

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MINAS  
GERAIS - *CAMPUS* BAMBUÍ  
LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Gabriel Henrique Oliveira Silva

**Caracterização espacial e temporal da microbiota do fermento endógeno utilizado na  
produção do Queijo Minas Artesanal**

BambuÍ

2026

GABRIEL HENRIQUE OLIVEIRA SILVA

**Caracterização espacial e temporal da microbiota do fermento endógeno utilizado na  
produção do Queijo Minas Artesanal**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)  
apresentado ao Curso de Licenciatura em  
Ciências Biológicas do Instituto Federal de  
Minas Gerais – *Campus* Bambuí como  
requisito parcial para obtenção do título de  
Licenciado em Ciências Biológicas.  
Orientador: Gustavo Augusto Lacorte

Bambuí

2026

---

**Catálogo na Fonte Biblioteca IFMG - *Campus* Bambuí**

S586c Silva, Gabriel Henrique Oliveira.

Caracterização espacial e temporal da microbiota do fermento endógeno utilizado na produção do Queijo Minas Artesanal [manuscrito] / Gabriel Henrique Oliveira Silva – 2026.  
36 f. :il. ; color.

Orientador: Gustavo Augusto Lacorte.  
Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) – Instituto Federal de Minas Gerais. *Campus* Bambuí

1. Pingo. 2. Variação Sazonal. 3. Caracterização microbiológica. 4. Queijo Minas Artesanal. I. Lacorte, Gustavo Augusto. II. Instituto Federal de Minas Gerais – *Campus* Bambuí. III. Título.

CDD 637.3

---

**Catálogo: João Batista Rodrigues - CRB-6/2022**



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA  
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MINAS GERAIS  
Campus Bambuí  
Diretoria de Ensino  
Departamento de Ciências e Linguagens  
Faz. Varginha - Rodovia Bambuí/Meeiros - Km 05 - Caixa Postal 05 - CEP 38900-000 - Bambuí - MG  
37 3431 4900 - www.ifmg.edu.br

Gabriel Henrique Oliveira Silva

CARACTERIZAÇÃO ESPACIAL E TEMPORAL DA MICROBIOTA DO FERMENTO ENDÓGENO UTILIZADO NA PRODUÇÃO DO QUEIJO MINAS ARTESANAL

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Licenciatura em Ciências Biológicas do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais – *Campus Bambuí* para obtenção do grau de licenciada em Ciências Biológicas.

Aprovado em 15/01/2026, pela banca examinadora:

Gustavo Augusto Lacorte

(Orientador)

Raphael Steinberg da Silva

(Membro avaliador)

Lívia Cristina Santos

(Membro avaliador)

Bambuí, 15 de janeiro de 2026



Documento assinado eletronicamente por **Gustavo Augusto Lacorte, Professor**, em 15/01/2026, às 16:39, conforme Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Raphael Steinberg da Silva, Professor**, em 15/01/2026, às 16:39, conforme Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Lívia Cristina Santos, Técnica de Laboratório**, em 15/01/2026, às 16:40, conforme Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site <https://sei.ifmg.edu.br/consultadocs> informando o código verificador **2568561** e o código CRC **891B680B**.

23209.005034/2025-16

2568561v1

## AGRADECIMENTOS

Sou profundamente grato, primeiramente, a Deus, por toda a força e sustento que me concedeu durante minha trajetória acadêmica, por tudo o que tem permitido em minha vida e por todo o aprendizado adquirido ao longo desse tempo.

À minha avó, Ana Maria, pelo quanto me amou e me apoiou incondicionalmente por todo o tempo em que estive entre nós, sendo exemplo de conduta honesta e humilde.

À minha mãe, Magda, por sempre me apoiar em qualquer que seja a situação, com amor, dedicação e zelo.

Ao meu orientador, Gustavo Augusto Lacorte, por me proporcionar a oportunidade de participar e desenvolver projetos no Laboratório de Biologia Molecular e Laboratório de Pesquisa Multiusuário, além de possibilitar a realização do presente Trabalho de Conclusão de Curso, bem como por todo o conhecimento compartilhado, seja como professor, orientador ou amigo.

Ao professor Raphael Steinberg da Silva, por todo o apoio durante minha trajetória acadêmica e nos laboratórios de pesquisa.

À técnica de laboratório Livia Cristina Santos, pela companhia no laboratório e pelas boas conversas nos intervalos.

Aos meus amigos e colegas que estiveram presentes durante esses anos de laboratório, em especial, Anