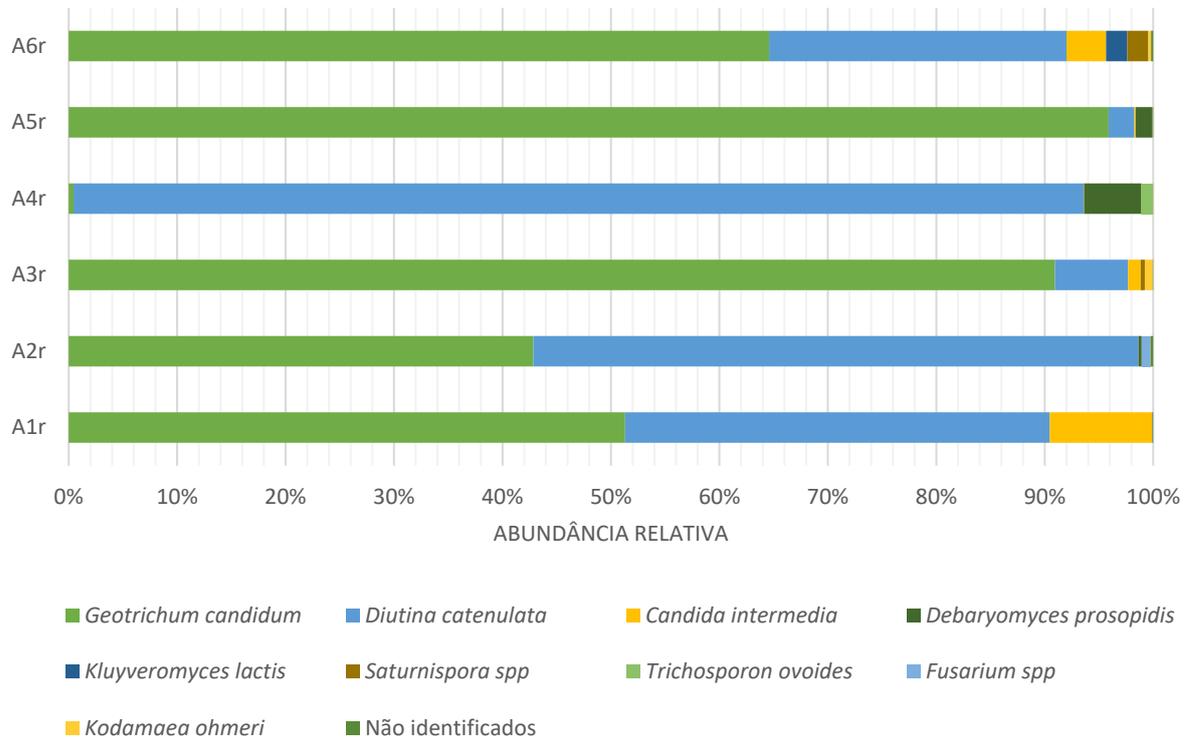
Fonte: Da autora (2023).

A amostra A6r da superfície de queijo foi a amostra que apresentou maior número de UTOs, tanto para espécies fúngicas quanto bacterianas. Entretanto, nas amostras A1r e A4r foram identificados mais fungos a nível de espécie, bem como nas amostras A3r e A5r, onde identificou-se mais espécies de bactérias.

3.1.1 Fungos filamentosos e leveduras

O Gráfico 1 mostra as espécies fúngicas com abundância relativa significativa (>0,1%) identificadas na superfície das amostras analisadas. Dentre as espécies fúngicas mais prevalentes em todas as amostras, caracterizando a microbiota central da superfície dos queijos, destacam-se *Geotrichum candidum* e *Diutina catenulata*. O fungo leveduriforme *G. candidum* predominou nas amostras A1r (51,3%), A3r (90,9%), A5r (95,9%) e A6r (64,6%). Já a levedura *D. catenulata* foi mais abundante nas amostras A2r e A4r, representando 55,8% e 93,1% das UTOs encontradas, respectivamente.

Gráfico 1 - Abundância relativa de fungos nas amostras de casca dos queijos.



Legenda: “r” identifica as subamostras da casca (*rind*).

Fonte: Da autora (2023).

Em estudos que avaliaram a microbiota *terroir* da superfície do Queijo Minas Artesanal das microrregiões do Serro e da Canastra, por métodos dependentes e independente de cultivo, observou-se a prevalência do fungo leveduriforme *G. candidum* em amostras de queijo do Serro (ARAGÃO, 2018). Resultado semelhante foi relatado por Cesario (2022) que observou a predominância de *G. candidum* no queijo artesanal de Araxá com mesmo tempo de maturação do presente estudo.

Geotrichum está entre os gêneros de fungos mais comumente encontrados em queijos fabricados a partir de leite cru, sendo sua origem provável o leite de vaca (BOUTROU; KERRIOU; GASSI, 2006; EL-FADALY *et al.*, 2015; FLÓREZ *et al.*, 2007; JODRAL *et al.*, 1993; LAVOIE *et al.*, 2012).

A espécie *G. candidum* é uma cultura adjunta usada na produção de queijos maturados com fungos como Camembert, Brie e Chaource, exercendo importante papel na modificação da textura, sabor e propriedades sensoriais dos queijos (GOBBETTI *et al.*, 2015; FRÖHLICH-WYDER; ARIAS-ROTH; JAKOB, 2019). Esta espécie é responsável pela produção de diversos compostos orgânicos voláteis, como aldeídos e ácidos carboxílicos, modificando as características sensoriais do queijo (ŠIPOŠOVÁ *et al.*, 2021).

A ação antagônica de *G. candidum* sobre o crescimento de hifas e sobre a esporulação de espécies indesejáveis como *Mucor* sp., *Aspergillus flavus*, *Penicillium commune* e *P. caseifulvum* foi relatada por Sipiczki e Hrabovszki (2023) como potencial para bioproteção contra o crescimento de fungos filamentosos na superfície de queijos (MARCELLINO; BENSON, 2013).

A presença de *D. catenulata* (anteriormente *Candida catenulata*) em queijos da microrregião da Canastra já foi mencionada diversas vezes na literatura e provavelmente desempenha um papel importante na microbiota natural deste queijo (ARAGÃO *et al.*, 2022; CARDOSO *et al.*, 2015; SILVA, 2020; KOTHE; MOHELLIBI; RENAULT, 2022). Sua ocorrência em diferentes queijos produzidos em outros países também já foi descrita (CORSETTI; ROSSI; GOBBETTI, 2001).

G. candidum e *D. catenulata* são espécies promissoras para estudos futuros sobre a influência da microbiota na qualidade e segurança dos queijos da região (ARAGÃO *et al.*, 2022).

Outras espécies com abundância relativa significativa foram *Candida intermedia*, presente nas amostras A1r (9,4%), A3r (1,2%) e A6r (3,6%); *Kluyveromyces lactis*, presente na A6r (2%); *Kodamaea ohmeri* (A3r: 0,7% e A6r: 0,3%); *Debaryomyces prosopidis* (A2r: 0,3%; A4r: 5,3% e A5r: 1,5%); *Trichosporon ovoides*, encontrada apenas a amostra A4r (1,1%); *Fusarium* spp., presente apenas na amostra A2r, com abundância relativa de 0,8% e *Saturnispora* spp., presente nas amostras A3r (0,4%) e A6r (1,9%). Espécies não identificadas representaram 0,2% das amostras A2r e A6r.

D. prosopidis foi a espécie mais abundante em estudo realizado por Martin *et al.* (2023) que avaliou a microbiota do queijo artesanal da Canastra nas estações chuvosa e seca. O gênero *Debaryomyces* parece ser mais abundante em ambientes mais secos como a superfície do queijo, devido à sua capacidade de tolerar altas concentrações de sal (WOLFE *et al.*, 2014).

T. ovoides, um contaminante descrito como patógeno humano, encontrado principalmente em amostras humanas e animais, já teve sua presença relatada em queijos e produtos lácteos (CEUGNIEZ *et al.*, 2017; FADDA *et al.*, 2004; LOPANDIC *et al.*, 2006).

A pouca diversidade de espécies de fungos filamentosos típicos de solo na superfície dos queijos, como *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Paecilomyces* e *Penicillium* indica atenção dos produtores às práticas de fabricação (RASIME *et al.*, 2005). Um conjunto de ações, somado ao tipo de ambiente de maturação pode influenciar na presença destes fungos no queijo, pois estes não têm relação direta com o leite e podem chegar ao queijo durante o período de maturação. Muitas vezes a presença destas espécies é indesejada e pode indicar contaminação (SOBRAL *et al.*, 2017). Entretanto, vale lembrar que

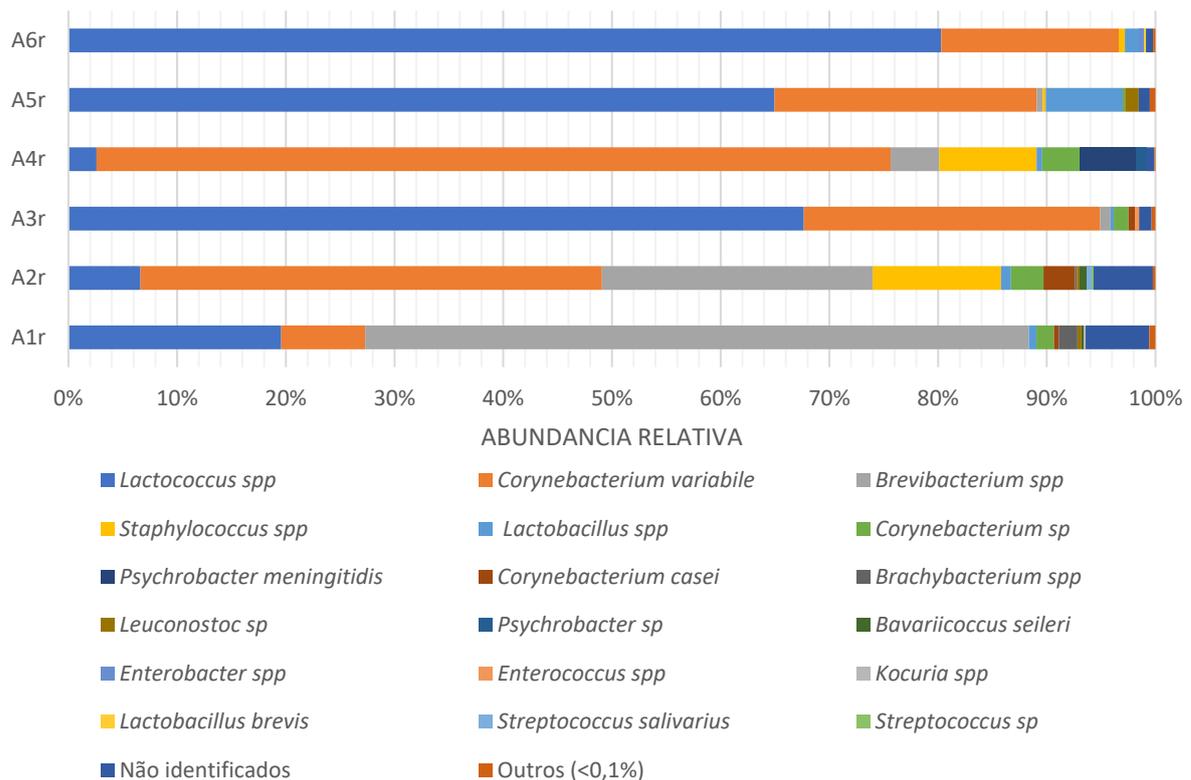
algumas espécies de fungos filamentosos são fundamentais na maturação de alguns tipos tradicionais de queijos (MARCELINNO; BENSON, 2014; METIN, 2018).

Dentre os fungos já mencionados, algumas espécies apresentaram abundância relativa pouco significativa em algumas amostras, como as leveduras *C. intermedia*, presente nas amostras A4r e A5r; *K. ohmeri*, nas amostras A1r, A2r, A4r e A5r e por fim, *K. lactis* e *D. prosopidis*, ambas presentes apenas na amostra A1r.

3.1.2 Bactérias

O Gráfico 2 mostra as espécies bacterianas com abundância relativa significativa (>0,1%) identificadas na superfície das amostras de queijo analisadas.

Gráfico 2 - Abundância relativa de bactérias nas amostras de casca dos queijos.



Legenda: “A” identifica as amostras de queijo; “r” identifica as subamostras da casca (*rind*).

Fonte: Da autora (2023).

As bactérias mais prevalentes na superfície dos queijos, compondo a microbiota central das amostras foram: *Lactococcus spp.*, representando maioria nas amostras A3r e (67,6%), A5r (65%) e A6r (80,3%), *Brevibacterium spp.* nas amostras A1r (61,1%) e A2r (24,9%) e a espécie

Corynebacterium variabile com 73,1% de abundância na amostra A4r e 42,5% na amostra A2r. *Staphylococcus* spp. apresentou abundância relativa de 11,8% na amostra A2r.

Bactérias na superfície do queijo com abundância relativa significativa (>0,1%) foram: *Bavariococcus seileri* (A1r: 0,2%; A2r: 0,7%); *Corynebacterium casei* (A1r: 0,4%, A2r: 2,9%, A3r: 0,6% e A5r: 0,1%); *C. variabile* na amostra Ar1 (7,7%), *Psychrobacter meningitidis* (A5r: 5,2%); *Enterobacter* spp., presente apenas na amostra A6r (0,4%); *Enterococcus* spp. (A3r: 0,4%) e *Kocuria* spp. (A2r: 0,2%); *Staphylococcus* spp. (A4r: 9,0%; A5r: 0,3% e A6r: 0,6%); *Psychrobacter* spp. na amostra A4r, com prevalência de 0,9%. UTOs que não puderam ser identificadas foram encontradas com abundância relativa significativa em todas as amostras (A1r: 5,9%, A2r: 5,5%; A3r: 1,1%; A4r: 0,7; A5r: 1,0% e A6r: 0,7%).

A microbiota natural do leite cru é rica em bactérias ácido-láticas (BAL) que estão também presentes no soro fermento (pingo) e, conseqüentemente, nos queijos Minas artesanais (LIMA *et al.*, 2009; SANT'ANNA *et al.*, 2019). Os principais gêneros representantes são *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* e *Streptococcus* (CARR; CHILL; MAIDA, 2002; CAMPOS, 2017). O gênero *Lactococcus*, mais prevalente entre as amostras analisadas é também o gênero de BAL mais encontrado em queijos artesanais da Canastra (CAMARGO *et al.*, 2021).

Neste estudo, destacam-se as espécies: *Streptococcus salivarius* (A2r: 0,4%); *Lactobacillus brevis* (A6r: 0,2%); *Lactobacillus* spp., com prevalência significativa em todas as amostras (A1r: 0,7%; A2r: 0,9%; A3r: 0,3%; A4r: 0,5%; A5r: 7,1% e A6r: 1,3); *Leuconostoc* sp. (A1r: 0,4%; A2r: 0,2% e A5r: 1,3); *Lactococcus* spp., abundante também nas amostras A2r (6,6%) e A4r (02,6%) e *Streptococcus* sp. na amostra A2r, com 0,2%.

A alta prevalência de BAL nos queijos da região também já foi constatada em outros estudos. A abundância das espécies mostra-se variável no soro fermento, entre as queijarias e até entre as estações do ano (NÓBREGA *et al.*, 2008; RESENDE *et al.*, 2011, RAFAEL, 2017).

Bavariococcus e *Enterococcus* também são gêneros de BAL associados a queijos de leite cru. A espécie *Bavariococcus seileri* foi relatada em queijos produzidos na região sul do Brasil, porém em baixa prevalência (NÓBREGA, 2012; ERHARDT *et al.*, 2023).

Outros gêneros como *Corynebacterium* também já foram associados ao queijo da Canastra e, juntamente com *Brevibacterium* também foi encontrado principalmente em prateleiras de maturação e piso de queijarias (KAMIMURA *et al.*, 2020). A espécie halotolerante *C. variabile*, em especial, parece ser predominante na superfície (KOTHE *et al.*, 2022).

Em estudo realizado por Frétin *et al.* (2022) foi possível observar uma correlação entre a abundância relativa significativa de *Brevibacterium* spp. e *Brachybacterium* spp. em queijos produzidos com leite de vacas alimentadas com pasto em comparação com vacas alimentadas com silagem, onde prevaleceu *Lactococcus* spp. Este dado corrobora com os resultados encontrados, visto que as amostras analisadas no presente estudo foram coletadas na estação da seca, período onde é utilizada silagem para alimentação do rebanho.

Em geral, as BAL têm como características principais serem gram-positivas com morfologia de cocos ou bacilos, catalase negativa, aerotolerantes, não esporogênicas, com ausência de citocromo, exigentes quanto a fontes nutricionais e podem tolerar bem meios ácidos (CARR; CHILL; MAIDA, 2002; CAMPOS, 2017). Algumas BAL podem apresentar potencial probiótico, pois são, segundo a Organização Mundial da Saúde, microrganismos capazes de agregar benefícios à saúde do consumidor, desde de que ingeridos em quantidade suficiente (FAO/WHO, 2001).

Além dos gêneros já mencionados, *Enterococcus* também compõe a categoria de BAL. Entretanto, seus possíveis benefícios à saúde têm sido questionados, devido a uma potencial patogenicidade em algumas espécies (LANDETA *et al.*, 2013; MOZZI *et al.*, 2016).

Espécies de BAL são capazes de fermentar a lactose, produzindo principalmente ácido-lático, influenciando no sabor, textura e aroma característicos dos queijos artesanais (PARENTE; RICCIARDI; ZOTTA, 2020; TAMANG *et al.*, 2016). A fermentação da lactose pelas BAL no queijo resulta em uma diminuição do pH do meio e pode selecionar microrganismos patogênicos, resultando em um aumento da segurança microbiológica do produto (MOZZI *et al.*, 2016; VIEIRA *et al.*, 2022).

Staphylococcus é um gênero associado a patogenicidade sendo, portanto, indesejado em queijos. Sua ocorrência no queijo pode estar relacionada a falhas no controle de higiene durante a manipulação ou à mastite bovina (ANTÔNIO; BORELLI, 2020). Nas amostras A2r e A4r, onde apresentou maior abundância também foram as amostras com menor prevalência de outras espécies e gêneros de BAL, especialmente dos gêneros *Lactococcus* e *Lactobacillus*, conhecidos por inibir o crescimento deste patógeno.

Bactérias com abundância relativa pouco significativa na casca do queijo foram: as espécies *Bavariococcus seileri* (A5r e A6r), *Corynebacterium casei* e (A5r), *C. flavescens* e *Lactobacillus brevis* (A3r), *C. glyciniphilum* (A1r e A3r), *L. parabuchneri* apenas na amostra A2r, *Leuconostoc fallax* (A3r), *Streptococcus salivarius* e *Weissella jogaejeotgali* na amostra A5r e *S. dysgalactiae* (A6r); *Advenella* spp. apenas na amostra A2r, *Bifidobacterium* spp. (A3r e A5r), *Enterococcus* spp. (A1r e A5r), *Kocuria* spp. e *Serratia* spp. (A6r), *Microbacterium*

spp. (A1r, A2r e A3r), *Staphylococcus* spp. (A1r) e *Pseudoclavibacter* spp. apenas na A1r; *Corynebacterium* sp. (A6r), *Leuconostoc* sp. (A3r e A4r) e *Streptococcus* sp. (A5r).

3.2 Microbiota presente no interior

No total, 214.150 UTOs de espécies fúngicas representadas por 20 gêneros e 21 espécies distintas foram identificados nas amostras do interior dos queijos analisadas. 179.762 UTOs referentes a espécies bacterianas foram encontradas no interior das amostras de queijo, sendo representadas por 15 gêneros e 8 espécies (TABELA 5).

Tabela 5 - UTOs, gêneros e espécies microbianas (números) presentes no interior dos queijos.

Amostra	Fungos			Bactérias		
	UTOs	Gêneros	Espécies	UTOs	Gêneros	Espécies
A1m	37.189	5	6	33.514	4	1
A2m	31.775	8	9	21.721	4	2
A3m	8.453	12	14	29.278	5	3
A4m	11.369	8	10	34.455	10	5
A5m	55.157	6	7	31.296	5	1
A6m	70.207	6	6	29.498	5	1

Legenda: “A” identifica as amostras de queijo; “m” identifica as subamostras do interior ou massa do queijo (*mass*).

Fonte: Da autora (2023).

A amostra do interior dos queijos com maior número de UTOs de fungos foi a amostra A6m e, de bactérias, a A4m. As amostras com maior número de espécies fúngicas identificadas foi a A3m e de espécies bacterianas, a amostra A4m.

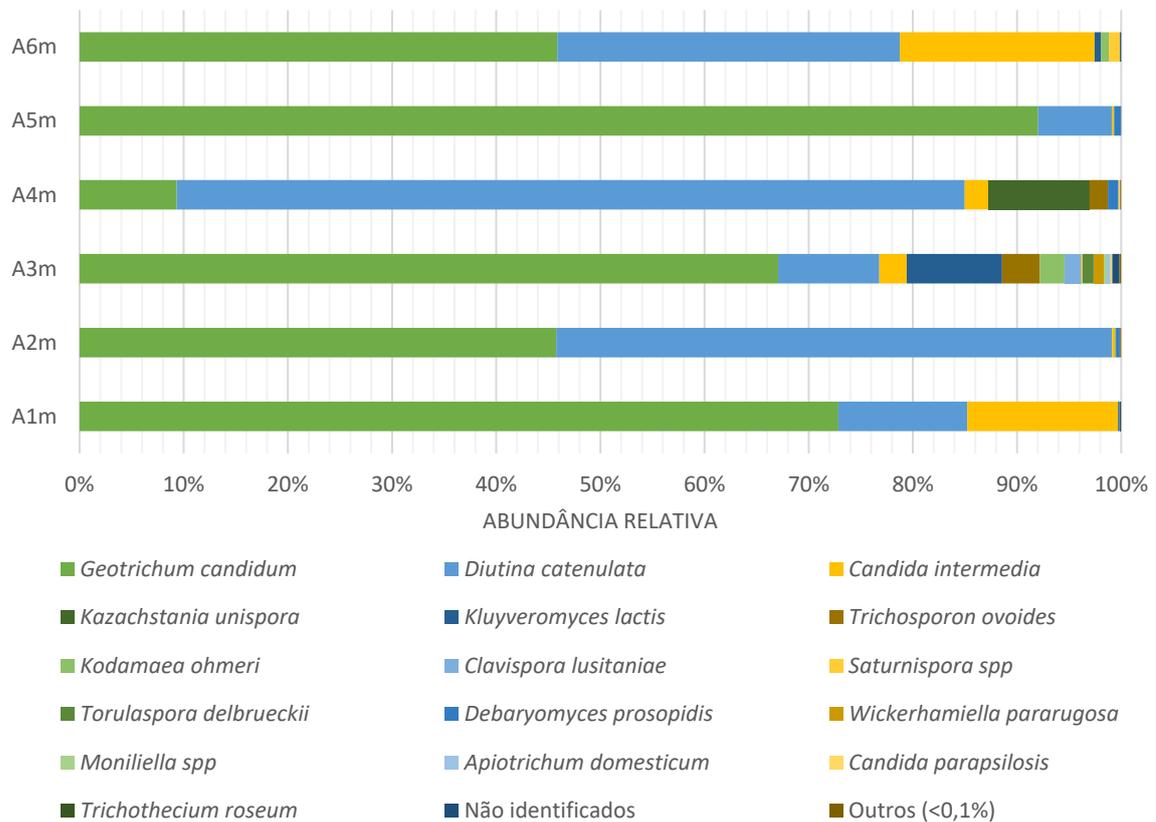
3.2.1 Fungos filamentosos e leveduras

A seguir, o Gráfico 3 expõe as espécies fúngicas com abundância relativa significativa (>0,1%) identificadas no interior das amostras de queijo analisadas.

As espécies fúngicas mais prevalentes nas amostras, compondo a microbiota central do interior dos queijos foram *G. candidum*, *D. catenulata* e *C. intermedia*. A espécie de *G. candidum* predominou nas amostras A1m (72,8%), A3m (67,1%), A5m (92%) e A6m (45,9%). *D. catenulata* foi mais prevalente nas amostras A2m e A4m, representando 53,4% e 75,7% das

UTOs encontradas, respectivamente. Já *C. intermedia* foi mais abundante nas amostras A1m (14,5%) e A6m (18,7%).

Gráfico 3 - Abundância relativa de fungos no interior dos queijos.



Legenda: “A” identifica as amostras de queijo; “m” identifica as subamostras do interior ou massa do queijo (*mass*).

Fonte: Da autora (2023).

Outras espécies com abundância relativa significativa foram: *Apiotrichum domesticum* (0,3%), *Clavispora lusitaniae* (1,6%) e *Wickerhamiella pararugosa* (1%), presentes apenas na amostra A3m; *Candida parapsilosis* e *Torulaspora delbrueckii*, identificadas também na amostra A3m com prevalência de 1,1%; *Debaryomyces prosopidis* (A2m: 0,3%; A4m: 1% e A5m: 0,6%); *Kazachstania unispورا* (A4m: 9,7%); *Kluyveromyces lactis*, presente nas amostras A3m (9,2%) e A6m (1,9%) e *Kodamaea ohmeri* (A3m: 2,4% e A6m: 0,8%). *Moniliella spp.* (0,3%) e *Saturnispora spp.* (1,1%) foram encontradas nas amostras A3m e A6m, respectivamente. Espécies não identificadas tiveram prevalência de 0,7% na amostra A3m;

Saturnispora spp. e *C. lusitaniae* parecem ser contaminantes incomuns de queijos, embora encontrados em outros estudos (BINTSIS, 2021; CEUGNIEZ *et al.*, 2017; JAKOBSEN; NARVHUS, 1996). Esta última, bem como *K. lactis*, *T. delbrueckii* e *W.*

pararugosa foram isoladas de amostras de leite de vaca cru e também de um tipo de queijo tradicional da Eslováquia. Foi observado por meio deste estudo uma série de mecanismos desempenhados por estas leveduras para metabolizar lactose, lactato, lipídeos e proteínas como fontes de carbono e energia disponíveis no leite. A ausência de leveduras viáveis no interior do queijo mostrou também que estas espécies necessitam de condições aeróbias para se desenvolver (SIPICZKI; HRABOVSKZI, 2023).

A alta tolerância dos fungos a condições desfavoráveis ao crescimento e desenvolvimento de microrganismos pode explicar a maior abundância destas espécies no interior dos queijos analisados. A abundância relativa significativa das espécies mencionadas acima, no interior das amostras analisadas sugere que estas possivelmente estiveram presentes no leite e no queijo nos momentos iniciais da produção. Importante salientar que o método de identificação utilizado no presente estudo utiliza fragmentos do DNA microbiano e grande parte dos microrganismos identificados pode não ser cultivável (MERING *et al.*, 2007; ŠURANSKÁ *et al.*, 2016).

Cardoso *et al.* (2015) observaram a predominância de *K. ohmeri* em amostras de queijo do Serro e sua produção de enzimas responsáveis pela metabolização de lipídeos e proteínas, importantes pela formação das características típicas do queijo.

Apesar de ser encontrada com frequência em queijos maturados, *C. intermedia* já foi relatada como contaminante de produtos artesanais (CEUGNIEZ *et al.*, 2017; LACHANCE *et al.*, 2011). Na Canastra, Andrade *et al.* (2017) identificaram a presença de *C. intermedia*, *K. lactis* e *T. delbrueckii* em amostras de soro de leite, cultura *starter* natural (pingo) e queijo Minas artesanal. Resultados semelhantes foram alcançados por Borelli *et al.* (2006). Os estudos mostram que estas leveduras se destacaram pelo potencial de fermentação da lactose e formação de compostos aromáticos voláteis, sendo desejável sua presença no queijo.

K. lactis pode produzir principalmente compostos como aldeídos, acetaldeído, etanol, álcoois de cadeia ramificada e ésteres de ácido acético, responsáveis por notas alcoólicas, frutadas e acéticas (ATANASSOVA *et al.*, 2016; BINTSIS, 2021). *K. lactis* foi identificada em amostras de queijo de leite cru das microrregiões da Canastra (ARAGÃO *et al.*, 2022) e também de outras microrregiões como Serro (SOUZA *et al.*, 2021) e Araxá (CESARIO, 2022), onde, nos dois últimos estudos, mostrou predominância em relação a outras espécies fúngicas nos tempos iniciais de maturação. Além das modificações desejáveis das características sensoriais, esta espécie pode ter ação probiótica e também ação antagonica sobre outras espécies de leveduras pela produção de ácido pulcherrimínico (FADDA *et al.*, 2004; SIPICZKI; HRABOVSKZI, 2023).

Entre os fungos identificados, porém com abundância relativa pouco significativa em algumas das amostras estão: *Acremonium citrinum*, presente na amostra A6m; *Acremonium hennebertii* e *Fusarium* spp. (A2m); *Candida parapsilosis*, *Epicoccum nigrum* e *Penicillium brevicompactum* (A4m); *Cladosporium cladosporioides* (A3m e A4m); *Debaryomyces prosopidis*, *Kluyveromyces lactis* e *Trichothecium roseum* (A1m); *Hannaella zaeae* e *Saturnispora* spp. (A3m); *Kodamaea ohmeri*, *Torulaspora delbrueckii*; *Trichosporon ovoides* (A2m e A5m) e espécies não identificadas (A2m e A6m).

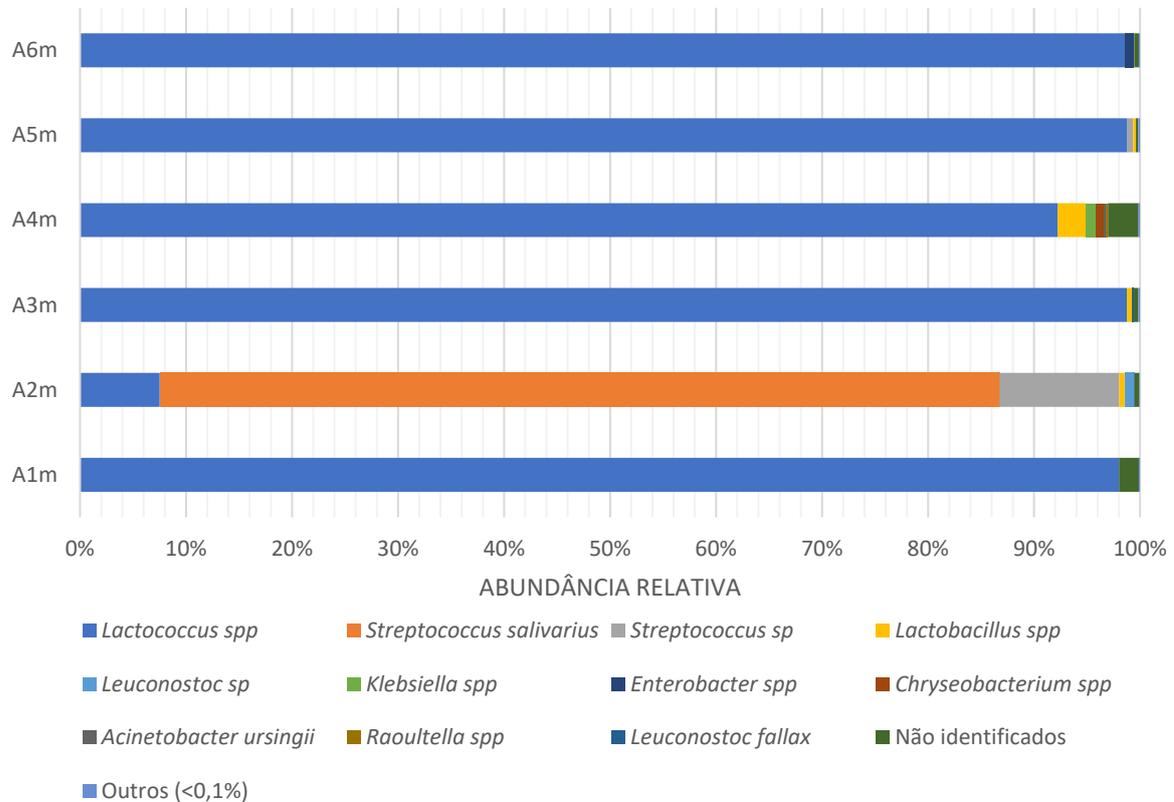
Algumas das espécies identificadas neste estudo no interior dos queijos, estão entre os fungos já identificados ou comumente encontrados em leite e produtos lácteos e também em outros queijos de leite cru e maturados de outros países, entre estas: *C. parapsilosis*, *E. nigrum*, *P. brevicompactum*, *C. cladosporioides* e *K. unispora* (LOPANDIC *et al.*, 2006; LAVOIE *et al.*, 2012; CEUGNIEZ *et al.*, 2017). Do mesmo modo, *T. roseum*, *A. citrinum* e espécies do complexo *C. cladosporioides* e *Fusarium* sp. também já foram identificados em queijos da região da Canastra (ARAGÃO, 2018; SILVA, 2020).

Espécies indesejáveis chegam ao queijo provindos do ambiente, dos utensílios, dos manipuladores, dos animais e podem alterar negativamente as características do produto (BORELLI *et al.*, 2006; MONTAGNA *et al.*, 2004; MOUNIER *et al.*, 2006; MOUBASHER; ABDEL-SATER; SOLIMAN, 2018; SOBRAL *et al.*, 2017; VACHEYROU *et al.*, 2011). Em contrapartida, a baixa incidência destas espécies nas amostras sugere uma baixa contaminação das amostras por fungos indesejáveis.

3.2.2 Bactérias

O Gráfico 4 mostra as espécies bacterianas com abundância relativa significativa (>0,1%) identificadas no interior das amostras de queijo analisadas. No interior dos queijos, a microbiota central característica foi representada pelo gênero *Lactococcus*, abundante nas amostras A1m (98%), A3m (98,8%), A4m (92,2%), A5m (98,8%) e A6 (98,6%) e pela espécie *Streptococcus salivarius* na amostra A2m (79,2%). *Streptococcus* sp. também foram abundantes na amostra A2m (11,3%).

Gráfico 4 - Abundância relativa de bactérias no interior dos queijos.



Legenda: “A” identifica as amostras de queijo; “m” identifica as subamostras do interior ou massa do queijo (*mass*).

Fonte: Da autora (2023).

Os gêneros *Streptococcus* e *Lactococcus* possuem espécies bastante associadas ao soro fermento utilizado na fabricação dos queijos Minas artesanal. Possuem grande relevância, devido à metabolização de aminoácidos e gorduras, contribuindo para o desenvolvimento de aromas e sabores característicos, sendo, portanto, desejável sua prevalência nos queijos (DALMASSO *et al.*, 2016; SANT’ANNA *et al.*, 2019).

Outras bactérias com prevalência significativa (>0,1%) nas amostras do interior dos queijos foram as espécies: *Leuconostoc fallax* (A3m: 0,2%); *Acinetobacter ursingii* (0,2%) e os gêneros *Chryseobacterium spp.* (0,8%), *Klebsiella spp.* (0,9%) e *Raoultella spp.* (0,2%) na amostra A4m; *Enterobacter spp.* (A6m: 0,8%); *Lactobacillus sp.* (A2m: 0,5%; A3m: 0,5%; A4m: 2,7% e A5m: 0,3%), *Leuconostoc sp.* (A2m: 0,9%) e *Streptococcus sp.* (A5m: 0,5%). UTOs de bactérias não identificadas foram abundantes significativamente no interior de todos os queijos: A1m (1,9%), A2m (0,5%), A3m (0,4), A4m (2,9%), A5m (0,2%) e A6m (0,4%).

Com prevalência pouco significativa encontrou-se as espécies: *Acinetobacter guillouiae*, *Streptococcus sp.*, *Streptococcus salivarius* e *Lactobacillus parabuchneri* (A4m);

Corynebacterium variabile (A6m); *Lactobacillus brevis* (A1, A3m e A4m); *Leuconostoc citreum* e *Enterococcus* spp. (A3m e A4m); *Bifidobacterium* spp. e *Serratia* spp. (A3m); *Macroccoccus* spp. (A5m); *Staphylococcus* spp. e *Lactobacillus* (A1m e A6m); e por fim, *Leuconostoc* sp. (A1m, A3m e A5m).

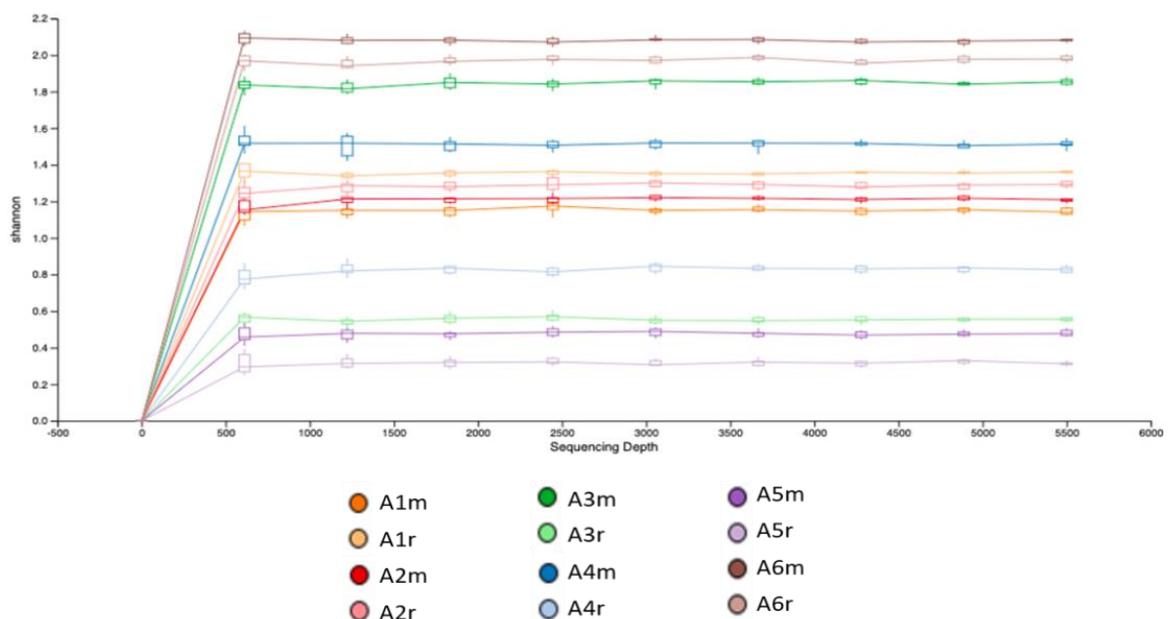
De acordo com Kamimura *et al.* (2020), bactérias indesejáveis como *Acinetobacter*, *Klebsiella* e *Enterobacter*, com prevalência significativa no interior dos queijos, principalmente da amostra A4m, são abundantes no leite cru e no ambiente de produção. A presença destes gêneros nos queijos analisados pode indicar maior contaminação durante as etapas de produção e maturação.

3.3 Comparação entre a microbiota presente na superfície e no interior do queijo

De acordo com as métricas de diversidade alfa aplicadas, o índice de Shannon mostrou maior diversidade de fungos no interior do queijo, em comparação com a superfície. Exceto nas amostras A1 e A2, onde a superfície do queijo (A1r e A2r) mostrou maior diversidade de espécies fúngicas (FIGURA 4).

Todos os valores encontrados para análise da diversidade apresentam-se em material suplementar (APÊNDICE A).

Figura 4 - Índice de Shannon para diversidade alfa de espécies fúngicas no queijo.



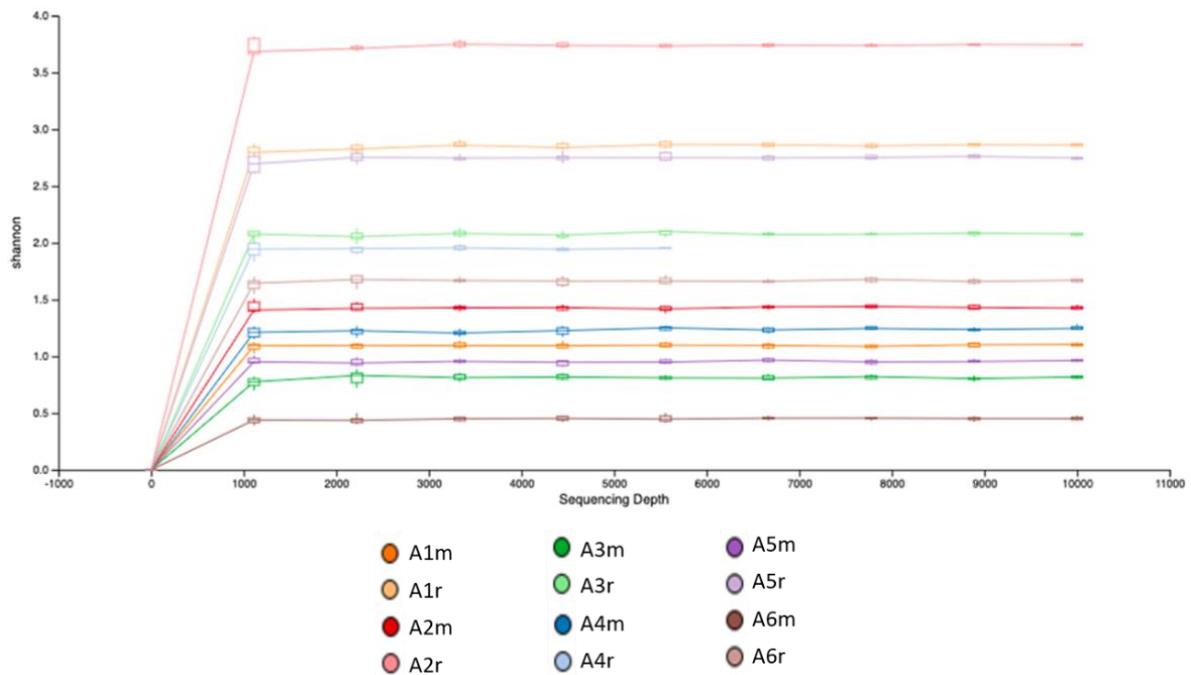
Legenda: “A” identifica as amostras de queijo; “r” identifica as subamostras da casca (*rind*); “m” identifica as subamostras do interior ou massa do queijo (*mass*).

Fonte: Da autora (2023).

Os valores de índice de Shannon para as espécies de fungos presentes nas amostras da superfície variaram entre 0.3 (A5r) e 2.0 (A6r). Nas amostras do interior do queijo este marcador apresentou valores entre 0.5 (A5m) e 2.1 (A6m).

Todas as amostras da casca apresentaram maiores valores de índice de Shannon para diversidade de bactérias em comparação com o interior dos queijos (FIGURA 5).

Figura 5 - Índice de Shannon para diversidade alfa de espécies bacterianas no queijo.



Legenda: “A” identifica as amostras de queijo; “r” identifica as subamostras da casca (*rind*); “m” identifica as subamostras do interior ou massa do queijo (*mass*).

Fonte: Da autora (2023).

Para espécies bacterianas os números variaram entre 1.668 (A6r) e 3.742 (A2r) e entre 0.454 (A6m) e 1.429 (A2m) para amostras da casca e do interior, respectivamente. Valores mais altos, entre 3.70 e 5.26 foram encontrados por Kamimura *et al.* (2020) em avaliação da diversidade de bactérias em amostras de queijo da região da Canastra. Cesario (2022) observou que no queijo da microrregião de Araxá o índice de Shannon somado para espécies fúngicas e bacterianas esteve mais alto aos 30 dias de maturação. Para o mesmo tempo de maturação dos queijos analisados no presente estudo, este valor esteve mais baixo, 1.69.

Interessante observar que a amostra A6, com maior número de UTOs e riqueza para espécies fúngicas foi também a amostra que apresentou menor diversidade de bactérias, tanto na superfície quanto no interior dos queijos (A6r e A6m). Isto pode ser explicado por pelo rápido crescimento dos fungos prevalentes nesta amostra, a saber *G. candidum*, *D. catenulata*

e *C. intermedia.*, que podem ter restringido o crescimento de algumas espécies bacterianas nesta amostra de queijo. Entretanto, o contrário não foi observado, pois a amostra com maior diversidade de bactérias (A2) não apresentou os menores valores de índice de Shannon para fungos.

O índice de Shannon prediz a riqueza de espécies ou o número de diferentes tipos de microrganismos, não levando em consideração o número de indivíduos de cada uma das espécies encontradas nos queijos (KIM *et al.*, 2017). Como exemplo, no leite cru podem ser encontrados altos valores do índice de Shannon, onde a diversidade microbiana é influenciada por diferentes fatores. Por outro lado, baixos valores do índice de Shannon no queijo, sugerem uma menor diversidade ou riqueza de espécies presentes nas amostras (CREMONESI *et al.*, 2018; DOYLE *et al.*, 2017; FRANCIOSI *et al.*, 2011; KAMIMURA *et al.*, 2020).

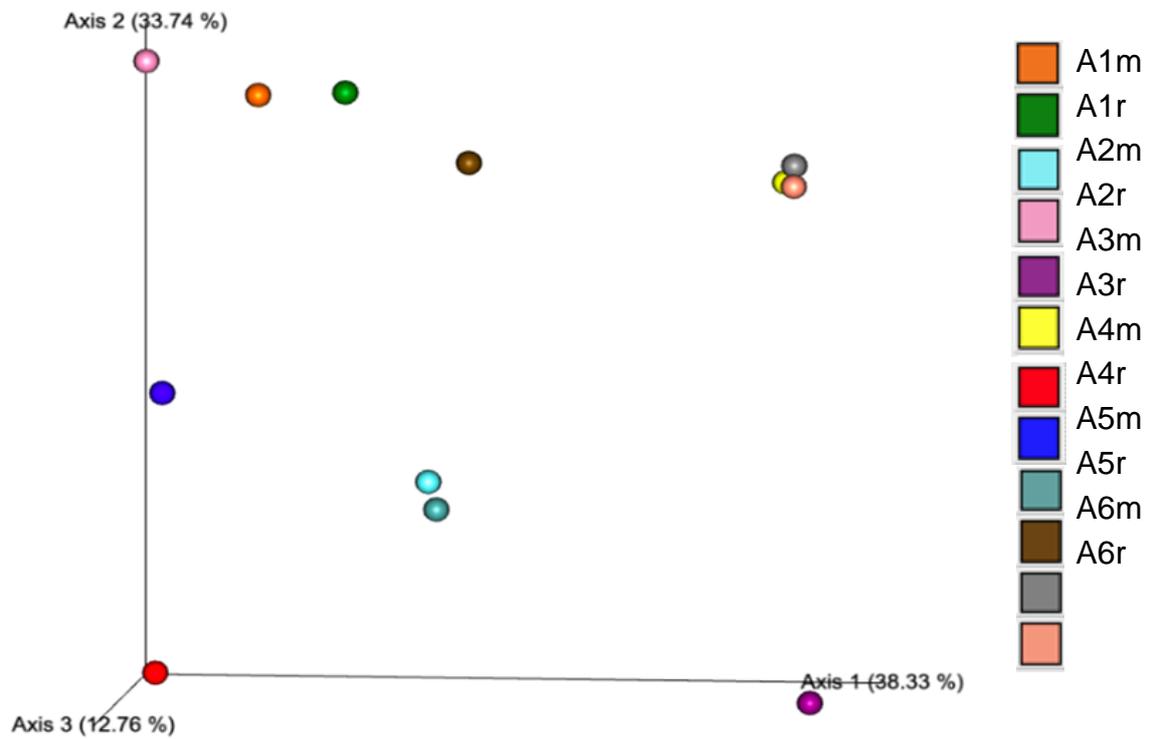
Análises de beta diversidade são um parâmetro utilizado para avaliar as diferenças ou distância entre as amostras em complexidade de espécies (BOKULICH; MILLS, 2013). Abaixo, observa-se a avaliação feita por UniFrac não ponderado (FIGURA 6).

Pelas figuras observa-se que não houve uma separação clara entre as amostras de casca e do interior dos queijos analisadas. Para espécies fúngicas nota-se uma forte proximidade entre a amostra A6 (A6r e A6m) com a casca da amostra A3 (A3r), mostrando uma complexidade de espécies mais próxima entre si. Quanto às bactérias, observa-se maior proximidade entre as espécies encontradas nas amostras A1 (A1r e A1m), A2 (A2r), A4 (A4m), A5 (A5r) e A6 (A6r e A1m).

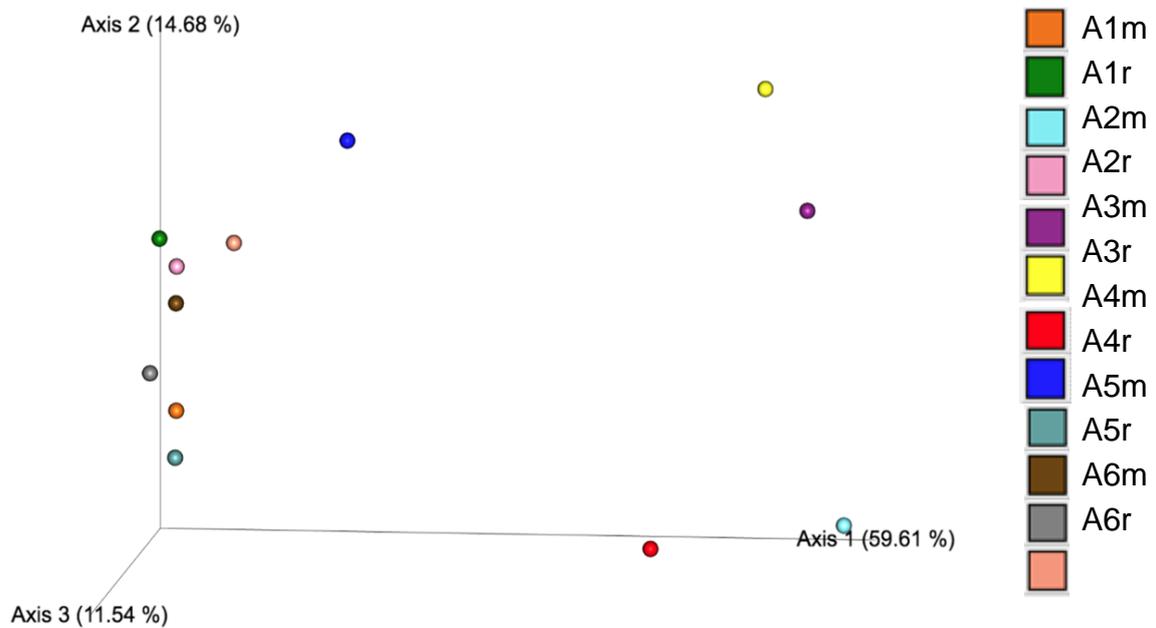
Os resultados indicam que não há grandes semelhanças entre as comunidades microbianas encontradas nas amostras analisadas. Assim, sugere-se que as diferenças entre as queijarias, seja pelo ambiente, pela utilização do soro fermento natural (pingo) ou mesmo pelas técnicas empregadas, impactam no perfil da microbiota encontrada (BASSI; PUGLISI; COCCONCELLI, 2015; BIOLCATI *et al.*, 2020 VACHEYROU *et al.*, 2011).

Figura 6 - UniFrac não ponderado para beta diversidade de fungos (A) e bactérias (B).

(A)



(B)

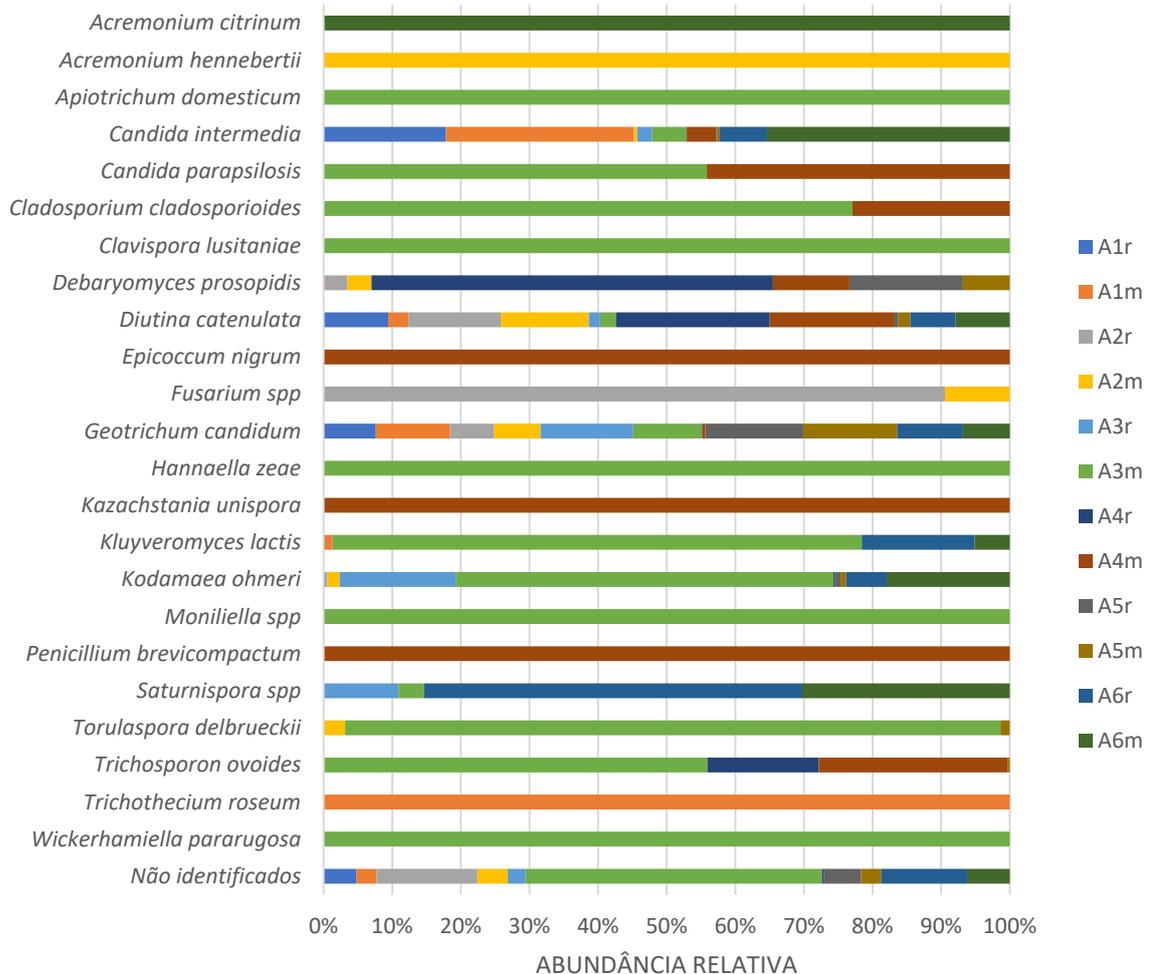


Legenda: “A” identifica as amostras de queijo; “r” identifica as subamostras da casca (*rind*); “m” identifica as subamostras do interior ou massa do queijo (*mass*).

Fonte: Da autora (2023).

Nos Gráficos 5 e 6, observa-se todas as espécies e gêneros bacterianos e fúngicos identificados nas amostras de casca e interior dos queijos analisados. É possível, assim, ver uma diferença na diversidade de microrganismos encontradas em cada amostra.

Gráfico 5 - Diversidade de fungos nas amostras de queijo.



Legenda: “A” identifica as amostras de queijo; “r” identifica as subamostras da casca (*rind*); “m” identifica as subamostras do interior ou massa do queijo (*mass*).

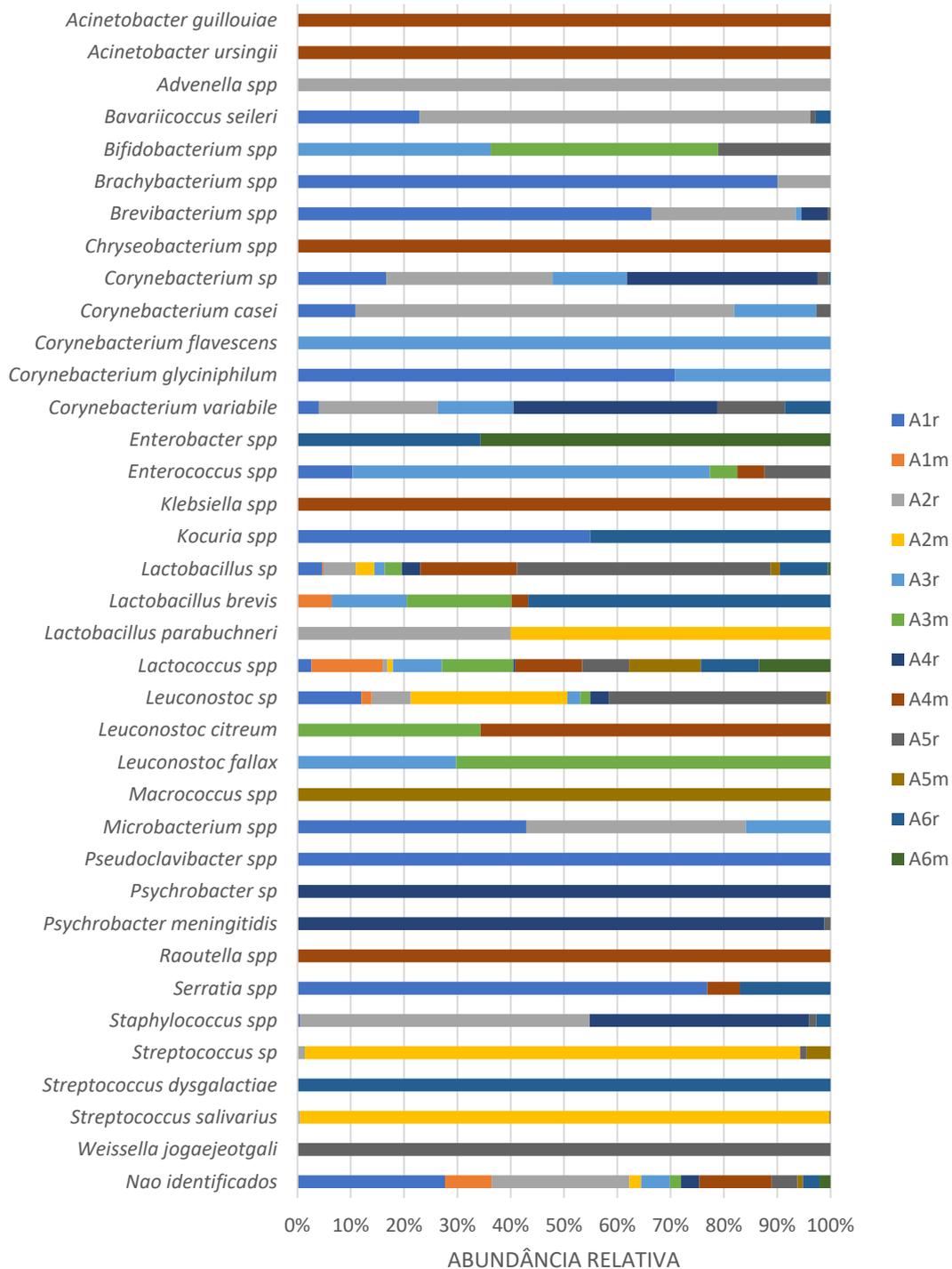
Fonte: Da autora (2023).

A levedura *D. catenulata* e o fungo leveduriforme *G. candidum* foram identificados em todos os queijos, tanto na superfície quanto no interior de todas as amostras. *C. intermedia* não esteve presente apenas nas amostras A2 e A4.

As espécies e gêneros de fungos *A. citrinum*, *A. hennebertii*, *C. cladosporioides*, *E. nigrum*, *Hannaella zaeae*, *Moniliella spp.* e *P. brevicompactum* só foram encontradas nas amostras do interior dos queijos, com abundância relativa pouco significativa. Entretanto,

Fusarium spp identificado na amostra A2, apresentou abundância relativa significativa na superfície desta amostra.

Gráfico 6 - Diversidade de bactérias nas amostras de queijo.



Legenda: “A” identifica as amostras de queijo; “r” identifica as subamostras da casca (*rind*); “m” identifica as subamostras do interior ou massa do queijo (*mass*).

Fonte: Da autora (2023).

Alguns gêneros estiveram presentes em todas as amostras, incluindo casca e interior dos queijos analisados, como *Lactobacillus* spp. e *Lactococcus* spp., embora em abundância relativa variável. A espécie *Corynebacterium variabile* foi encontrada em todas as amostras de casca de queijo e apenas no interior da amostra A6. *Leuconostoc* sp e *Brevibacterium* spp. somente não foram encontrados na amostra A6. Entretanto, esta última só esteve presente nas cascas dos queijos.

Staphylococcus spp. foi encontrado em todas as cascas de queijo, com exceção da amostra A3. A alta prevalência deste gênero na A2r, compondo inclusive a microbiota central desta amostra, pode estar relacionada com a utilização de pano para limpeza diária dos queijos. Esta prática é motivo de atenção, visto que não é permitida por legislação e não se enquadra nas Boas Práticas de Fabricação exigidas na produção de queijos artesanais.

A microbiota da superfície dos queijos normalmente é composta por espécies fúngicas e bacterianas provenientes do leite cru, do ambiente de maturação e de outras diversas fontes (CEUGNIEZ *et al.*, 2017; QUIGLEY *et al.*, 2013). Neste caso, a grande diversidade de bactérias nas cascas dos queijos pode indicar contaminação durante a produção, maturação e manipulação das peças.

Segundo Camargo *et al.* (2021) a composição da comunidade microbiana pode ser específica da fonte, sendo variável de uma microregião para outra ou até mesmo entre as queijarias. Desse modo, o ecossistema específico influenciará a microbiota dominante dos queijos, corroborando com as diferenças entre as amostras de propriedades distintas encontradas neste estudo.

3.3.1 Relação entre a prevalência de espécies na superfície e interior do queijo

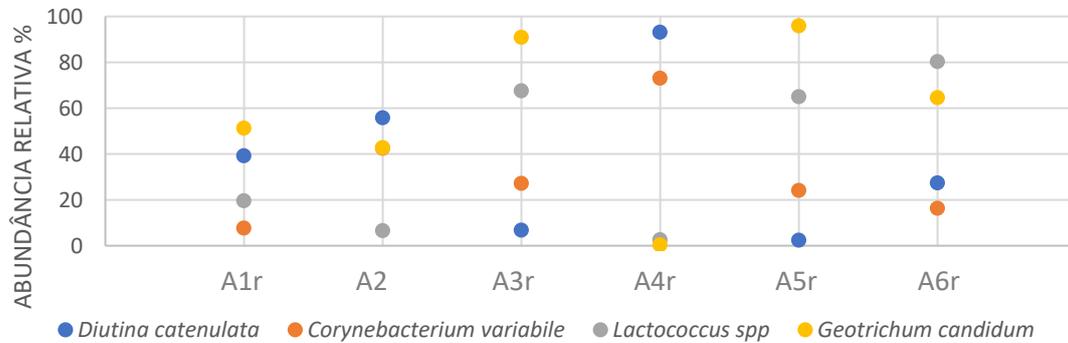
No Gráfico 7 é possível observar uma relação entre a prevalência de algumas das espécies e gêneros de fungos e de bactérias mais abundantes nas amostras da casca do queijo Minas artesanal da Canastra.

Na superfície dos queijos foi possível observar uma discrepância entre a prevalência da levedura *D. catenulata* e do fungo leveduriforme *G. candidum*. Nas amostras onde *G. candidum* foi mais abundante, *D. catenulata* esteve em menor prevalência e vice-versa. O mesmo parece acontecer entre *D. catenulata* e *Lactococcus* spp.

Nota-se também que a abundância de *C. variabile* nas amostras A2r e A4r esteve relacionada à uma baixa prevalência de *Lactococcus* spp. (<10%). Essa diferença pode indicar

que características do meio favoreceram a sobrevivência de algumas espécies em detrimento de outras.

Gráfico 7 - Prevalência de espécies presentes na superfície dos queijos.



Legenda: “A” identifica as amostras de queijo; “r” identifica as subamostras da casca (*rind*).

Fonte: Da autora (2023).

Em contrapartida, outra relação interessante sobre a prevalência de alguns dos microrganismos da microbiota central do queijo da Canastra foi observada neste estudo. A maior abundância de *Lactococcus spp.* esteve relacionada com uma maior abundância de *G. candidum*. Esta relação também foi observada entre a levedura *D. catenulata* e a espécie bacteriana *Corynebacterium variabile*.

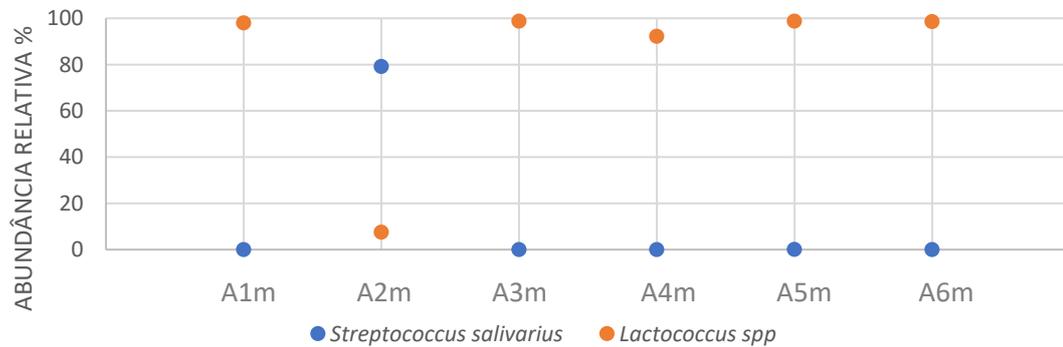
O fungo *G. candidum* é capaz de alcalinizar o meio através da metabolização do ácido láctico, permitindo sua sobrevivência e crescimento, principalmente durante os estágios iniciais da maturação do queijo. Desse modo, esta espécie coexiste com bactérias ácido lácticas, como *Lactococcus spp.* (ŠIPOŠOVÁ *et al.*, 2021).

Relação parecida já foi relatada por Cesario (2022), que avaliou o comportamento antagônico entre bactérias em queijo Minas artesanal. *C. variabile* é sabidamente tolerante a altas concentrações de sal, diferentemente de *Lactococcus spp.* e *G. candidum* (BRUNO; CARVALHO, 2009; MARCELLINO *et al.*, 2001;).

A prevalência de *C. variabile* e *D. catenulata* também já foi associada em queijos artesanais brasileiros (KOTHE; MOHELLIBI; RENAULT, 2022). Estas relações podem indicar uma maior concentração de cloreto de sódio nas amostras A2r e A4r, seja pela forma de uso deste ingrediente na fabricação ou pela perda de umidade do queijo durante o tempo de maturação.

Do mesmo modo, conforme os Gráficos 8 e 9 é possível observar uma relação entre a prevalência de algumas das espécies e gêneros de fungos e de bactérias mais abundantes nas amostras do interior dos queijos.

Gráfico 8 - Prevalência de espécies bacterianas no interior dos queijos.



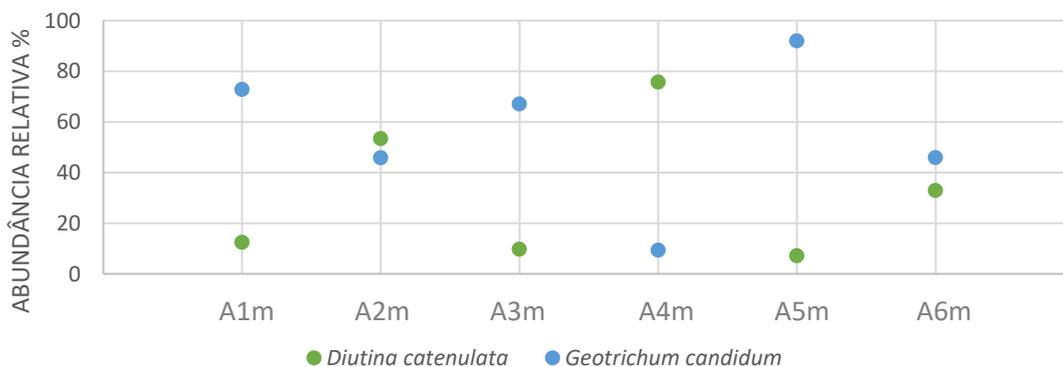
Legenda: “A” identifica as amostras de queijo; “m” identifica as subamostras do interior ou massa do queijo (*mass*).

Fonte: Da autora (2023).

Lactococcus spp., tem abundância relativa expressiva nas amostras do interior do queijo, exceto na amostra A2m, diferentemente de *Streptococcus salivarius*, espécie que foi abundante apenas na amostra A2m. Sabe-se que espécies destes gêneros podem ser produtoras de substâncias antimicrobianas (O'SHEA *et al.*, 2009; LAWRENCE *et al.*, 2022).

Como observado em outros estudos, estes gêneros parecem estabelecer sistemas de adaptação ainda não definidos que garantem sua sobrevivência ao longo do processo de maturação (KAMIMURA *et al.*, 2020). Isto pode indicar diferenças únicas já na composição do soro fermento entre as queijarias, selecionando então os microrganismos dominantes após as etapas iniciais de fabricação dos queijos.

Gráfico 9 - Prevalência de espécies fúngicas no interior do queijo.



Legenda: “A” identifica as amostras de queijo; “m” identifica as subamostras do interior ou massa do queijo (*mass*).

Fonte: Da autora (2023).

Da mesma forma, a diferença entre a prevalência de *G. candidum* e *D. catenulata* acontece no interior do queijo. De acordo com o Gráfico 9, onde a população de *G. candidum* é alta, *D. catenulata* é menos prevalente. Silva (2020) ao avaliar a interação em a comunidade fúngica no queijo artesanal da Canastra não observou relações de interação negativas ou positivas entre os gêneros *Diutina* e *Dipodascus* (*Geotrichum*).

A prevalência destas espécies talvez dependa de condições específicas do meio e/ou da própria comunidade microbiana. O ambiente no interior dos queijos é anaeróbico e tem maior umidade, diferentemente da superfície. Todavia, pode haver ainda maior concentração de cloreto de sódio em algumas das amostras, desfavorecendo o desenvolvimento de *G. candidum*. Além disso, a comunidade microbiana no interior do queijo difere da comunidade presente na superfície. Dito isto, são necessários mais estudos que avaliem os padrões de interação entre as espécies e o meio para definir quais fatores de fato influenciam na abundância dos microrganismos.

Observando os Gráficos 8 e 9, nota-se que a relação entre a prevalência de *G. candidum* e o gênero *Lactococcus* na superfície não é observada no interior dos queijos.

4 CONCLUSÃO

As espécies fúngicas mais prevalentes, compondo a microbiota central dos queijos, tanto na superfície quanto no interior foram *G. candidum* e *D. catenulata*. A levedura *C. intermedia* apresentou abundância significativa apenas no interior dos queijos, onde também houve maior diversidade fúngica, no geral. A prevalência e o rápido crescimento de *G. candidum* pode ter inibido o desenvolvimento de espécies indesejáveis na superfície dos queijos.

No interior dos queijos a microbiota central foi determinada pela abundância das bactérias *Streptococcus salivarius* e do gênero *Lactococcus*. A superfície apresentou maior diversidade de bactérias, entre elas: *Lactococcus* spp., *Brevibacterium* spp., *Corynebacterium variabile* e *Staphylococcus* spp.

Diferenças entre a prevalência de espécies se destacaram. Nas amostras com maior abundância de *G. candidum* e *Lactococcus* spp. notou-se menor prevalência de *D. catenulata* e *C. variabile*, respectivamente, sugerindo que a composição do meio pode ter favorecido a sobrevivência de algumas espécies.

Observou-se baixa incidência de espécies fúngicas indesejáveis nas amostras num geral. Entretanto, algumas amostras apresentaram abundância relativa significativa de bactérias indesejáveis, indicando falhas na higiene durante a manipulação dos queijos.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, R. P. *et al.* Yeasts from Canastra cheese production process: Isolation and evaluation of their potential for cheese whey fermentation. **Food Research International**, [United Kingdom], v. 91, p. 72-79, Jan. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28290329/>. Acesso em: 02 maio 2023.
- ANTÔNIO, M. B.; BORELLI, B. A importância das bactérias lácticas na segurança e qualidade dos queijos Minas artesanais. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, [Juiz de Fora], v. 75, n. 3, p. 204-221, 2020. Disponível em: <https://www.revistadoilct.com.br/rilct/article/view/799>. Acesso em: 06 jun. 2023.
- 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**, [Índia], v. 59, n. 12, p. 4685-4694, Dec. 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36276518/>. Acesso em: 14 jun. 2023.
- ARAGÃO, M. O. P. **Diversidade de fungos filamentosos e leveduras em queijo Minas artesanal das Microrregiões do Serro e Serra da Canastra**. 2018. 118p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2018.
- ARAÚJO, J. P. A. *et al.* Uma análise histórico-crítica sobre o desenvolvimento das normas brasileiras relacionadas a queijos artesanais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [Belo Horizonte], v. 72, n. 5, p. 1845-1860, set./out. 2020. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/hXbSqrB9NfTcJJrMP946FRs/?format=html>. Acesso em: 22 jun. 2023.
- ATANASSOVA, M. R., *et al.* Characterization of yeasts isolated from artisanal short-ripened cows' cheeses produced in Galicia (NW Spain). **Food Microbiology**, [United States], v. 53, p. 172-181, Feb. 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26678145/>. Acesso em: 16 jul. 2023.
- BASSI, D.; PUGLISI, E.; COCCONCELLI, P. S. Comparing natural and selected starter cultures in meat and cheese fermentations. **Current Opinion in Food Science**, [Netherlands], v. 2, p. 118-122, Apr. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S221479931500051X?via%3Dihub>. Acesso em: 19 maio 2023.
- BINTSIS, T. Yeasts in different types of cheese. **AIMS Microbiology**, [United States], v. 7, n. 4, p. 447-470, Nov. 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35071942/>. Acesso em: 22 jul. 2023.
- BIOLCATI, F. *et al.* Microbial characterization of an artisanal production of Robiola di Roccaverano cheese. **Journal of Dairy Science**, [United States], v. 103, n. 5, p. 4056-4067, May 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030220301910>. Acesso em: 14 jul. 2023.

BOKULICH, N. A. *et al.* q2-longitudinal: longitudinal and paired-sample analyses of microbiome data. **MSystems**, [United States], v. 3, n. 6, p. e00219-18, Nov. 2018. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/msystems.00219-18>. Acesso em: 29 maio 2023.

BOKULICH, N. A.; MILLS, D. A. Facility-specific “house” microbiome drives microbial landscapes of artisan cheesemaking plants. **Applied and Environmental Microbiology**, [United States], v. 79, n. 17, p. 5214-5223, Sept. 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23793641/>. Acesso em: 22 jun. 2023.

BOLYEN, E. *et al.* Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. **Nature Biotechnology**, [United Kingdom], v. 37, n. 8, p. 852-857, Aug. 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31341288/>. Acesso em: 19 set. 2023.

BORELLI, B. M. *et al.* Yeast populations associated with the artisanal cheese produced in the region of Serra da Canastra, Brazil. **World Journal Microbiology and Biotechnology**. [Netherlands], v. 22, p. 1115–1119. Apr. 2006. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11274-006-9151-3>. Acesso em: 22 set. 2023.

BOUTROU, R.; KERRIOU, L.; GASSI, J.-Y. Contribution of *Geotrichum candidum* to the proteolysis of soft cheese. **International Dairy Journal**, [Netherlands], v. 16, n. 7, p. 775-783, July 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0958694605001470?via%3Dihub>. Acesso em: 19 out. 2023.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Lei nº 13.860, de 18 de julho de 2019. **Dispõe sobre a elaboração e a comercialização de queijos artesanais e dá outras providências**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 19 de julho de 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/producao-animal/selo-arte-selo-queijo-artisanal/legislacao/lei-no-13-860-de-18-de-julho-de-2019.pdf/view>. Acesso em: 19 out. 2023.

BRUNO, L. M.; CARVALHO, J. D. G. **Microbiota láctica de queijos artesanais**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2009. 30 p.

CALLAHAN, B. J. *et al.* DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. **Nature Methods**, [United Kingdom], v. 13, n. 7, p. 581-583, July 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27214047/>. Acesso em: 19 maio 2023.

CAMARGO, A. C. *et al.* Microbial shifts through the ripening of the “Entre Serras” Minas artisanal cheese monitored by high-throughput sequencing. **Food Research International**, [United Kingdom], v. 139, p. 109803, Jan. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996920308280>. Acesso em: 22 maio 2023.

CAMPOS, A. C. S. **Estudo sobre o desenvolvimento de cervejas utilizando fermentação consorciada entre bactérias do ácido láctico e levedura isolada de alambique de cachaça**. 2017. 75p. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2017.

CARDOSO, V. *et al.* The influence of seasons and ripening time on yeast communities of a traditional Brazilian cheese. **Food Research International**, [United Kingdom], v. 69, p. 331-340, Mar. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996914008291>. Acesso em: 22 set. 2023.

CARR, F. J.; CHILL, D.; MAIDA, N. The lactic acid bacteria: a literature survey. **Critical Reviews in Microbiology**, [United Kingdom], v. 28, n. 4, p. 281-370, 2002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12546196/>. Acesso em: 19 out. 2023.

CESARIO, B. I. R. **Sucessão microbiana no processo de maturação do Queijo Minas Artesanal produzido na região de Araxá-MG, com presença do mofo branco**. 2022. 74p. Dissertação (mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2022.

CEUGNIEZ, A. *et al.* Fungal diversity of “Tomme d'Orchies” cheese during the ripening process as revealed by a metagenomic study. **International Journal of Food Microbiology**, [Netherlands], v. 258, p. 89-93, Oct. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168160517303124>. Acesso em: 06 nov. 2023.

CORSETTI, A.; ROSSI, J.; GOBBETTI, M. Interactions between yeasts and bacteria in the smear surface-ripened cheeses. **International Journal of Food Microbiology**, [Netherlands], v. 69, n. 1-2, p. 1-10, Sept. 2001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11589547/>. Acesso em: 19 set. 2023.

CREMONESI, P. *et al.* Milk microbiome diversity and bacterial group prevalence in a comparison between healthy Holstein Friesian and Rendena cows. **PLoS One**, [United States], v. 13, n. 10, p. e0205054, Oct. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30356246/>. Acesso em: 06 maio 2023.

DALMASSO, A. *et al.* Characterization of microbiota in Plaisentif cheese by high-throughput sequencing. **LWT-Food Science and Technology**, [United States], v. 69, p. 490-496, June 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643816300834?via%3Dihub>. Acesso em: 19 nov. 2023.

DORES, M. T.; FERREIRA, C. L. L. F. Queijo Minas Artesanal, tradição centenária: ameaças e desafios. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, [Viçosa], v. 2, n. 2, p. 26-34, dez. 2012. Disponível em: <https://periodicos.ufv.br/rbas/article/view/2754>. Acesso em: 14 jul. 2023.

DOYLE, C. J. *et al.* High-throughput metataxonomic characterization of the raw milk microbiota identifies changes reflecting lactation stage and storage conditions. **International Journal of Food Microbiology**, [Netherlands], v. 255, p. 1-6, Aug. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28554065/>. Acesso em: 19 jul. 2023.

EL-FADALY, H. M. *et al.* Isolation and Identification of Egyptian Ras Cheese (Romy) Contaminating Fungi during Ripening Period. **Journal of Microbiology Research**, [s.l.], v. 5, n. 1, p. 1-10, 2015. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/269336785_Isolation_and_Identification_of_Egyptian_Ras_Cheese_Romy_Contaminating_Fungi_during_Ripening_Period/link/54b6a9010cf24eb34f6d5538/download?_tp=eyJjb250ZXh0Ijp7ImZpcnN0UGFnZSI6InB1YmxpY2F0aW9uIiwicGFnZSI6InB1YmxpY2F0aW9uIn19. Acesso em: 19 maio 2023.

ERHARDT, M. M. *et al.* Lactic Bacteria in Artisanal Cheese: Characterization through Metagenomics. **Fermentation**, [Switzerland], v. 9, n. 1, p. 41, Jan. 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2311-5637/9/1/41>. Acesso em: 19 jul. 2023.

FAITH, D. P. Conservation evaluation and phylogenetic diversity. **Biological Conservation**, [Netherlands], v. 61, n. 1, p. 1-10, 1992. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0006320792912013?via%3Dihub>. Acesso em: 22 jun. 2023.

FAO/WHO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS/ WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria**: Report of a Joint Food and Agriculture Organization of the United Nations. Cordoba: FAO, 2001.

FIGUEIREDO, S. P. *et al.* Características do leite cru e do queijo Minas artesanal do serro em diferentes meses. **Archives of Veterinary Science**, [Curitiba], v. 20, n. 1, p. 68-82, 2015. Disponível em: <https://revistas.ufpr.br/veterinary/article/view/37243>. Acesso em: 19 jun. 2023.

FLÓREZ, B. A. *et al.* Morphotypic and molecular identification of filamentous fungi from Spanish blue-veined Cabrales cheese, and typing of *Penicillium roqueforti* and *Geotrichum candidum* isolates. **International Dairy Journal**. [Netherlands], v. 17, n. 4, p. 350-357, Apr. 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0958694606000720?via%3Dihub>. Acesso em: 14 maio 2023.

FRANCIOSI, E. *et al.* Microbial analysis of raw cows' milk used for cheese-making: influence of storage treatments on microbial composition and other technological traits. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, [Netherlands], v. 27, p. 171-180, 2011. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11274-010-0443-2>. Acesso em: 03 jun. 2023.

FRÉTIN, M. *et al.* Integration of Multiomic Data to Characterize the Influence of Milk Fat Composition on Cantal-Type Cheese Microbiota. **Microorganisms**, [Switzerland], v. 10, n. 2, p. 334, Feb. 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-2607/10/2/334>. Acesso em: 19 jul. 2023.

FRÖHLICH-WYDER, M. T., ARIAS-ROTH, E., JAKOB, E. Cheese yeasts. **Yeast**, [United Kingdom], v. 36, n. 3, p. 129-141, Mar. 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30512214/>. Acesso em: 22 nov. 2023.

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

GOBBETTI, M. *et al.* Pros and cons for using non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) as secondary/adjunct starters for cheese ripening. **Trends in Food Science & Technology**, [United Kingdom], v. 45, n. 2, p. 167-178, Oct. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224415001831?via%3Dihub>. Acesso em: 22 ou. 2023.

IPHAN - INSTITUTO DO PATRIMÔNIO HISTÓRICO E ARTÍSTICO NACIONAL. **Modo artesanal de fazer queijo de Minas: Serro, Serra da Canastra e Serra do Salitre (Alto Paranaíba)**. Brasília: IPHAN, 2014. 142p. Disponível em: http://portal.iphan.gov.br/uploads/publicacao/Dossie_Queijo_de_Minis_web.pdf. Acesso em: 29 jul. 2023.

JAKOBSEN, M.; NARVHUS, J. Yeasts and their possible beneficial and negative effects on the quality of dairy products. **International Dairy Journal**, [Netherlands], v. 6, n. 8-9, p. 755-768, Aug./Sept. 1996. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0958694695000712>. Acesso em: 14 maio 2023.

JODRAL, M. *et al.* Mycoflora and toxigenic *Aspergillus flavus* in Spanish milks. **International Journal of Food Microbiology**, [Netherlands], v. 18, n. 2, p. 171-174, Apr. 1993. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8494684/>. Acesso em: 12 jun. 2023.

JONNALA, B. R. Y. *et al.* Sequencing of the cheese microbiome and its relevance to industry. **Frontiers in Microbiology**, [Switzerland], v. 9, p. 1020, May 2018. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2018.01020/full>. Acesso em: 19 jul. 2023.

KAMIMURA, B. A. *et al.* Amplicon sequencing reveals the bacterial diversity in milk, dairy premises and Serra da Canastra artisanal cheeses produced by three different farms. **Food Microbiology**, [United States], v. 89, p. 103453, Aug. 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32138999/>. Acesso em: 02 maio 2023.

KAMIMURA, B. A. *et al.* Brazilian artisanal cheeses: an overview of their characteristics, main types and regulatory aspects. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, [United States], v. 18, n. 5, p. 1636-1657, Sept. 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33336917/>. Acesso em: 06 jul. 2023.

KATOH, K. *et al.* MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. **Nucleic Acids Research**, [United Kingdom], v. 30, n. 14, p. 3059-3066, July 2002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12136088/>. Acesso em: 04 maio 2023.

KIM, B. R. *et al.* Deciphering diversity indices for a better understanding of microbial communities. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, [Netherlands], v. 27, n. 12, p. 2089-2093, Dec. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29032640>. Acesso em: 06 jul. 2023.

KOTHE, C. I.; MOHELLIBI, N.; RENAULT, P. Revealing the microbial heritage of traditional Brazilian cheeses through metagenomics. **Food Research International**, [United

Kingdom], v. 157, p. 111265, July 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35761577/>. Acesso em: 10 set. 2023.

LACHANCE, M. A. *et al.* *Candida berkhout* (1923). In: KURTZMAN, C.; FELL, J. W.; BOEKHOUT, T. **The yeast: A Taxonomic Study**. 5. ed. Amsterdam: Elsevier, 2011. p. 987-1278.

LANDETA, G. *et al.* Technological and safety properties of lactic acid bacteria isolated from Spanish drycured sausages. **Meat Science**, [Netherlands], v. 95, n. 2, p. 272- 280, Oct. 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23743032/>. Acesso em: 20 nov. 2023.

LAVOIE, K. *et al.* Characterization of the fungal microflora in raw milk and specialty cheeses of the province of Quebec. **Dairy Science & Technology**, [United states], v. 92, n. 5, p. 455-468, Sept. 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23125908/>. Acesso em: 17 nov. 2023.

LAWRENCE, G. W. *et al.* Nisin G is a novel nisin variant produced by a gut-derived *Streptococcus salivarius*. **BioRxiv**, [s.l.], Feb. 2022. Disponível em: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2022.02.15.480493v1>. Acesso em: 19 out. 2023.

LIMA, C. D. L. C. *et al.* Bactérias do ácido láctico e leveduras associadas com o queijo-de-minas artesanal produzido na região da Serra do Salitre, Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [Belo Horizonte], v. 61, n. 1, p. 266-272, fev. 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/5GMTXs8mKQxwzBJF5PfFx6y/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 02 set. 2023.

LOPANDIC, K. *et al.* Identification of yeasts associated with milk products using traditional and molecular techniques. **Food Microbiology**, [United States], v. 23, n. 4, p. 341-350, June 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16943023/>. Acesso em: 07 abr. 2023.

LOZUPONE, C. A. *et al.* Quantitative and qualitative β diversity measures lead to different insights into factors that structure microbial communities. **Applied and Environmental Microbiology**, [United States], v. 73, n. 5, p. 1576-1585, Mar. 2007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17220268/>. Acesso em: 06 set. 2023.

LOZUPONE, C.; KNIGHT, R. UniFrac: a new phylogenetic method for comparing microbial communities. **Applied and Environmental Microbiology**, [United States], v. 71, n. 12, p. 8228-8235, Dec. 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16332807/>. Acesso em: 19 nov. 2023.

MARCELLINO, N.; BENSON, D. R. The good, the bad, and the ugly: tales of mold-ripened cheese. **Microbiology Spectrum**, v. 1, n. 1, p. 1-27, Oct 2013. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/pdf/10.1128/microbiolspec.cm-0005-12>. Acesso em: 14 set. 2023.

MARTIN, J. G. P. *et al.* Seasonal variation in the Canastra cheese mycobiota. **Frontiers in Microbiology**, [Switzerland], v. 13, p. 5437, Feb. 2023. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2022.1076672/full>. Acesso em: 26 maio 2023.

MERING, C. *et al.* Quantitative phylogenetic assessment of microbial communities in diverse environments. **Science**, [United States], v. 315, n. 5815, p. 1126-1130, Feb. 2007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17272687/>. Acesso em: 14 jul. 2023.

METIN, B. Filamentous fungi in cheese production. *In*: BUDAK, S. O.; AKAL, H. C. **Microbial cultures and enzymes in dairy technology**. 1st ed. United States: Medical Information Science Reference, 2018. p. 257-275.

MINAS GERAIS. Decreto 48.024, de 19 de ago. de 2020. **Regulamenta a Lei no 23.157, de 18 de dezembro de 2018, que dispõe sobre a produção e a comercialização dos queijos artesanais de Minas Gerais**. Belo Horizonte: Diário Oficial do Estado de Minas Gerais, 2020. Disponível em: <https://www.almg.gov.br/legislacao-mineira/DEC/48024/2020/>. Acesso em: 06 set. 2023.

MONTAGNA, M. T. *et al.* Investigation of fungal contamination in sheep and goat cheeses in southern Italy. **Mycopathologia**, [Netherlands], v. 158, n. 2, p. 245-249, Aug. 2004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15518354/>. Acesso em: 22 out. 2023.

MONTEIRO, R. P.; MATTA, V. M. **Queijo Minas artesanal: valorizando a agroindústria familiar**. Brasília, DF: Embrapa, 2018. 102p.

MOUBASHER, A.-AH; ABDEL-SATER, M. A.; SOLIMAN, Z. S. M. Yeasts and filamentous fungi associated with some dairy products in Egypt. **Journal de Mycologie Medicale**, [France], v. 28, n. 1, p. 76-86, Mar. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29602635/>. Acesso em: 19 maio 2023.

MOUNIER, J. *et al.* Sources of the adventitious microflora of a smear-ripened cheese. **Journal of Applied Microbiology**, [United Kingdom], v. 101, n. 3, p. 668-681, Sept. 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16907817/>. Acesso em: 22 out. 2023.

MOZZI, F. Lactic acid bacteria. *In*: CABALLERO, B.; FINGLAS, P.; TOLDRA, F. **Encyclopedia of Food and Health**. 1st ed. 2016. p. 501-508.

NERO, L. A. *et al.* Lactic microbiota of the minas artisanal cheese produced in the serro region, Minas Gerais, Brazil. **LWT – Food Science and Technology**, [United States], v. 148, 111698, Aug. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643821008513>. Acesso em: 02 out. 2023.

NILSSON, R. H. *et al.* The UNITE database for molecular identification of fungi: handling dark taxa and parallel taxonomic classifications. **Nucleic Acids Research**, [United Kingdom], v. 47, n. D1, p. D259-D264, Jan. 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30371820/>. Acesso em: 22 out. 2023.

NÓBREGA, J. E. **Biodiversidade microbiana, descritores físico-químicos e sensoriais dos queijos artesanais fabricados nas regiões da Serra da Canastra e do Serro, Minas Gerais**. 2012. 128p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2012.

NÓBREGA, J. E. *et al.* Variações na microbiota leveduriforme do fermento endógeno utilizado na produção do queijo Canastra. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, [Juiz de Fora], v. 63, n. 364, p. 14-18, 2008. Disponível em: <https://www.revistadoilct.com.br/rilct/article/view/59>. Acesso em: 07 nov. 2023.

O'SHEA, Eileen F. *et al.* Characterization of enterocin-and salivaricin-producing lactic acid bacteria from the mammalian gastrointestinal tract. **FEMS Microbiology Letters**, [United Kingdom], v. 291, n. 1, p. 24-34, Feb. 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19076236/>. Acesso em: 17 nov. 2023.

PARENTE, E.; RICCIARDI, A.; ZOTTA, T. The microbiota of dairy milk: a review. **International Dairy Journal**, [Netherlands], v. 107, 104714, Aug. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0958694620300844>. Acesso em: 14 out. 2023.

PERIN, L. M. *et al.* Bacterial ecology of artisanal Minas cheeses assessed by culture-dependent and -independent methods. **Food Microbiology**, [United States], v. 65, p. 160–169, Aug. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0740002016306086>. Acesso em: 17 maio 2023.

PRICE, M. N.; DEHAL, P. S.; ARKIN, A. P. FastTree 2—approximately maximum-likelihood trees for large alignments. **PloS One**, [United States], v. 5, n. 3, p. e9490, 2010. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2835736/>. Acesso em: 14 out. 2023.

QUAST, C. *et al.* The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. **Nucleic Acids Research**, [United Kingdom], v. 41, n. D1, p. D590-D596, Jan. 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3531112/>. Acesso em: 19 nov. 2023.

QUIGLEY, L. *et al.* The complex microbiota of raw milk. **FEMS Microbiology Reviews**, [United Kingdom], v. 37, n. 5, p. 664-698, Sept. 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23808865/>. Acesso em: 22 set. 2023.

RAFAEL, V. C. **Fenótipos da microflora predominante do fermento endógeno (pingo) relevantes para as características e segurança microbiológica do queijo Minas artesanal da Serra da Canastra**. 2017. 138p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2017.

RASIME, D. *et al.* Microfungi in cultivated fields in Eskişehir provience (Turkey). **Journal of Basic Microbiology**, [Germany], v. 45, n. 4, p. 279-293, 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16028200/>. Acesso em: 20 set. 2023.

RESENDE, M. F. S. *et al.* Queijo de minas artesanal da Serra da Canastra: influência da altitude das queijarias nas populações de bactérias ácido lácticas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [Belo Horizonte], v. 63, p. 1567-1573, dez. 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/QvV468RTqd6HNcdxN3LjvSK/>. Acesso em: 06 jun. 2023.

SANT'ANNA, F. M. *et al.* Assessment of the probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from Minas artisanal cheese produced in the Campo das Vertentes region, Brazil. **International Journal of Dairy Technology**, [United States], v. 70, n. 4, p. 592-602, June 2017. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1471-0307.12422>. Acesso em: 19 jul. 2023.

SILVA, J. M. M. **Micobiota core de queijos de leite cru produzidos na região da Serra da Canastra**. 2020. 63p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2020.

SIPICZKI, M.; HRABOVSKI, V. Galactomyces candidus diversity in the complex mycobiota of cow-milk bryndza cheese comprising antagonistic and sensitive strains. **International Journal of Food Microbiology**, [Netherlands], v. 388, p. 110088, Mar. 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36689829/>. Acesso em: 06 out. 2023.

ŠIPOŠOVÁ, P. *et al.* Growth dynamics of lactic acid bacteria and dairy microscopic fungus Geotrichum candidum during their co-cultivation in milk. **Food Science and Technology International**, [United States], v. 27, n. 6, p. 572-582, Sept. 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33269946/>. Acesso em: 19 out. 2023.

SOBRAL, D. *et al.* Principais defeitos em queijo Minas artesanal: uma revisão. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, [Juiz de Fora], v. 72, n. 2, p. 108-120, 2017. Disponível em: <https://www.revistadoilct.com.br/rilct/article/view/600/0>. Acesso em: 16 out. 2023.

SOUZA, T. P. *et al.* Mycobiota of Minas artisanal cheese: Safety and quality. **International Dairy Journal**, [Netherlands], v. 120, 105085, Sept. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0958694621001138?via%3Dihub>. Acesso em: 14 set. 2023.

ŠURANSKÁ, H. *et al.* Characterisation of the yeast and mould biota in traditional white pickled cheeses by culture-dependent and independent molecular techniques. **Folia Microbiologica**, [Netherlands], v. 61, n. 6, p. 455-463, Nov. 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27027646/>. Acesso em: 19 set. 2023.

TAMANG J. P. *et al.* Functional properties of microorganisms in fermented foods. **Frontiers in Microbiology**, [Switzerland], v. 7, n. 578, Apr. 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4844621/>. Acesso em: 19 maio 2023.

VACHEYROU, M. *et al.* Cultivable microbial communities in raw cow milk and potential transfers from stables of sixteen French farms. **International Journal of Food Microbiology**, [Netherlands], v. 146, n. 3, p. 253-262, Apr. 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21429612/>. Acesso em: 14 nov. 2023.

VERCE, M; VUYST, L.; WECKX, S. Shotgun metagenomics of a water kefir fermentation ecosystem reveals a novel Oenococcus species. **Frontiers in Microbiology**, [Switzerland], v. 10, p. 479, Mar. 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6424877/>. Acesso em: 12 set. 2023.

VIEIRA, A. C. A. *et al.* Potencial probiótico de bactérias ácido-láticas isoladas de queijo Minas artesanal. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, [Juiz de Fora], v. 77, n. 1, p. 32-42, 2022. Disponível em: <https://www.revistadoilct.com.br/rilct/article/view/869>. Acesso em: 26 jul. 2023.

WOLFE, B. E. *et al.* Cheese rind communities provide tractable systems for in situ and in vitro studies of microbial diversity. **Cell**, [United States], v. 158, n. 2, p. 422–433, July 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25036636/>. Acesso em: 19 maio 2023.

YILMAZ, P. *et al.* The SILVA and “all-species living tree project (LTP)” taxonomic frameworks. **Nucleic Acids Research**, [United Kingdom], v. 42, n. D1, p. D643-D648, Nov 2013. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/346773220_The_SILVA_and_All-species_Living_Tree_Project_LTP_taxonomic_frameworks. Acesso em: 15 maio 2023.

ARTIGO 2 – Isolamento e identificação de leveduras da casca e do interior do Queijo Minas Artesanal da Canastra, Minas Gerais, Brasil

Michele de Oliveira Paiva Aragão¹, Luís Roberto Batista^{1*}

¹Departamento 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 1407

E-mail: luisrb@dca.ufla.br

RESUMO

Minas Gerais se destaca pela produção de queijos artesanais em diversas microrregiões. As técnicas tradicionais de fabricação, a microbiota endógena, entre outros fatores, predizem as características particulares do produto. A preservação das leveduras que compõem essa microbiota permite ampliar o entendimento da comunidade microbiana no queijo. Desse modo, este estudo teve como objetivo identificar e preservar as leveduras isoladas em Coleção de Cultura de Microrganismos para pesquisas posteriores. Avaliou-se a diversidade de leveduras identificadas na casca e no interior do Queijo Minas Artesanal Casca Florida da região da Canastra aos 15 dias de maturação, utilizando-se métodos dependentes de cultivo. O isolamento das leveduras das amostras de queijos se deu por diluição seriada nos meios DRBC (Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol) e YEPG (Yeast Extract Peptone Glucose Agar) e a identificação dos isolados por MALDI-TOF MS (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry). Aspectos físico-químicos das amostras, como umidade, gorduras, proteínas, pH e cinzas foram correlacionados com a microbiota identificada. Das espécies de leveduras características da microbiota *terroir*, *Diutina catenulata*, *Kluyveromyces lactis*, *Kodamaea ohmeri*, *Trichosporon coremiiforme* e *Geotrichum candidum*, foram encontradas tanto no interior quanto na superfície dos queijos analisados. Somente na superfície identificou-se *Candida intermedia*, *Torulaspota delbrueckii* e *Trichosporon japonicum*, associadas às amostras com maiores valores de pH. No interior, encontrou-se as leveduras *Candida lucitaniae*, *Candida parapsilosis*, *Trichosporon asahii* e *Rhodotorula mucilaginosa*, relacionadas aos queijos mais úmidos. *G. candidum* e *K. lactis* foram relacionados aos queijos mais gordos. Os resultados colaboram para o entendimento da composição físico-química e micológica da comunidade fúngica dos queijos da região e contribuem para a implementação de estratégias que possam melhorar a qualidade e segurança na produção. Além disso, a preservação dos isolados possibilita estudos futuros que possam contribuir para o conhecimento das dinâmicas entre as comunidades microbianas do queijo Minas artesanal da Canastra.

Palavras-chave: MALDI-TOF MS. Leveduras. Qualidade.

ABSTRACT

Minas Gerais stands out for the production of artisanal cheeses in several micro-regions. Traditional manufacturing techniques, endogenous mycobiota, among other factors, predict the particular characteristics of the product. The preservation of the yeasts that make up this mycobiota allows us to expand our understanding of the microbial community in cheese. Therefore, this study aimed to identify and preserve the yeasts isolated in the Microorganism Culture Collection for future research. The diversity of yeasts identified in the rind and interior of Bloomy Rind Artisanal Minas Cheese from the Canastra region was evaluated at 15 days of maturation, using cultivation-dependent methods. The isolation of yeasts from cheese samples was carried out by serial dilution in DRBC (Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol) and YEPG (Yeast Extract Peptone Glucose Agar) medium and identification of the isolates by MALDI-TOF MS (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time-of -Flight Mass Spectrometry). Physicochemical aspects of the samples, such as moisture, fats, proteins, pH and ash were correlated with the identified mycobiota. Of the yeast species characteristic of the *terroir* mycobiota, *Diutina catenulata*, *Kluyveromyces lactis*, *Kodamaea ohmeri*, *Trichosporon coremiiforme* and *Geotrichum candidum*, were found both in the mass and on the surface of the analyzed cheeses. *Candida intermedia*, *Torulaspota delbrueckii* and *Trichosporon japonicum* were identified only on the surface, associated with samples with higher pH values. In the mass, the yeasts *Candida lucitaniae*, *Candida parapsilosis*, *Trichosporon asahii* and *Rhodotorula mucilaginosa* were found, related to moister cheeses. *G. candidum* and *K. lactis* were related to fattier cheeses. The results contribute to the understanding the physical-chemical and mycological composition of the fungal community of cheeses in the region and contribute to the implementation of strategies that can improve quality and safety in production. Furthermore, the preservation of the isolates enables future studies that can contribute to the knowledge of the dynamics between the microbial communities of Canastra's artisanal Minas cheese.

Keywords: MALDI-TOF MS. Yeasts. Quality.

1 INTRODUÇÃO

No Brasil são produzidos diversos tipos de queijos artesanais, com características variadas entre as regiões produtoras. As variedades de queijos são determinadas pelas regiões e/ou métodos tradicionais de fabricação (BORELLI *et al.*, 2016). Nesse contexto, o estado de Minas Gerais é referência quando se trata de queijo artesanal produzido com leite cru, devido a sua tradição secular na fabricação deste produto (SANT'ANNA *et al.*, 2019; PINEDA *et al.*, 2021). O estado é conhecido pelo grande volume de produção e pela diversidade de tipos de queijos. Entre esses, destaca-se o Queijo Minas Artesanal que teve seu modo de fazer registrado como Patrimônio Cultural do Brasil pelo Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional (KAMIMURA *et al.*, 2019; MENESES, 2006).

O Queijo Minas Artesanal (QMA) da Canastra tem ganhado destaque por sua originalidade, tradição e qualidade, sendo reconhecido no Brasil e no mundo por suas diversas premiações. Segundo Aragão *et al.* (2022), o queijo produzido artesanalmente na região da Canastra é fabricado a base leite de vaca não pasteurizado e fermento endógeno rico em microrganismos nativos, conhecido como “pingo”, o que contribui para a fermentação e maturação do produto. Dessa forma, configura-se como um alimento tradicional com indicação geográfica protegida e grande valor social, cultural e econômico.

Por ser o QMA um produto artesanal, as características particulares do *terroir*, como clima, pastagens nativas, altitude, temperatura, tipo de solo e umidade relativa do ar, bem como a população microbiana nativa, entre outras influenciam diretamente na qualidade, tipicidade e identidade do produto (BEMFEITO *et al.*, 2016; TURBES *et al.*, 2016). Este conjunto de fatores formam o perfil da comunidade microbiana do queijo, como as leveduras, influenciando também nas características sensoriais do produto (CASALTA *et al.*, 2009; DONNELLY; KEHLER, 2016). Observa-se então a importância de se conhecer a diversidade da microbiota do queijo e quais fatores podem influenciar na sua composição.

Assim, o presente estudo teve por objetivo a preservação das leveduras presentes na casca e no interior do Queijo Minas Artesanal da microrregião da Canastra, aos 15 dias de maturação, utilizando-se métodos dependentes de cultivo. Este estudo também buscou correlacionar as espécies identificadas com os aspectos físico-químicos das amostras analisadas.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Amostragem

Foram selecionados queijos Minas artesanal do tipo casca florida produzidos em queijarias produtoras certificadas da microrregião da Canastra que mostraram interesse em participar do estudo. Estas estão localizadas nos municípios de São Roque de Minas e Medeiros, na microrregião da Canastra, no estado de Minas Gerais, Brasil (TABELA 6).

Tabela 6 - Local de produção das amostras de Queijo Minas Artesanal da Canastra.

Amostras	Queijaria	Localização geográfica		
		Latitude	Longitude	Altitude (m)
A1	Q1	20°11'09"S	46°21'43"W	766 m
A2	Q2	20°06'45"S	46°15'13"W	889 m
A3	Q3	20°01'08"S	46°28'08"W	1.075 m
A4	Q4	20°02'40"S	46°33'05"W	1.225 m
A5	Q5	20°06'24"S	46°19'15"W	826 m
A6	Q6	20°01'52"S	46°27'49"W	1.050 m

Legenda: "A" identifica as amostras de queijo; "Q" identifica as queijarias onde as amostras foram coletadas.

Fonte: Da autora (2023).

As amostras, com tempo de maturação de 15 dias (FIGURA 7) foram produzidas e coletadas no mês de julho de 2021, armazenadas em sacos estéreis e transportadas em temperatura ambiente até a Unidade de Recursos Microbiológicos (URMICRO), da Universidade Federal de Lavras (UFLA). As amostras foram então preparadas para posterior análise.

Figura 7 - Amostra de queijo artesanal de casca florida da microrregião da Canastra.



Fonte: Da autora (2023).

2.2 Preparação das amostras

As peças de queijo foram preparadas e fracionadas em ambiente estéril. Após o corte das peças foi realizada a divisão de cada amostra de queijo em duas subamostras distintas (casca e interior), conforme Tabela 7.

Tabela 7 - Subdivisão das amostras de queijo.

Amostras	Subamostras derivadas	
	Casca	Interior
A1	A1r	A1m
A2	A2r	A2m
A3	A3r	A3m
A4	A4r	A4m
A5	A5r	A5m
A6	A6r	A6m

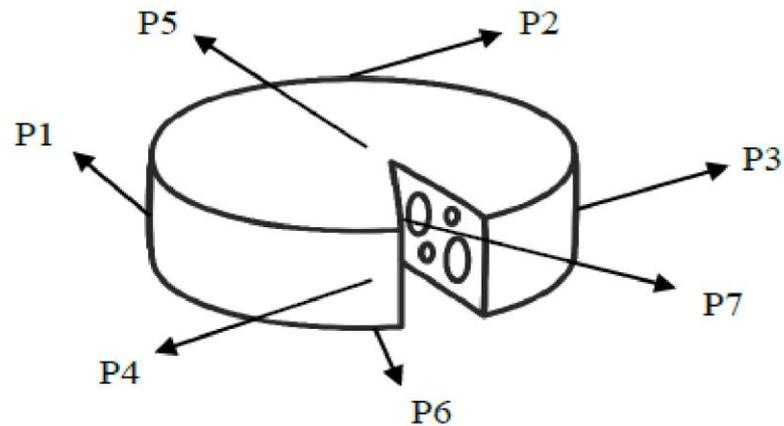
Legenda: “A” identifica as amostras de queijo; “r” identifica as subamostras da casca (*rind*); “m” identifica as subamostras do interior ou massa do queijo (*mass*).

Fonte: Da autora (2023).

Assim, foram coletados fragmentos das amostras de pontos equidistantes da casca, sendo os pontos P1, P2, P3 e P4 referente às laterais e os pontos P5 e P6 da superfície e da base do queijo, respectivamente. Também foram coletados fragmentos das amostras do interior do

queijo, no ponto mais central e distante da superfície (ponto P7), conforme esquema mostrado na Figura 8.

Figura 8 - Modelo esquemático de preparação das amostras para análises.



Fonte: Da autora (2023).

Fragmentos das subamostras da casca e do interior foram armazenados separadamente (25 g da casca e 25 g do interior) e analisadas para isolamento e identificação da microbiota cultivável. Outra parte foi destinada para determinação da composição físico-química dos queijos.

2.2.1 Avaliação da microbiota por método dependente de cultivo

A técnica de diluição seriada foi utilizada para avaliar as espécies de leveduras presentes nos queijos, conforme taxonomia polifásica clássica descrita por Aragão *et al.* (2022). Para isto, 25 g de casca e 25 g do interior do queijo foram triturados grosseiramente e adicionados, cada uma, a 225 mL de solução de peptona a 0,1% e homogeneizados usando Stomacher (Mayo Homogenius HG 400, São Paulo, Brasil). Estes foram submetidos a 490 golpes/2 minutos.

Alíquotas de 0,1 mL das diluições em série foram espalhadas na superfície das placas com meio de cultura placas e incubadas a 25 °C por 5 a 7 dias. Os meios utilizados foram Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC; Merck, Darmstadt, Germany) e Yeast Extract Peptone Glucose Agar (YEPG) (Merck). Após o período de incubação, unidades formadoras de colônias (UFCs) foram contadas e a técnica da raiz quadrada foi empregada para determinar o número total de leveduras a serem isoladas.

2.2.2 Identificação dos isolados

Os isolados foram então transferidos para o meio Malt Extract Agar (MEA) (Merck, Darmstadt, Alemanha) para purificação e incubados em BOD a 25 °C e 28 °C por 7 dias. Após este período, características macro e microscópicas das colônias foram avaliadas.

As leveduras isoladas foram cultivadas em meio YEPG (1% de extrato de levedura [Merck], 2% de peptona bacteriológica [HiMedia], 2% de glicose [Merck], 1,5% de ágar [Merck] e pH ajustado em 5) a 28 °C por 18 horas. Posteriormente foram identificados usando Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF), conforme metodologias descritas por Oliveira *et al.* (2015) e Resende *et al.* (2018). Cada cepa foi preparada em triplicata e analisada em um espectrômetro de massa Microflex LT MALDI-TOF (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha) usando o MALDI Biotyper 3.0 automatic system.

Depois de identificados, os isolados foram submetidos ao congelamento progressivo (inicial: -18 °C, final: -80 °C) e depositados na Coleção de Cultura de Microrganismos da URMICRO, na Universidade Federal de Lavras.

2.2.3 Avaliação dos aspectos físico-químicos

As amostras de casca e do interior dos queijos foram analisadas por meio de testes para determinação dos aspectos físico-químicos, em triplicata, no Laboratório de Leite e Derivados do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras (UFLA), segundo os protocolos da Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2006) e do Instituto Adolfo Lutz (2008).

Foram avaliados o percentual de umidade pelo método gravimétrico e também os valores de pH, teor de gordura pelo método butirométrico (método Van Gulik), de proteínas pelo método Kjeldahl e de cinzas, conforme descrição abaixo:

- a) umidade: secagem em estufa (102 ± 2 °C) de 3 gramas de cada amostra até estabilização do peso;
- b) pH: homogeneização da de 5 gramas de amostra em 50 mL de água destilada e aferição com medidor de pH (Quimis[®]);
- c) gordura: digestão da matéria orgânica por ácido sulfúrico, utilizando-se butirômetro especial para queijos e separação das fases por ação do álcool isoamílico. A leitura foi dada em escala própria do equipamento;

- d) proteínas: determinação do Nitrogênio Total (NT) pelo método de Kjeldhal para cálculo do teor de proteínas totais ($NT \times 6,38$);
- e) cinzas: carbonização de 2 gramas de amostra em chapa aquecedora e MUFLA a 540 °C por 18 horas para determinação do peso de cinzas de cada amostra.

2.3 Análise estatística

Para avaliar a diferença estatística dados das análises dos componentes físico-químicos realizou-se uma análise de variância (ANOVA) com posterior teste de Tukey a 5% ($p < 0,05$) de significância, utilizando-se o *software* Sisvar, versão 5.6 (FERREIRA, 2014).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Leveduras identificadas na superfície dos queijos

No total, foram isoladas 54 leveduras das amostras de casca de queijo analisadas. Destes, identificou-se 26 isolados de leveduras. As populações médias totais de espécies fúngicas encontradas nos meios de cultura analisados estão descritas na Tabela 8.

Tabela 8 - População média total de espécies fúngicas da superfície dos queijos avaliada nos meios de cultivo DRBC e YEPG em UFC por grama (UFC/g).

Amostra	População média total	
	YEPG	DRBC
A1r	101 x 10 ⁸ UFC/g	84 x 10 ⁸ UFC/g
A2r	72 x 10 ⁸ UFC/g	102 x 10 ⁸ UFC/g
A3r	38 x 10 ⁸ UFC/g	52 x 10 ⁸ UFC/g
A4r	55 x 10 ⁷ UFC/g	67 x 10 ⁷ UFC/g
A5r	4 x 10 ⁸ UFC/g	35 x 10 ⁸ UFC/g
A6r	33 x 10 ⁸ UFC/g	30 x 10 ⁸ UFC/g

Legenda: “A” identifica as amostras de queijo; “r” identifica as subamostras da casca (*rind*).

Fonte: Da autora (2023).

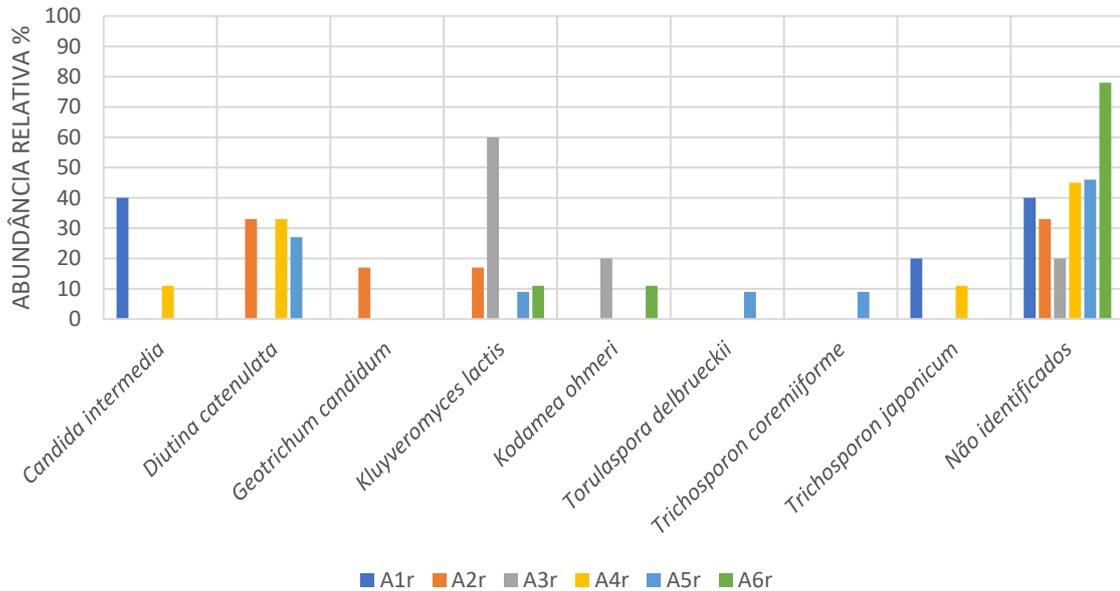
A Amostra A1r apresentou os maiores valores de populações média total da superfície dos queijos no meio de cultura YEPG (101 x 10⁸ UFC/g), enquanto valores maiores de UFC/g foram apresentados pela amostra A2r, com 102 x 10⁸ UFC/g no meio DRBC. A amostra que apresentou menores valores para população média total foi a amostra A4r, com 55 x 10⁷ UFC/g e 67 x 10⁷ UFC/g nos meios de cultura YEPG e DRBC, respectivamente.

As leveduras identificadas estão dispostas no Gráfico 10, de acordo com a abundância relativa de cada espécie presentes nas amostras de casca dos queijos.

A amostra A5r apresentou a maior de diversidade de leveduras isoladas. As leveduras identificadas foram: *Diutina catenulata*, presente nas amostras A2r (33%), A4r (33%) e A5r (27%); *Candida intermedia* nas amostras A1r (40%) e A4r (11%); *Kluyveromyces lactis*, prevalente na maioria das amostras (A2r: 17%, A3r: 60%, A5r: 9% e A6r: 11%); *Kodamaea ohmeri*, nas amostras A3r (20%) e A6r (11%); *Trichosporon japonicum*, nas amostras A1r e A4r, com 20% e 11% de prevalência, respectivamente. Outras espécies abundantes em apenas uma das seis amostras analisadas foram *Torulasporea delbrueckii* (A5r: 9%), *Trichosporon*

coremiiforme (A5r: 9%) e o fungo leveduriforme *Geotrichum candidum* (A2r: 17%). No total, 52% dos isolados das seis amostras de casca de queijo não foram identificados.

Gráfico 10 - Abundância relativa de leveduras presentes na casca dos queijos.



Legenda: “A” identifica as amostras de queijo; “r” identifica as subamostras da casca (*rind*).
Fonte: Da autora (2023).

A presença de leveduras na superfície do queijo é justificada principalmente pela presença natural desses microrganismos no leite cru, no ar, nas roupas, mãos, utensílios e equipamentos utilizados durante os processos de produção e maturação (ELIKASES-LECHNER; GINZINGER, 1995; BORELLI *et al.*, 2006). Kačániová *et al.* (2019) citam que a população de leveduras pode ser frequentemente isolada de diversos tipos de queijos com contagens de 10^4 a 10^8 UFC/g e que sua presença no queijo está atribuída às condições favoráveis para seu crescimento e à ampla distribuição do ambiente leiteiro.

As leveduras compõem a microbiota secundária de vários tipos de queijos, principalmente de queijos artesanais e têm papel significativo no processo de maturação, demonstrado por diversos estudos (BORELLI *et al.*, 2006; BINTSIS, 2021). Esses microrganismos são uma parte significativa da microbiota do queijo, devido às suas atividades lipolíticas e proteolíticas, fermentação da lactose, produção de sabores, tolerância a altas concentrações de sal, baixo pH, baixa atividade de água e baixas temperaturas (LOPANDIC *et al.*, 2006; KAČÁNIOVÁ *et al.*, 2019).

Estudos realizados com QMA têm permitido o isolamento, identificação e caracterização de diferentes leveduras de interesse na cadeia produtiva do queijo artesanal. As espécies identificadas neste estudo são comumente encontradas em diferentes tipos de queijos e têm sido relatadas por vários autores (ANDRADE *et al.*, 2017; ARAGÃO *et al.*, 2022; BINTSIS, 2021; CESÁRIO, 2022; DUGAT-BONY *et al.*, 2016; SOUZA *et al.*, 2021; SANTOS, 2021).

Mounier *et al.* (2006) em estudo sobre a população fúngica na superfície de queijos maturados, observou baixa proporção de espécies como *D. catenulata* (*Candida catenulata*) e *C. intermedia* em comparação com os demais gêneros, sendo comumente encontradas no ar das câmaras de maturação e na pele de produtores de queijos.

Em seu trabalho sobre a micobiota de queijos artesanais produzidos na região da Canastra, Martin *et al.* (2023) verificaram que os gêneros *Kluyveromyces*, *Torulaspora* e *Trichosporon* estavam presentes em todas as propriedades produtoras de QMA, sendo consideradas como uma micobiota *core* do QMA da Canastra. Dessa forma, a presença desses microrganismos em todas as amostras de queijos provenientes das cidades que compõem a microrregião da Canastra propõe que estes gêneros fúngicos têm grande importância na identidade desses queijos.

Penna *et al.* (2021) enfatizam que *K. lactis* e *T. delbrueckii* são conhecidos por estarem envolvidos na fermentação da lactose e podem ser responsáveis pela produção de etanol e diversos compostos voláteis aromáticos importantes para o aroma e sabor do queijo. *K. ohmeri* identificada em amostras de Queijo Minas Artesanal do Serro foi associada à produção de enzimas responsáveis pela metabolização de lipídeos e proteínas, importantes pela formação das características típicas do queijo (CARDOSO *et al.*, 2015).

Espécies de fungos filamentosos advindos do ambiente da queijaria, têm como obstáculo para crescer e se desenvolver na superfície dos queijos, a composição bioquímica do produto e também o controle biológico que outras espécies microbianas podem exercer nos queijos (VACHEYROU *et al.*, 2011).

Por outro lado, Papadimitriou, Pot e Tsakalidou (2015), afirmam que fungos filamentosos autóctones têm a capacidade de se adaptar em diversos nichos alimentares e encontram um ambiente perfeito no queijo, onde desenvolvem estratégias de adaptação, bem como a capacidade de controlar o desenvolvimento de fungos toxigênicos como agentes de biocontrole. Sipiczki e Hrabovszki (2023) relataram a ação antagonista de *G. candidum* sobre o crescimento de hifas e sobre a esporulação de espécies fúngicas indesejáveis na superfície de queijos, atuando como agente bioprotetor.

Portanto, o crescimento descontrolado de fungos na superfície de queijos deve ser visto com atenção, sendo importante favorecer a seleção natural de estirpes não toxigênicas que garantam a segurança microbiológica do produto (ARAGÃO, 2018).

3.2 Leveduras identificadas no interior dos queijos

Para as amostras do interior dos queijos analisados foram isolados, no total, 57 leveduras e destas foi possível identificar 27 leveduras. As populações médias totais das espécies fúngicas encontradas, de acordo com os meios de cultura analisados, estão descritas na Tabela 9.

Tabela 9 - População média total de espécies fúngicas do interior dos queijos avaliada nos meios de cultivo DRBC e YEPG em UFC por grama (UFC/g)

Amostra	População média total	
	YEPG	DRBC
A1m	68 x 10 ⁵ UFC/g	70 x 10 ⁵ UFC/g
A2m	7 x 10 ⁵ UFC/g	12 x 10 ⁵ UFC/g
A3m	34 x 10 ³ UFC/g	38 x 10 ⁵ UFC/g
A4m	12 x 10 ⁵ UFC/g	20 x 10 ⁵ UFC/g
A5m	38 x 10 ⁸ UFC/g	35 x 10 ⁸ UFC/g
A6m	6 x 10 ⁵ UFC/g	8 x 10 ⁵ UFC/g

Legenda: “A” identifica as amostras de queijo; “m” identifica as subamostras do interior ou massa do queijo (*mass*).

Fonte: Da autora (2023).

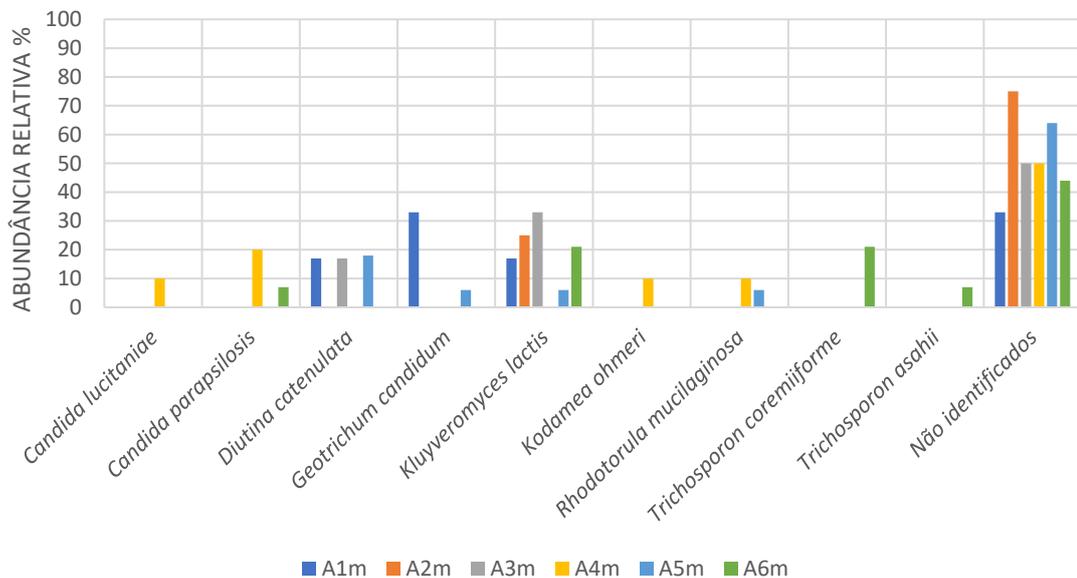
A maior população média total encontrada no interior dos queijos foi correspondente à amostra A5m, com 38 x 10⁸ UFC/g no meio YEPG e 35 x 10⁸ UFC/g no meio DRBC. Os menores valores de UFC/g foram das amostras A3m no meio YEPG (34 x 10³ UFC/g) e da amostra A6m (8 x 10⁵ UFC/g) no meio DRBC.

As espécies identificadas estão dispostas no Gráfico 11, de acordo com a abundância relativa de cada espécie presente nas amostras do interior.

As amostras A4m, A5m e A6m foram as amostras do interior dos queijos com maior diversidade de leveduras. A levedura *Kluyveromyces lactis* foi prevalente em cinco das seis amostras do interior dos queijos (A1m: 17%, A2m: 25%, A3m: 33%, A5m: 6% e A6m: 21%). *Diutina catenulata* apresentou abundância relativa de 17% (A1m e A3m) e 18% (A5m). *Candida parapsilosis* esteve presente nas amostras A2m e A6m, com 20% e 7% de abundância,

respectivamente. O fungo leveduriforme *Geotrichum candidum* esteve presente em duas das amostras analisadas (A1m: 33% e A5m: 6%). *Rhodotorula mucilaginosa* foi identificada nas amostras A4m (10%) e A5m (6%). Espécies abundantes em apenas uma das seis amostras do interior dos queijos foram: *Candida lucitaniae* (A4m: 10%), *Kodamaea ohmeri* (A4m: 10%) e *Trichosporon coremiiforme* (A6m: 21%). Não foram identificadas 53% do total de leveduras isoladas das seis amostras.

Gráfico 11 - Abundância relativa de leveduras presentes no interior dos queijos.



Legenda: “A” identifica as amostras de queijo; “m” identifica as subamostras do interior ou massa do queijo (*mass*).

Fonte: Da autora (2023).

Silva (2020) relata que, devido à sua baixa frequência entre os queijos das diferentes propriedades, talvez *Candida* spp. não desempenhe um papel fundamental para a maturação do queijo em si, mas possivelmente para manter o equilíbrio entre os demais integrantes da comunidade. Entretanto, a baixa prevalência deste gênero nas amostras do interior dos queijos analisadas pode ser em função do método utilizado neste estudo, que depende de células viáveis para de cultivo e identificação.

Apesar de apresentar baixa abundância relativa, o gênero *Candida* foi encontrado nos queijos de quase todas as propriedades analisadas. Segundo Borelli *et al.* (2006), no Brasil, entre as leveduras mais identificadas por técnicas dependentes de cultivo em queijos Canastra, após o quinto dia de maturação está *Candida catenulata* (*Diutina catenulata*).

Outras espécies encontradas neste estudo que também já foram identificadas em produtos lácteos e queijos maturados são *C. parapsilosis*, *C. lucitaniae*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Trichosporon coremiiforme* (BINTSIS; PAPADEMÁS, 2002; BIOLCATI *et al.*, 2020; CARDOSO *et al.*, 2015; CEUGNIEZ *et al.*, 2017; LOPANDIC *et al.*, 2006; ROOSTITA; FLEET, 1996).

T. coremiiforme por sua vez não é associada a alimentos, sendo encontrada principalmente no solo. A presença desta, apesar de ter sido encontrada em apenas uma das seis amostras requer atenção, devido à alta probabilidade de patogenicidade em humanos (MIDDELHOVEN *et al.*, 2003). Segundo Cardoso *et al.* (2015) a presença de *Trichosporon* spp. e *R. mucilaginosa* em baixa prevalência pode indicar uma contaminação transitória dos queijos Minas artesanais.

Sabe-se que os fungos filamentosos desempenham um papel na maturação de vários queijos, por exemplo, Roquefort, Brie, Camembert e Gorgonzola. No caso dos queijos produzidos de forma artesanal isso não é diferente. A microbiota autóctone representa uma fonte de vários metabólitos e enzimas (principalmente proteolíticas e lipolíticas) que desempenham um papel importante durante o amadurecimento e maturação e conferem uma assinatura aromática peculiar aos produtos finais (FERROCINO; RANTSIOU; COCOLIN, 2022).

Como observado no Gráfico 11, *Geotrichum candidum* demonstrou abundância relativa significativa nas amostras A1m e A5m. Este fungo leveduriforme está naturalmente presente no leite cru, mas também pode ser encontrado em outros ambientes como solo, plantas e frutas. É frequentemente adicionado como cultura inicial para a produção de queijos maturados com fungos como Camembert e Brie, pois confere textura enrugada na superfície dos queijos durante o processo de maturação e contribui para o desenvolvimento de aroma e sabor, devido à produção de enzimas (GOBBETTI *et al.*, 2015; PENLAND *et al.*, 2021). As proteases produzidas por esta espécie são capazes de metabolizar peptídeos de cadeia média e diminuir o sabor amargo resultante da ação do fungo *Penicillium camemberti* em queijos macios e semiduros (MARCELLINO *et al.*, 2001).

3.3 Preservação das leveduras em Coleção de Cultura de Microrganismos

As leveduras isoladas e identificadas foram preservadas por congelamento progressivo (inicial: -18 °C, final: -80 °C) e depositadas na Coleção de Cultura de Microrganismos, da Unidade de Recursos Microbiológicos da Universidade Federal de Lavras (URMICRO – UFLA).

Para isto, foi selecionado um representante de cada espécie e atribuídos códigos de identificação. Este processo tem a finalidade de preservação e manutenção destes microrganismos em bancos de dados e sua disponibilização para pesquisas futuras, a fim de se explorar ao máximo o potencial biotecnológico de cada espécie de leveduras. Na tabela 10 estão os códigos de identificação das espécies preservadas.

Tabela 10 - Espécies de leveduras isoladas da casca e do interior do QMA da Canastra e preservadas em Coleção de Cultura de Microrganismos.

Espécie	Código
<i>Diutina catenulata</i>	URMICRO2002
<i>Candida intermedia</i>	URMICRO2009
<i>Candida lucitaniae</i>	URMICRO2011
<i>Candida parapsilosis</i>	URMICRO2006
<i>Geotrichum candidum</i>	URMICRO2003
<i>Kluyveromyces lactis</i>	URMICRO2001
<i>Kodamaea ohmeri</i>	URMICRO2007
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	URMICRO2005
<i>Torulaspora delbrueckii</i>	URMICRO2008
<i>Trichosporon asahii</i>	URMICRO2012
<i>Trichosporon coremiiforme</i>	URMICRO2010
<i>Trichosporon japonicum</i>	URMICRO2004

Fonte: Da autora (2023).

3.4 Correlação entre as espécies identificadas e os aspectos físico-químicos

Na Tabela 11 dispõe-se os valores dos aspectos físico-químicos avaliados em triplicata, nas amostras de casca e do interior dos queijos analisados.

Não houve diferença estatística entre as amostras de casca dos queijos para os valores de pH, que variaram de 5.3 (A3r) a 6.3 (A1r). Para o interior, observa-se semelhança estatística entre as amostras A1m, A3m e A5m ($p > 0,05$) e também entre as amostras A2m e A4m. A amostra A6m foi diferente estatisticamente de todas as amostras. Os valores encontrados variaram de 5.1 (A6m) a 5.5 (A2m e A4m). Valores de pH entre 4.8 e 5.2 pode favorecer reações físico-químicas e microbiológicas no queijo (COSTA JÚNIOR *et al.*, 2014). Apenas as amostras A2m e A6m do interior dos queijos apresentaram valores de pH nesta faixa.

Tabela 11 - Aspectos físico-químicos das amostras da superfície e do interior dos Queijos.

Amostra	Aspectos físico-químicos				
	pH	Umidade (%)	GES (%)	Proteínas (%)	Cinzas (%)
A1r	6.3 ± 0,0 a	43,1 ± 1,1 c	69,5 ± 0,0 b	25,7 ± 0,6 g	5,0 ± 0,1 d
A2r	5.7 ± 0,6 a	37,0 ± 0,4 a	47,7 ± 0,0 c	27,0 ± 0,4 c	4,1 ± 0,5 c
A3r	5.6 ± 0,1 a	36,7 ± 2,1 a	45,7 ± 0,0 f	19,9 ± 0,2 a	1,9 ± 0,1 a
A4r	6.0 ± 0,1 a	36,4 ± 0,5 a	52,6 ± 0,0 d	24,3 ± 0,0 b	2,8 ± 0,1 b
A5r	6.2 ± 1,3 a	44,1 ± 1,0 c	65,1 ± 0,0 e	24,8 ± 0,4 d	4,2 ± 0,3 c
A6r	6.2 ± 0,0 a	39,2 ± 0,6 b	42,1 ± 0,0 a	25,6 ± 0,2 g	4,7 ± 0,0 d
A1m	5.3 ± 0,0 ab	47,0 ± 0,4 c	60,3 ± 0,0 b	23,8 ± 0,9 b	3,6 ± 0,4 c
A2m	5.5 ± 0,0 b	45,8 ± 2,1 c	62,8 ± 0,0 d	24,3 ± 0,7 bc	4,1 ± 0,6 c
A3m	5.2 ± 0,2 ab	37,0 ± 2,1 a	39,6 ± 0,0 e	21,2 ± 0,4 a	1,6 ± 0,1 a
A4m	5.5 ± 0,0 b	42,4 ± 1,4 c	51,6 ± 0,0 f	20,5 ± 0,4 a	5,4 ± 0,0 d
A5m	5.3 ± 0,4 ab	51,4 ± 0,5 d	44,9 ± 0,0 a	20,4 ± 0,4 a	3,4 ± 0,4 c
A6m	5.1 ± 0,1 a	48,7 ± 2,8 cd	62,3 ± 0,0 c	25,4 ± 0,9 c	2,7 ± 0,5 b

Letras diferentes na mesma coluna mostram diferença estatística significativa ($p < 0,05$). Legenda: “A” identifica as amostras de queijo; “r” identifica as subamostras da casca (*rind*); “m” identifica as subamostras do interior ou massa do queijo (*mass*); GES: Gordura no Extrato Seco.

Fonte: Da autora (2023).

Os valores de pH da superfície dos queijos foram maiores que nas amostras do interior. Valores semelhantes aos das amostras da casca foram encontrados para o queijo Minas artesanal da microrregião de Araxá, aos 15 dias de maturação e, para o interior, nos queijos da Canastra e do Serro (ARAGÃO, 2018; ARAGÃO *et al.*, 2022; CESARIO, 2022).

Algumas espécies como *T. japonicum*, *T. delbrueckii* e *C. intermedia* só foram encontradas na superfície dos queijos (A1r, A4r e A5r), sugerindo uma maior afinidade por ambientes com pH mais elevado ($\geq 6,0$) e maior percentual de gorduras ($\geq 52,6\%$). Sabe-se que estas espécies são capazes de produzir enzimas lipolíticas (*T. japonicum*) e alcalinizar o meio devido a assimilação do lactato (*C. intermedia*), sendo esta uma importante característica na fabricação de queijos, pois estimula a atividade proteolítica das bactérias (PEREIRA-DIAS *et al.*, 2000; MIRANDA *et al.*, 2023). Nas amostras de casca dos queijos não houve diferença estatística para os valores de pH.

Para o teor de umidade da superfície, as amostras A2r, A3r e A4r apresentaram semelhança entre si. Mesma semelhança foi encontrada entre as amostras A1r e A5r, sendo a

amostra A6r diferente de todas as amostras estatisticamente. Os percentuais de umidade na casca variaram entre 36,4% (A4r) a 44,1% (A5r). No interior a variação do teor de umidade foi de 37,0% a 51,4%, nas amostras A3m e A5m, respectivamente. Semelhança estatística foi observada nas amostras A1m, A2m, A4m e A6m, sendo as amostras A3m e A5m diferente estatisticamente de todas as amostras.

De modo geral é esperado que a casca apresente um teor de umidade menor que o interior dos queijos devido à perda de água para o ambiente durante a maturação, o que foi observado nas amostras analisadas. As amostras foram classificadas de acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos – RTIQ como queijos de média umidade ou massa semidura (todas as amostras da casca, A2m, A3m e A4m do interior) e queijos de alta umidade ou massa branda (A1m, A5m e A6m) (BRASIL, 1996).

De acordo com Decreto nº 44.864, de 1 de agosto de 2008, que dispõe sobre o processo de produção de Queijo Minas Artesanal, é estabelecido um teor máximo de umidade de 49,5% (MINAS GERAIS, 2008). Apenas o interior de uma das amostras de queijo (A5m) não cumpriu este parâmetro.

Queijos curados habitualmente apresentam menores valores de umidade (SALES, 2015). Este dado pode indicar falhas no controle da umidade do ambiente de maturação da queijaria, já que a legislação estabelece que na Canastra os queijos devem ser maturados por no mínimo 14 dias e as amostras analisadas tinham 15 dias de maturação (IMA, 2021). Nos queijos, a umidade tem relação com o tipo de prensagem e de salga, sendo de difícil controle sua manutenção já que o queijo é feito de maneira artesanal (IDE; BENEDET, 2002; OLIVEIRA, 2013).

Alguns dos principais fatores que influenciam mudanças na dinâmica populacional dos queijos são a localização geográfica, umidade e acidez (SANT'ANNA, 2019; OLIVEIRA, 2013). A presença de espécies como *D. catenulata* (*Candida catenulata*) e *R. mucilaginoso* foi associada à estação chuvosa por Cardoso *et al.* (2015). Uma correlação parecida é observada pela presença destas (amostras A1m e A4m) e também de *G. candidum* nas amostras A1m e A5m, do interior do queijo, indicando uma maior preferência destas espécies por ambientes mais úmidos (WOLFE *et al.*, 2014).

Os teores de gordura no extrato seco (GES) da superfície e do interior variaram estatisticamente entre si em todas as amostras ($p < 0,05$). Valores de 42,1% (A6r) a 69,5% (A1r) para a casca e 39,6% (A3m) a 62,8% (A2m) para o interior foram encontrados. As amostras de queijos foram então classificadas como semi-gordos (Ar6: 42,1%; A3m: 39,6%; A5m: 44,9%), gordos (A2r: 47,7% A3r: 45,7%; A4r: 52,6%; A4m: 51,6%) e extra gordo ou duplo creme (A1r:

69,5%; A5r: 65,1%; A1m: 60,3%; A2m: 62,8%; A6m: 62,3%) (BRASIL, 1996). A gordura é um dos fatores que mais sofre variações, pois sofre influência da raça do animal, da alimentação, período de lactação e da produção de leite, entre outros, contribuindo positivamente para a agregação de características sensoriais desejáveis no queijo (SANTIS, 2016; CESARIO, 2022).

Segundo Sipiczki e Hrabovszki (2023) *G. candidum* é mais abundante em queijos com maior percentual de gordura e isto pode ser atribuído à sua capacidade de metabolizar lipídeos e pelo rápido crescimento de suas hifas. Neste estudo, *G. candidum* foi encontrado na amostra A1m do interior (queijo extra gordo) e na A2r da superfície (queijo gordo). A amostra A5r, também considerado queijo extra gordo, apresentou grande diversidade de leveduras e, entre elas, espécies conhecidas pela sua produção de enzimas lipolíticas. No interior dos queijos, *Kluyveromyces lactis* esteve presente nas amostras de queijos consideradas extra gordos (A1m, A2 e A6m) e também na amostra A3m (queijo gordo).

O percentual de proteínas totais da superfície dos queijos diferiu estatisticamente em quase todas as amostras, exceto nas amostras A1r e A6r, variando entre 19,9% (A3r) a 27% (A2r). Para o interior esta variação ficou entre 20,4% e 25,4%, nas amostras A5m e A6m, respectivamente. Semelhança estatística foi encontrada entre as amostras A3m, A4m e A5m, sendo o restante das amostras diferente estatisticamente entre si.

Em outros estudos, encontrou-se valores médios de proteínas em queijo Minas artesanal da Canastra de 23,5% e 24,4% e do Serro 26,3%, sendo este último aos 15 dias de maturação, corroborando com o atual estudo (FIGUEIREDO, 2018; RESENDE *et al.*, 2011). De modo geral, apesar da diferença estatística significativa entre amostras, o teor de proteínas da casca e do interior dos queijos foi bastante semelhante, não sendo possível correlacionar com as espécies identificadas.

Por fim, o percentual de cinzas, do mesmo modo que o teor de proteínas da casca dos queijos, não diferiu estatisticamente apenas nas amostras A1r e A6r ($p > 0,05$) e apresentou valores que variaram entre 1,9% (A3r) a 5% (A1r) ($p < 0,05$). A variação dos valores de cinzas encontrados no interior dos queijos ficou entre 1,6% (A3m) e 5,4% (A4m). Semelhança estatística foi observada entre as amostras A1m, A3m e A5m ($p > 0,05$), sendo o restante das amostras diferente estatisticamente entre si ($p < 0,05$).

Assim como o teor de gordura, diversos fatores podem influenciar o teor de cinzas no queijo. Dentre os mais relevantes destacam-se a composição de minerais do leite, o estado nutricional do animal, bem como o período do ano e de lactação, além do tempo de maturação, onde observa-se um aumento gradativo do teor de cinzas com o passar do tempo

(FIGUEIREDO, 2018; LEMPK, 2013; SOBRAL, 2012). Diferenças significativas foram identificadas entre as amostras, entretanto houve bastante semelhança entre o teor de cinza da superfície e do interior dos queijos.

4 CONCLUSÃO

Das espécies de leveduras características da microbiota *terroir* dos queijos analisados observou-se que *D. catenulata*, *K. lactis*, *K. ohmeri*, *T. coremiiforme* e *G. candidum*, foram encontradas tanto na casca quanto na superfície dos queijos analisados.

Entre as espécies que foram encontradas apenas na superfície estão as leveduras *C. intermedia*, *T. delbrueckii* e *T. japonicum*, associadas também às amostras com maiores valores de pH. Somente no interior das amostras foram encontradas as leveduras *C. lucitaniae*, *C. parapsilosis*, *T. asahii* e *R. mucilaginosa*, relacionadas à ambientes e estações mais úmidos. *G. candidum* e *K. lactis* foram relacionados aos queijos mais gordos.

Os resultados encontrados colaboram para o entendimento da composição química e micológica dos queijos da região. Além disso, a preservação dos isolados possibilita estudos futuros que possam contribuir para o conhecimento das dinâmicas entre as comunidades microbianas do queijo Minas artesanal da Canastra.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, R. P. *et al.* Yeasts from Canastra cheese production process: Isolation and evaluation of their potential for cheese whey fermentation. **Food Research International**, [United Kingdom], v. 91, p. 72-79, Jan. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28290329/>. Acesso em: 29 maio 2023.

ARAGÃO, M. O. P. **Diversidade de fungos filamentosos e leveduras em queijo Minas artesanal das Microrregiões do Serro e Serra da Canastra**. 2018. 118p. 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**, [India], v. 59, n. 12, p. 4685-4694, Dec. 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36276518/>. Acesso em: 26 out. 2023.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 18. ed. Washington, 2006.

BEMFEITO, R. M. *et al.* Temporal dominance of sensations sensory profile and drivers of liking of artisanal Minas cheese produced in the region of Serra da Canastra, Brazil. **Journal of Dairy Science**, [United States], v. 99, n. 10, p. 7886-7897, Oct. 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030216304908>. Acesso em: 09 out. 2023.

BIOLCATI, F. *et al.* Microbial characterization of an artisanal production of Robiola di Roccaverano cheese. **Journal of Dairy Science**, [United States], v. 103, n. 5, p. 4056-4067, May 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030220301910>. Acesso em: 14 out. 2023.

BINTSIS, T. Yeasts in different types of cheese. **AIMS Microbiology**, [United States], v. 7, n. 4, p. 447-470, 2021. Disponível em: <https://www.aimspress.com/article/doi/10.3934/microbiol.2021027>. Acesso em: 22 out. 2023.

BINTSIS, T.; PAPADEMAS, P. Microbiological quality of white-brined cheeses: A review. **International Journal of Dairy Technology**, [United States], v. 55, n. 3, p. 113-120, Aug. 2002. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.1471-0307.2002.00054.x>. Acesso em: 29 out. 2023.

BORELLI, B. M. *et al.* Yeast populations associated with the artisanal cheese produced in the region of Serra da Canastra, Brazil. **World Journal Microbiology and Biotechnology**. [Netherlands], v. 22, p. 1115-1119. Apr. 2006. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11274-006-9151-3>. Acesso em: 17 maio 2023.

BRASIL. Portaria nº 146, de 7 de março de 1996. **Aprovar os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. Brasília, 1996**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 1996. Disponível em: <https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/portaria-mapa-146-de-07-03-1996,669.html>. Acesso em: 11 jun. 2023.

CARDOSO, V. *et al.* The influence of seasons and ripening time on yeast communities of a traditional Brazilian cheese. **Food Research International**, [United Kingdom], v. 69, p. 331-340, Mar. 2015. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996914008291>. Acesso em: 19 maio 2023.

CASALTA, E. *et al.* Diversity and dynamics of the microbial community during the manufacture of Calenzana, an artisanal Corsican cheese. **International Journal of Food Microbiology**, [Netherlands], v. 133, n. 3, p. 243-251, 2009. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19545924/>. Acesso em: 19 out. 2023.

CESARIO, B. I. R. **Sucessão microbiana no processo de maturação do Queijo Minas Artesanal produzido na região de Araxá-MG, com presença do mofo branco**. 2022. 74p. Dissertação (mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2022.

CEUGNIEZ, A. *et al.* Fungal diversity of “Tomme d'Orchies” cheese during the ripening process as revealed by a metagenomic study. **International Journal of Food Microbiology**, [Netherlands], v. 258, p. 89-93, Oct. 2017. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168160517303124>. Acesso em: 14 out. 2023.

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. Disponível em:

<https://www.revistadoilct.com.br/rilct/article/view/326/0>. Acesso em: 19 out. 2023.

DONNELLY, C.; KEHLER, M. **The Oxford Companion to Cheese**. United States: Oxford University Press, 2016. 872p.

DUGAT-BONY, E. *et al.* Highlighting the microbial diversity of 12 French cheese varieties. **International Journal of Food Microbiology**, [Netherlands], v. 238, p. 265-273, Dec. 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27710867/>. Acesso em: 22 nov. 2023.

ELISKASES-LECHNER, F.; GINZINGER, W. The yeast flora of surface-ripened cheeses. **Milchwissenschaft**, [Germany], v. 50, p. 458 - 462, 1995. Disponível em:

<https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19950404951>. Acesso em: 22 nov. 2023.

FADDA, M. E. *et al.* Occurrence and characterization of yeasts isolated from artisanal Fiore Sardo cheese. **International Journal of Food Microbiology**, [Netherlands], v. 95, n. 1, p. 51-59, Aug. 2004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15240074/>. Acesso em: 19 out. 2023.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, [Lavras], v. 38, n. 2, p. 109-112, Apr. 2014. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/cagro/a/yyWQQVwqNcH6kzf9qT9Jdhv/>. Acesso em: 06 maio 2023.

FERROCINO, I.; RANTSIOU, K.; COCOLIN, L. Microbiome and -omics application in Food Industry. **International Journal of Food Microbiology**, [Netherlands], v. 377,

p.109781, Sept. 2022. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168160522002537>. Acesso em: 19 out. 2023.

FIGUEIREDO, L. V. **Maturação e características de qualidade do Queijo Minas Artesanal do Serro - MG**. 2018. 67p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2018.

GOBBETTI, M. *et al.* Pros and cons for using non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) as secondary/adjunct starters for cheese ripening. **Trends in Food Science & Technology**, [United Kingdom], v. 45, n. 2, p. 167-178, Oct. 2015. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224415001831?via%3Dihub>. Acesso em: 22 out. 2023.

IDE, L. P. de A.; BENEDET, H. D. Contribution to the study of colonial cheese produced on highlands of Santa Catarina state, Brazil. **Ciência e Agrotecnologia**, [Lavras], v. 25, p. 1351-1358, 2002. Disponível em:

<https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20023075203>. Acesso em: 14 jul. 2023.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos: normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 4th ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020p.

IMA - INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria N° 2051, de 07 de abril de 2021. **Define o período de Maturação do Queijo Minas Artesanal produzido nas microrregiões de Araxá, Campo das Vertentes, Canastra, Cerrado, Serra do Salitre, Serro e Triângulo Mineiro**. Belo Horizonte, 07 de abril de 2021. Disponível em:

<http://ima.mg.gov.br/institucional/portarias/1819-portarias/1966-portarias-ano-2021>. Acesso em: 11 jun. 2023.

KAČÁNIOVÁ, M. *et al.* Diversity of microorganisms in the traditional slovak cheese.

Potravinárstvo, [Slovakia], v. 13, n. 1, p. 532-537, June 2019. Disponível em:

<https://potravinarstvo.com/journal1/index.php/potravinarstvo/article/view/1061>. Acesso em: 14 set. 2023.

KAMIMURA, B. A. *et al.* Brazilian artisanal cheeses: an overview of their characteristics, main types and regulatory aspects. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, [United States], v. 18, n. 5, p. 1636-1657, Sept. 2019. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33336917/>. Acesso em: 29 out. 2023.

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

LOPANDIC, K. *et al.* Identification of yeasts associated with milk products using traditional and molecular techniques. **Food Microbiology**, [United States], v. 23, n. 4, p. 341-350, June 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16943023/>. Acesso em: 19 maio 2023.

MARCELLINO, N. *et al.* Diversity of *Geotrichum candidum* strains isolated from traditional cheesemaking fabrications in France. **Applied and Environmental Microbiology**, [United

States], v. 67, n. 10, p. 4752-4759, Oct. 2001. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC93228/>. Acesso em: 06 nov. 2023.

MARTIN, J. G. P. *et al.* Seasonal variation in the Canastra cheese mycobiota. **Frontiers in Microbiology**, [Switzerland], v. 13, p. 5437, Feb. 2023. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2022.1076672/full>. Acesso em: 25 maio 2023.

MENESES, J. N. C. **Queijo Artesanal de Minas**. Patrimônio Cultural do Brasil – Dossiê interpretativo. Belo Horizonte: Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional – IPHAN, 2006. 156p.

MIDDELHOVEN, W. J. Identification of clinically relevant Trichosporon species. **Mycoses**, [United Kingdom], v. 46, n. 1-2, p. 7-11, Feb. 2003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12588476/>. Acesso em: 06 set. 2023.

MINAS GERAIS. Decreto nº 44.864, de 1 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**. Diário Oficial do Estado, 2008. Belo Horizonte. Disponível em: <https://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=141747>. Acesso em: 11 jun. 2023.

MIRANDA, N. M. Z. *et al.* Novel yeasts with potential probiotic characteristics isolated from the endogenous ferment of artisanal Minas cheese. **Brazilian Journal of Microbiology**, [São Paulo], v. 54, n. 2, p. 1021-1033, June 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37162703/>. Acesso em: 06 out. 2023.

MOUNIER, J. *et al.* Sources of the adventitious microflora of a smear-ripened cheese. **Journal of Applied Microbiology**, [United Kingdom], v. 101, n. 3, p. 668-681, Sept. 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16907817/>. Acesso em: 15 out. 2023.

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**, [Viçosa], v. 24, n. 2, p. 185-196, Oct. 2013. Disponível em: <https://periodicos.ufv.br/oikos/article/view/3679>. Acesso em: 22 jul. 2023.

OLIVEIRA, M. M. E. *et al.* Development and optimization of a new MALDI-TOF protocol for identification of the *Sporothrix* species complex. **Research in Microbiology**, [France], v. 166, n. 2, p. 102-110, Feb./Mar. 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25561427/>. Acesso em: 06 nov. 2023.

PAPADIMITRIOU, K.; POT, B.; TSAKALIDOU, E. How microbes adapt to a diversity of food niches. **Current Opinion in Food Science**, [Netherlands], v. 2, p. 29-35, Apr. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2214799315000375?via%3Dihub>. Acesso em: 02 out. 2023.

PENLAND, M. *et al.* Linking Pélardon artisanal goat cheese microbial communities to aroma compounds during cheese-making and ripening. **International Journal of Food Microbiology**, [Netherlands], v. 345, p. 109130, May 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33735781/>. Acesso em: 02 out. 2023.

PENNA, A. L. B., GIGANTE, M. L., TODOROV, S. D. Artisanal Brazilian Cheeses—History, Marketing, Technological and Microbiological Aspects. **Foods**, [Switzerland], v. 10, n. 7, p. 1562, July 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/10/7/1562>. Acesso em: 19 out. 2023.

PEREIRA-DIAS, S. *et al.* Characterisation of yeast flora isolated from an artisanal Portuguese ewes' cheese. **International Journal of Food Microbiology**, [Netherlands], v. 60, n. 1, p. 55-63, Sept. 2000. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11014522/>. Acesso em: 29 maio 2023.

PINEDA, A. P. A. *et al.* Brazilian artisanal cheeses: diversity, microbiological safety, and challenges for the sector. **Frontiers in Microbiology**, [Switzerland], v. 12, p. 732, Apr. 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33959118/>. Acesso em: 22 out. 2023.

RESENDE, M. F. S. *et al.* Queijo de minas artesanal da Serra da Canastra: influência da altitude das queijarias nas populações de bactérias ácido lácticas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [Belo Horizonte], v. 63, p. 1567-1573, dez. 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/QvV468RTqd6HNcdxN3LjvSK/>. Acesso em: 14 set. 2023.

RESENDE, L. V. *et al.* Microbial community and physicochemical dynamics during the production of “Chicha”, a traditional beverage of Indigenous people of Brazil. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, [Netherlands], v. 34, n. 3, p. 46, Mar. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29520720/>. Acesso em: 02 out. 2023.

ROOSTITA, R.; FLEET, G. H. The occurrence and growth of yeasts in Camembert and blue-veined cheeses. **International Journal of Food Microbiology**, [Netherlands], v. 28, n. 3, p. 393-404, Jan. 1996. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8652347/>. Acesso em: 28 jul. 2023.

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. 107p. Dissertação (mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.

SANT'ANNA, F. M. *et al.* Microbial shifts in Minas artisanal cheeses from the Serra do Salitre region of Minas Gerais, Brazil throughout ripening time. **Food Microbiology**, [United States], v. 82, p. 349-362, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31027793/>. Acesso em: 02 out. 2023.

SANTIS, V. B. G. **Queijo Minas padrão com baixo teor de sódio e gordura: caracterização físico-química e sensorial.** 2016. 68p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2016.

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.

SILVA, J. M. M. **Micobiota core de queijos de leite cru produzidos na região da Serra da Canastra**. 2020. 63p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2020.

SIPICZKI, M.; HRABOVSKI, V. Galactomyces candidus diversity in the complex mycobiota of cow-milk bryndza cheese comprising antagonistic and sensitive strains. **International Journal of Food Microbiology**, [Netherlands], v. 388, p. 110088, Mar. 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36689829/>. Acesso em: 21 jul. 2023.

SOBRAL, D. **Efeito da Nisina na contagem de Staphylococcus aureus e nas características do queijo Minas artesanal da região de Araxá**. 2012. 117p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2012.

SOUZA, T. P. *et al.* Mycobiota of Minas artisanal cheese: Safety and quality. **International Dairy Journal**, [Netherlands], v. 120, 105085, Sept. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0958694621001138?via%3Dihub>. Acesso em: 22 out. 2023.

TURBES, G. *et al.* Evidence of terroir in milk sourcing and its influence on Cheddar cheese. **Journal of Dairy Science**, [United States], v. 99, n. 7, p. 5093-5103, July 2016. Disponível em: [https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(16\)30162-X/fulltext](https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(16)30162-X/fulltext). Acesso em: 19 set. 2023.

VACHEYROU, M. *et al.* Cultivable microbial communities in raw cow milk and potential transfers from stables of sixteen French farms. **International Journal of Food Microbiology**, [Netherlands], v. 146, n. 3, p. 253-262, Apr. 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21429612/>. Acesso em 23 out. 2023.

WOLFE, B. E. *et al.* Cheese rind communities provide tractable systems for in situ and in vitro studies of microbial diversity. **Cell**, [United States], v. 158, n. 2, p. 422–433, July 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25036636/>. Acesso em: 19 maio 2023.

TERCEIRA PARTE

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A investigação por método independente de cultivo mostrou que as espécies fúngicas mais prevalentes na casca e no interior do queijo Minas artesanal da Canastra foram *Geotrichum candidum*, *Diutina catenulata* e *Candida intermedia*. Entre as bactérias, a superfície apresentou maior diversidade de gêneros e espécies, como *Lactococcus* sp., *Brevibacterium* sp., *Corynebacterium variabile* e *Staphylococcus* sp. Por outro lado, *Lactococcus* sp., *Streptococcus salivarius* e espécies não identificadas do gênero *Streptococcus* prevaleceram no interior dos queijos.

Diferenças entre a prevalência de espécies se destacaram. Nas amostras com maior abundância de *G. candidum* e *Lactococcus* spp. notou-se menor prevalência de *D. catenulata* e *C. variabile*, respectivamente, sugerindo que a composição do meio pode ter favorecido a sobrevida de algumas espécies.

Das espécies de leveduras, características da microbiota *terroir* dos queijos, analisadas por métodos dependentes de cultivo, observou-se que *D. catenulata*, *K. lactis*, *K. ohmeri*, *T. coremiiforme* e *G. candidum*, foram isoladas tanto da casca quanto da superfície. Algumas espécies foram encontradas apenas na superfície: *C. intermedia*, *T. delbrueckii* e *T. japonicum*; e outras somente no interior dos queijos: *C. lucitaniae*, *C. parapsilosis*, *T. asahii* e *R. mucilaginosa*.

Diferenças entre a prevalência de espécies, comparando-se os métodos de identificação utilizados, foram observadas. Importante salientar que o método independente de cultivo é capaz de identificar por fragmentos de DNA todas as células microbianas, inclusive as não viáveis.

Os aspectos físico-químicos das amostras, como umidade, gorduras, proteínas, pH e cinzas também foram avaliados e correlacionados com a microbiota identificada. *C. intermedia*, *T. delbrueckii* e *T. japonicum* foram associadas às amostras com maiores valores de pH, enquanto *C. lucitaniae*, *C. parapsilosis*, *T. asahii* e *R. mucilaginosa*, relacionadas à ambientes e estações mais úmidos. *G. candidum* e *K. lactis* foram associados aos queijos mais gordos.

Os microrganismos têm papel essencial na maturação do queijo, modificando as características do produto. Juntamente com as técnicas tradicionais e seculares de feitiço, o ambiente, os animais, os produtores, o clima, a sazonalidade e todos os outros aspectos relacionados ao queijo, a microbiota *terroir* colabora para a formação de sua singularidade.

A diversidade de microrganismos encontrados nos queijos de leite cru advém do ambiente, dos utensílios, dos manipuladores e de diversos outros pontos da produção. Conhecer

esta microbiota endógena tão particular do Queijo Minas Artesanal é de grande importância, visto que, por meio dela, podemos entender mais sobre as dinâmicas microbianas e determinar processos de qualidade adaptados para a realidade rudimentar da produção.

Além disso, a utilização de diferentes métodos de identificação permitiu traçar um perfil da microbiota total e o isolamento da microbiota cultivável para pesquisas futuras.

APÊNDICES

Apêndice A – Índices de diversidade

1 Diversidade alfa

Tabela 1 - Números de UTOs, características observadas, índice de Shannon e diversidade filogenética de Faith (Faith PD).

Amostra	Região ITS				Região 16S			
	UTOs	Características observadas	Índice de Shannon	Faith PD	UTOs	Características observadas	Índice de Shannon	Faith PD
A1r	42.547	6.0	1.4	2.27	14.598	57.5	2.863	5.471
A1m	37.172	7.8	1.1	2.35	33.514	26.3	1.102	4.249
A2r	70.571	9.5	1.3	2.18	10.152	56.0	3.742	5.764
A2m	31.753	13.3	1.2	3.19	21.721	29.6	1.419	1.820
A3r	14.794	5.9	0.6	2.74	23.000	50.2	2.076	2.768
A3m	8.396	17.0	1.9	4.90	29.278	39.0	0.819	2.203
A4r	21.310	7.9	0.8	2.93	5.641	27.0	1.952	3.876
A4m	11.369	13.7	1.5	3.39	34.455	50.7	1.251	3.242
A5r	54.321	7.1	0.3	2.51	19.810	55.2	2.745	5.824
A5m	55.132	8.9	0.5	2.77	31.296	32.5	0.963	4.382
A6r	79.964	10.0	2.0	2.91	24.752	47.1	1.668	4.837
A6m	70.139	10.3	2.1	2.98	29.498	20.7	0.454	4.479

2 Diversidade beta

Figura 1 - UniFrac ponderado 16S (A) e ITS (B).

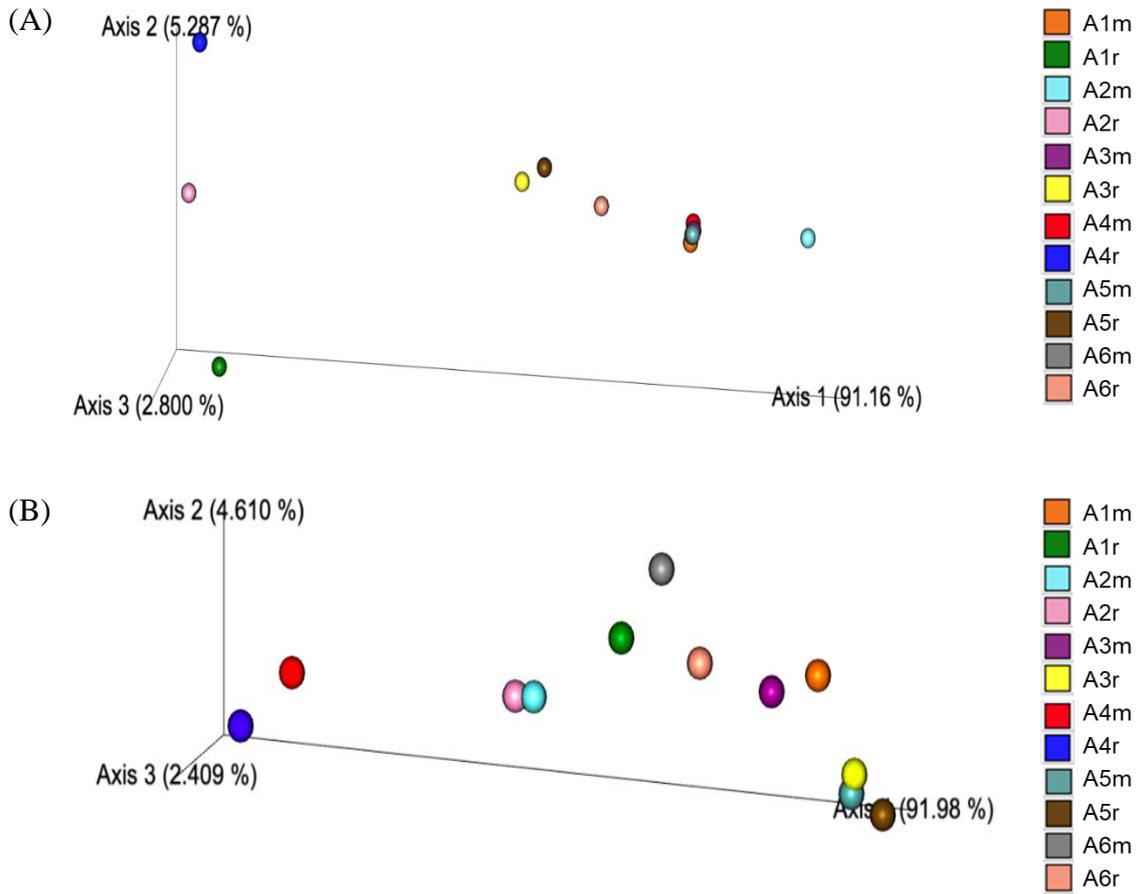
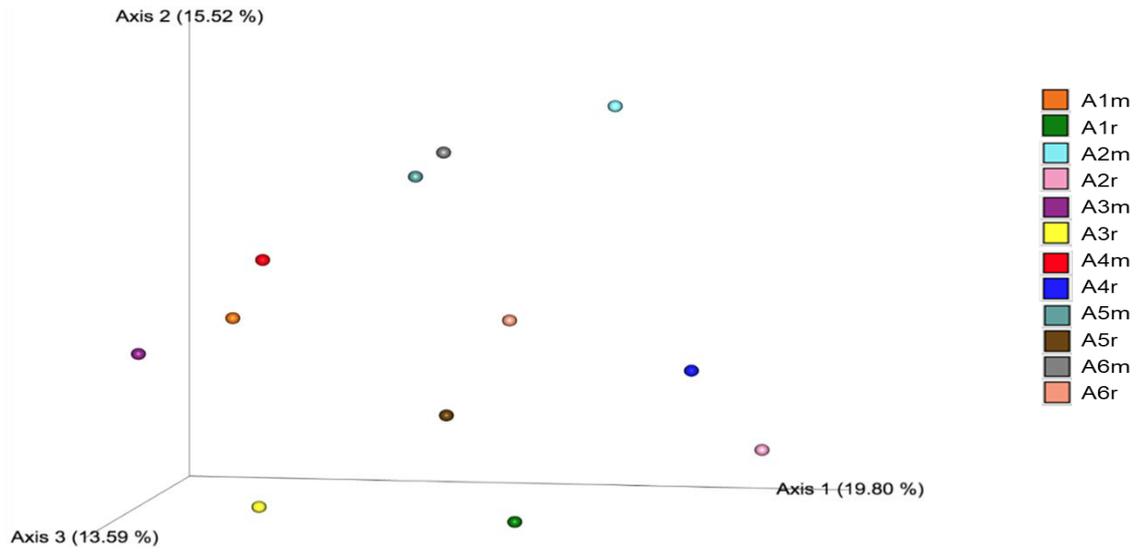


Figura 2 - Jaccard 16S (A) e ITS (B).

(A)



(B)

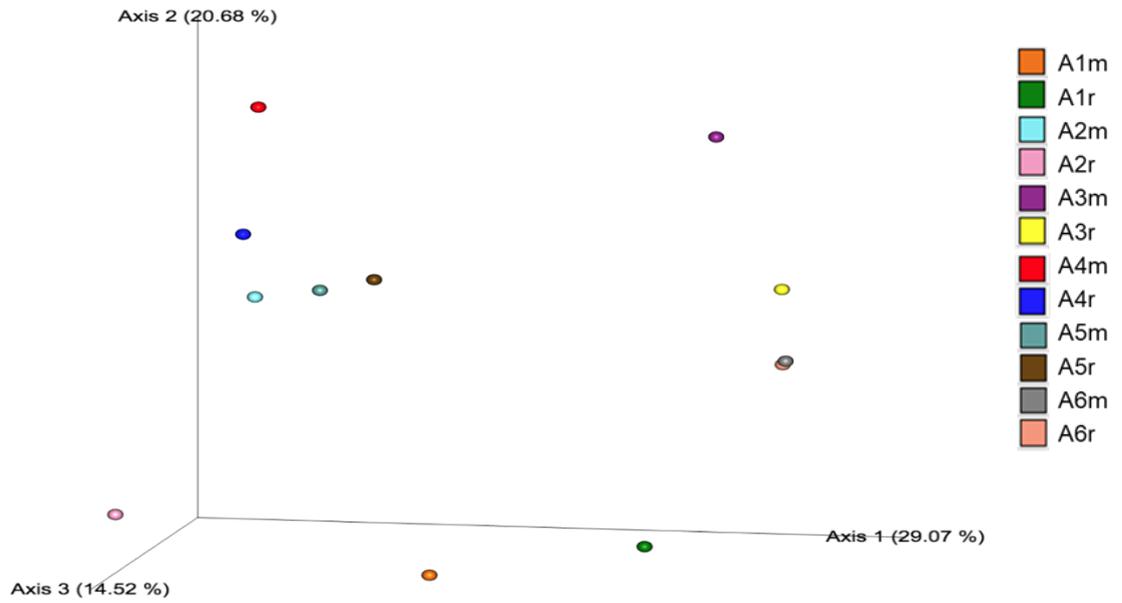
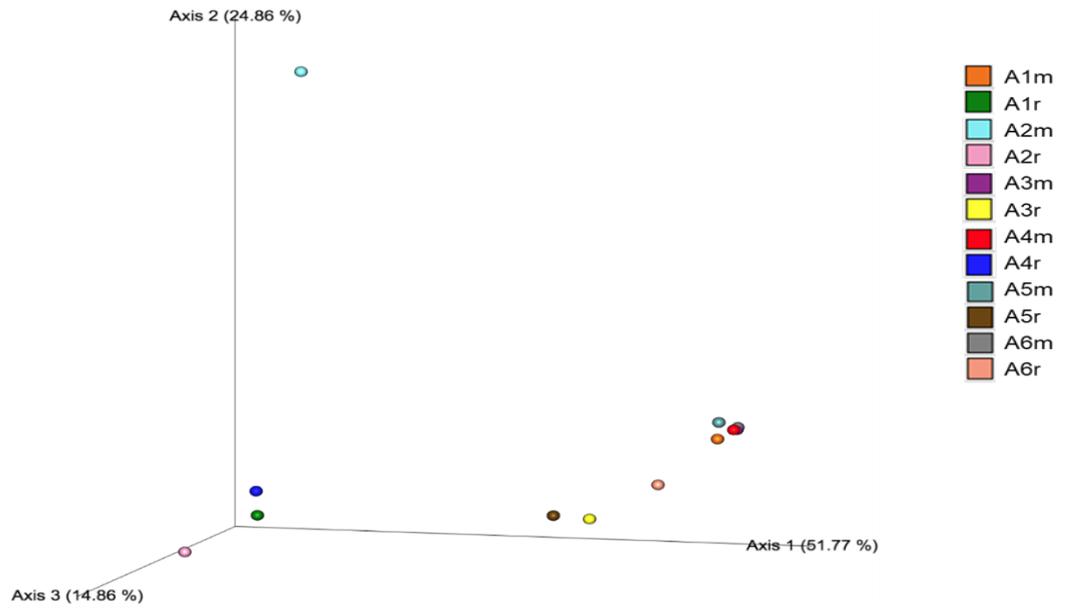
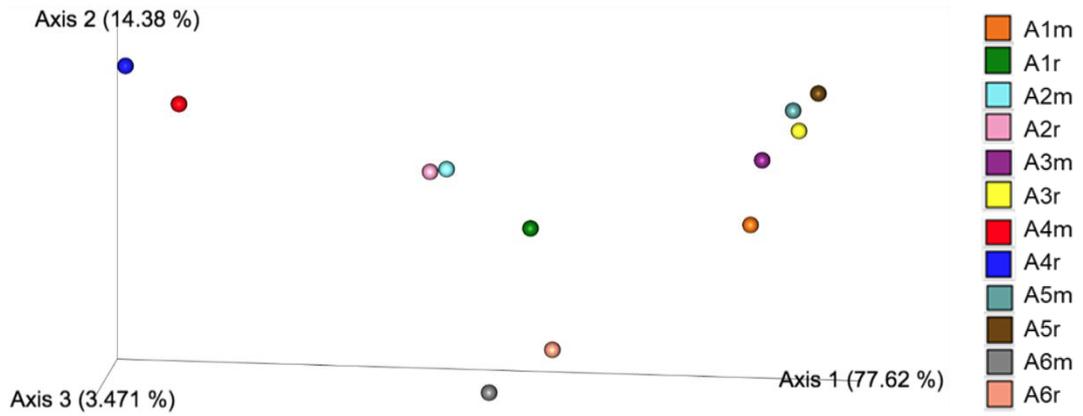


Figura 3 - Bray-curtis 16S (A) e ITS (B).

(A)



(B)



Apêndice B – Lista de microrganismos identificados.

Tabela 2 - Microbiota *terroir* do Queijo Minas Artesanal, avaliada por método independente de cultivo, da microrregião da Canastra, Minas Gerais, Brasil (Ano de 2021) (continua).

Microrganismo	Amostra	Cidade	UTOs
<i>Acinetobacter ursingii</i>	A4m	São Roque de Minas	62
<i>Acinetobacter guillouiae</i>	A4m	São Roque de Minas	16
<i>Acremonium citrinum</i>	A6m	São Roque de Minas	9
<i>Acremonium hennebertii</i>	A2m	Medeiros	7
<i>Advenella</i>	A2r	Medeiros	11
<i>Apiotrichum domesticum</i>	A3m	São Roque de Minas	25
<i>Bavariicoccus seileri</i>	A1r	São Roque de Minas	34
<i>Bavariicoccus seileri</i>	A2r	Medeiros	76
<i>Bavariicoccus seileri</i>	A5r	Medeiros	2
<i>Bavariicoccus seileri</i>	A6r	São Roque de Minas	7
<i>Bifidobacterium</i>	A3m	São Roque de Minas	3
<i>Brachybacterium</i>	A1r	São Roque de Minas	249
<i>Brachybacterium</i>	A2r	Medeiros	19
<i>Brevibacterium</i>	A1r	São Roque de Minas	8.913
<i>Brevibacterium</i>	A2r	Medeiros	2.528
<i>Brevibacterium</i>	A3r	São Roque de Minas	224
<i>Brevibacterium</i>	A4r	São Roque de Minas	252
<i>Brevibacterium</i>	A5r	Medeiros	107
<i>Diutina catenulata</i>	A1m	São Roque de Minas	4.606
<i>Diutina catenulata</i>	A1r	São Roque de Minas	16.674
<i>Diutina catenulata</i>	A2m	Medeiros	16.956
<i>Diutina catenulata</i>	A2r	Medeiros	39.479
<i>Diutina catenulata</i>	A3m	São Roque de Minas	820
<i>Diutina catenulata</i>	A3r	São Roque de Minas	1.000
<i>Diutina catenulata</i>	A4m	São Roque de Minas	8.601
<i>Diutina catenulata</i>	A4r	São Roque de Minas	19.847
<i>Diutina catenulata</i>	A5m	Medeiros	3.900
<i>Diutina catenulata</i>	A5r	Medeiros	1.296
<i>Diutina catenulata</i>	A6m	São Roque de Minas	23.088

Tabela 2 - Microbiota *terroir* do Queijo Minas Artesanal, avaliada por método independente de cultivo, da microrregião da Canastra, Minas Gerais, Brasil (Ano de 2021) (continua).

Microrganismo	Amostra	Cidade	UTOs
<i>Diutina catenulata</i>	A6r	São Roque de Minas	21.978
<i>Candida intermedia</i>	A1m	São Roque de Minas	5.385
<i>Candida intermedia</i>	A1r	São Roque de Minas	4.012
<i>Candida intermedia</i>	A2m	Medeiros	80
<i>Candida intermedia</i>	A3m	São Roque de Minas	222
<i>Candida intermedia</i>	A3r	São Roque de Minas	171
<i>Candida intermedia</i>	A4m	São Roque de Minas	257
<i>Candida intermedia</i>	A4r	São Roque de Minas	9
<i>Candida intermedia</i>	A5m	Medeiros	91
<i>Candida intermedia</i>	A5r	Medeiros	59
<i>Candida intermedia</i>	A6m	São Roque de Minas	13.119
<i>Candida intermedia</i>	A6r	São Roque de Minas	2.922
<i>Candida parapsilosis</i>	A3m	São Roque de Minas	16
<i>Candida parapsilosis</i>	A4m	São Roque de Minas	17
<i>Chryseobacterium</i>	A4m	São Roque de Minas	277
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	A3m	São Roque de Minas	10
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	A4m	São Roque de Minas	4
<i>Clavispora lusitaniae</i>	A3m	São Roque de Minas	135
<i>Corynebacterium casei</i>	A1r	São Roque de Minas	65
<i>Corynebacterium casei</i>	A2r	Medeiros	294
<i>Corynebacterium casei</i>	A3r	São Roque de Minas	145
<i>Corynebacterium casei</i>	A5r	Medeiros	21
<i>Corynebacterium flavescens</i>	A3r	São Roque de Minas	18
<i>Corynebacterium glyciniphilum</i>	A1r	São Roque de Minas	20
<i>Corynebacterium glyciniphilum</i>	A3r	São Roque de Minas	13
<i>Corynebacterium sp</i>	A1r	São Roque de Minas	235
<i>Corynebacterium sp</i>	A2r	Medeiros	304
<i>Corynebacterium sp</i>	A3r	São Roque de Minas	309
<i>Corynebacterium sp</i>	A4r	São Roque de Minas	194
<i>Corynebacterium sp</i>	A5r	Medeiros	41
<i>Corynebacterium sp</i>	A6r	São Roque de Minas	7
<i>Corynebacterium variabile</i>	A6m	São Roque de Minas	7

Tabela 2 - Microbiota *terroir* do Queijo Minas Artesanal, avaliada por método independente de cultivo, da microrregião da Canastra, Minas Gerais, Brasil (Ano de 2021) (continua).

Microrganismo	Amostra	Cidade	UTOs
<i>Corynebacterium variabile</i>	A1r	São Roque de Minas	1.127
<i>Corynebacterium variabile</i>	A2r	Medeiros	4.310
<i>Corynebacterium variabile</i>	A3r	São Roque de Minas	6.268
<i>Corynebacterium variabile</i>	A4r	São Roque de Minas	4.121
<i>Corynebacterium variabile</i>	A5r	Medeiros	4.780
<i>Corynebacterium variabile</i>	A6r	São Roque de Minas	4.042
<i>Debaryomyces prosopidis</i>	A1m	São Roque de Minas	5
<i>Debaryomyces prosopidis</i>	A1r	São Roque de Minas	6
<i>Debaryomyces prosopidis</i>	A2m	Medeiros	101
<i>Debaryomyces prosopidis</i>	A2r	Medeiros	204
<i>Debaryomyces prosopidis</i>	A4m	São Roque de Minas	115
<i>Debaryomyces prosopidis</i>	A4r	São Roque de Minas	1.132
<i>Debaryomyces prosopidis</i>	A5m	Medeiros	341
<i>Debaryomyces prosopidis</i>	A5r	Medeiros	817
<i>Enterobacter</i>	A6m	São Roque de Minas	246
<i>Enterobacter</i>	A6r	São Roque de Minas	108
<i>Enterococcus</i>	A1r	São Roque de Minas	8
<i>Enterococcus</i>	A3m	São Roque de Minas	8
<i>Enterococcus</i>	A3r	São Roque de Minas	82
<i>Enterococcus</i>	A4m	São Roque de Minas	12
<i>Enterococcus</i>	A5r	Medeiros	13
<i>Epicoccum nigrum</i>	A4m	São Roque de Minas	4
<i>Fusarium</i>	A2m	Medeiros	27
<i>Fusarium</i>	A2r	Medeiros	578
<i>Geotrichum candidum</i>	A1m	São Roque de Minas	27.088
<i>Geotrichum candidum</i>	A1r	São Roque de Minas	21.843
<i>Geotrichum candidum</i>	A2m	Medeiros	14.542
<i>Geotrichum candidum</i>	A2r	Medeiros	30.298
<i>Geotrichum candidum</i>	A3m	São Roque de Minas	5.670
<i>Geotrichum candidum</i>	A3r	São Roque de Minas	13.458
<i>Geotrichum candidum</i>	A4m	São Roque de Minas	1.060
<i>Geotrichum candidum</i>	A4r	São Roque de Minas	95

Tabela 2 - Microbiota *terroir* do Queijo Minas Artesanal, avaliada por método independente de cultivo, da microrregião da Canastra, Minas Gerais, Brasil (Ano de 2021) (continua).

Microrganismo	Amostra	Cidade	UTOs
<i>Geotrichum candidum</i>	A5m	Medeiros	50.761
<i>Geotrichum candidum</i>	A5r	Medeiros	52.130
<i>Geotrichum candidum</i>	A6m	São Roque de Minas	32.203
<i>Geotrichum candidum</i>	A6r	São Roque de Minas	51.739
<i>Hannaella zea</i>	A3m	São Roque de Minas	5
<i>Kazachstania unispora</i>	A4m	São Roque de Minas	1.104
<i>Klebsiella</i>	A4m	São Roque de Minas	310
<i>Kluyveromyces lactis</i>	A1m	São Roque de Minas	50
<i>Kluyveromyces lactis</i>	A1r	São Roque de Minas	9
<i>Kluyveromyces lactis</i>	A3m	São Roque de Minas	774
<i>Kluyveromyces lactis</i>	A6m	São Roque de Minas	428
<i>Kluyveromyces lactis</i>	A6r	São Roque de Minas	1.564
<i>Kodamaea ohmeri</i>	A1r	São Roque de Minas	3
<i>Kodamaea ohmeri</i>	A2m	Medeiros	25
<i>Kodamaea ohmeri</i>	A2r	Medeiros	12
<i>Kodamaea ohmeri</i>	A3m	São Roque de Minas	201
<i>Kodamaea ohmeri</i>	A3r	São Roque de Minas	108
<i>Kodamaea ohmeri</i>	A4r	São Roque de Minas	2
<i>Kodamaea ohmeri</i>	A5m	São Roque de Minas	19
<i>Kodamaea ohmeri</i>	A5r	São Roque de Minas	19
<i>Kodamaea ohmeri</i>	A6m	São Roque de Minas	554
<i>Kodamaea ohmeri</i>	A6r	São Roque de Minas	205
<i>Kocuria</i>	A1r	São Roque de Minas	23
<i>Kocuria</i>	A6r	São Roque de Minas	32
<i>Lactobacillus brevis</i>	A1m	São Roque de Minas	6
<i>Lactobacillus brevis</i>	A3m	São Roque de Minas	16
<i>Lactobacillus brevis</i>	A3r	São Roque de Minas	9
<i>Lactobacillus brevis</i>	A4m	São Roque de Minas	3
<i>Lactobacillus brevis</i>	A6r	São Roque de Minas	39
<i>Lactobacillus parabuchneri</i>	A2m	Medeiros	16
<i>Lactobacillus parabuchneri</i>	A2r	Medeiros	5
<i>Lactobacillus sp</i>	A1m	São Roque de Minas	10

Tabela 2 - Microbiota *terroir* do Queijo Minas Artesanal, avaliada por método independente de cultivo, da microrregião da Canastra, Minas Gerais, Brasil (Ano de 2021) (continua).

Microrganismo	Amostra	Cidade	UTOs
<i>Lactobacillus sp</i>	A1r	São Roque de Minas	102
<i>Lactobacillus sp</i>	A2m	Medeiros	111
<i>Lactobacillus sp</i>	A2r	Medeiros	92
<i>Lactobacillus sp</i>	A3m	São Roque de Minas	140
<i>Lactobacillus sp</i>	A3r	São Roque de Minas	67
<i>Lactobacillus sp</i>	A4m	São Roque de Minas	929
<i>Lactobacillus sp</i>	A4r	São Roque de Minas	29
<i>Lactobacillus sp</i>	A5m	Medeiros	80
<i>Lactobacillus sp</i>	A5r	Medeiros	1.403
<i>Lactobacillus sp</i>	A6m	São Roque de Minas	22
<i>Lactobacillus sp</i>	A6r	São Roque de Minas	331
<i>Lactococcus</i>	A1m	São Roque de Minas	32.853
<i>Lactococcus</i>	A1r	São Roque de Minas	2.858
<i>Lactococcus</i>	A2m	Medeiros	1.633
<i>Lactococcus</i>	A2r	Medeiros	673
<i>Lactococcus</i>	A3m	São Roque de Minas	28.915
<i>Lactococcus</i>	A3r	São Roque de Minas	15.559
<i>Lactococcus</i>	A4m	São Roque de Minas	31.773
<i>Lactococcus</i>	A4r	São Roque de Minas	143
<i>Lactococcus</i>	A5m	Medeiros	30.923
<i>Lactococcus</i>	A5r	Medeiros	12.867
<i>Lactococcus</i>	A6m	São Roque de Minas	29.089
<i>Lactococcus</i>	A6r	São Roque de Minas	19.873
<i>Leuconostoc citreum</i>	A3m	São Roque de Minas	4
<i>Leuconostoc citreum</i>	A4m	São Roque de Minas	9
<i>Leuconostoc fallax</i>	A3m	São Roque de Minas	48
<i>Leuconostoc fallax</i>	A3r	São Roque de Minas	16
<i>Leuconostoc sp</i>	A1m	São Roque de Minas	20
<i>Leuconostoc sp</i>	A1r	São Roque de Minas	54
<i>Leuconostoc sp</i>	A2m	Medeiros	197
<i>Leuconostoc sp</i>	A2r	Medeiros	23
<i>Leuconostoc sp</i>	A3m	São Roque de Minas	17

Tabela 2 - Microbiota *terroir* do Queijo Minas Artesanal, avaliada por método independente de cultivo, da microrregião da Canastra, Minas Gerais, Brasil (Ano de 2021) (continua).

Microrganismo	Amostra	Cidade	UTOs
<i>Leuconostoc sp</i>	A3r	São Roque de Minas	17
<i>Leuconostoc sp</i>	A4r	São Roque de Minas	6
<i>Leuconostoc sp</i>	A5m	Medeiros	7
<i>Leuconostoc sp</i>	A5r	Medeiros	250
<i>Macrococcus</i>	A5m	Medeiros	4
<i>Microbacterium</i>	A1r	São Roque de Minas	12
<i>Microbacterium</i>	A2r	Medeiros	8
<i>Microbacterium</i>	A3r	São Roque de Minas	7
<i>Moniliella</i>	A3m	São Roque de Minas	27
<i>Penicillium brevicompactum</i>	A4m	São Roque de Minas	4
<i>Pseudoclavibacter</i>	A1r	São Roque de Minas	10
<i>Psychrobacter meningitidis</i>	A4r	São Roque de Minas	294
<i>Psychrobacter meningitidis</i>	A5r	Medeiros	12
<i>Psychrobacter sp</i>	A4r	São Roque de Minas	53
<i>Raoultella</i>	A4m	São Roque de Minas	60
<i>Saturnispora</i>	A3m	São Roque de Minas	11
<i>Saturnispora</i>	A3r	São Roque de Minas	57
<i>Saturnispora</i>	A6m	São Roque de Minas	748
<i>Saturnispora</i>	A6r	São Roque de Minas	1.556
<i>Serratia</i>	A4m	São Roque de Minas	3
<i>Serratia</i>	A1r	São Roque de Minas	16
<i>Serratia</i>	A6r	São Roque de Minas	6
<i>Staphylococcus sp</i>	A1m	São Roque de Minas	3
<i>Staphylococcus sp</i>	A1r	São Roque de Minas	16
<i>Staphylococcus sp</i>	A2r	Medeiros	1.199
<i>Staphylococcus sp</i>	A4r	São Roque de Minas	505
<i>Staphylococcus sp</i>	A5r	Medeiros	56
<i>Staphylococcus sp</i>	A6m	São Roque de Minas	4
<i>Staphylococcus sp</i>	A6r	São Roque de Minas	141
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	A6r	São Roque de Minas	4
<i>Streptococcus salivarius</i>	A2m	Medeiros	17.210
<i>Streptococcus salivarius</i>	A2r	Medeiros	38

Tabela 2 - Microbiota *terroir* do Queijo Minas Artesanal, avaliada por método independente de cultivo, da microrregião da Canastra, Minas Gerais, Brasil (Ano de 2021) (continua).

Microrganismo	Amostra	Cidade	UTOs
<i>Streptococcus salivarius</i>	A4m	São Roque de Minas	5
<i>Streptococcus salivarius</i>	A5m	Medeiros	44
<i>Streptococcus salivarius</i>	A5r	Medeiros	10
<i>Streptococcus sp</i>	A2m	Medeiros	2.452
<i>Streptococcus sp</i>	A2r	Medeiros	17
<i>Streptococcus sp</i>	A4m	São Roque de Minas	3
<i>Streptococcus sp</i>	A5m	Medeiros	170
<i>Streptococcus sp</i>	A5r	Medeiros	19
<i>Torulaspora delbrueckii</i>	A2m	Medeiros	11
<i>Torulaspora delbrueckii</i>	A3m	São Roque de Minas	90
<i>Torulaspora delbrueckii</i>	A5m	Medeiros	8
<i>Trichosporon ovoides</i>	A2m	Medeiros	4
<i>Trichosporon ovoides</i>	A3m	São Roque de Minas	306
<i>Trichosporon ovoides</i>	A4m	São Roque de Minas	203
<i>Trichosporon ovoides</i>	A4r	São Roque de Minas	225
<i>Trichosporon ovoides</i>	A5m	Medeiros	12
<i>Trichothecium roseum</i>	A1m	São Roque de Minas	38
<i>Weissella jogaejeotgali</i>	A5r	Medeiros	16
<i>Wickerhamiella pararugosa</i>	A3m	São Roque de Minas	84

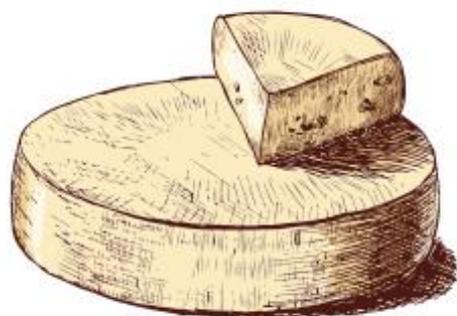
Apêndice C – Cartilha destinada aos produtores de Queijo Minas Artesanal da microrregião da Canastra, Minas Gerais, Brasil.



O QUE TEM NO MEU QUEIJO?



Microrganismos presentes
no Queijo Minas Artesanal
da Canastra



Ma. Michele Aragão
Dr. Luís Roberto Batista
Dra. Fabiana Passamani





O QUE TEM NO MEU QUEIJO?

Microrganismos presentes no Queijo
Minas Artesanal da Canastra

Ma. Michele Aragão
Dr. Luís Roberto Batista
Dra. Fabiana Passamani

Laboratório de Micologia e Micotoxinas de Alimentos,
Departamento de Ciência dos Alimentos - UFLA

PROJETO: SEGURANÇA DO QUEIJO MINAS
ARTESANAL PRODUZIDO COM LEITE CRU E
MATURADO COM FUNGO BRANCO

Programa Pesquisador Mineiro (PPM XII) - FAPEMIG

Apoio:





Quais microrganismos estão



O queijo é um alimento vivo.
Nele, encontramos diversos
microrganismos.

Cada cantinho de Minas tem seu modo especial de fazer o queijo. Os microrganismos entram junto nessa dança e agregam características únicas, tornando cada queijo especial à sua maneira.

Os microrganismos, o local, o modo de fazer, as estações do ano e diversos outros fatores formam o que chamamos de Terroir.





Prazer, somos...

...os fungos...

Diutina catenulata

Candida intermedia

Geotrichum candidum

Kluyveromyces lactis

Kodamaea ohmeri

...e as bactérias!

Lactococcus sp

Lactobacillus sp

Corynebacterium variabile

Brevibacterium sp

Streptococcus salivarius

Leuconostoc sp

E juntos formamos a microbiota do
queijo da Canastra



Qual o papel da microbiota do queijo?

Os microrganismos trabalham em conjunto modificando a aparência, textura, aroma e sabor do queijo.



- ↳ Produzindo compostos (cetonas, ácidos graxos, álcoois, ésteres, aldeídos) responsáveis pelo sabor e aroma característicos
- ↳ Competindo de forma eficiente contra bactérias patogênicas e fungos produtores de micotoxinas
- ↳ Formando textura enrugada com coloração branca característica, além de notas frutadas, florais, carameladas, mofadas, notas oleosas e amanteigadas (*Geotrichum candidum*)



Qual o papel da microbiota do queijo?

Todas estas características combinadas contribuem para a segurança do produto, tornando o Queijo Minas Artesanal da Canastra esta iguaria de sabor incomparável!



Apoio:

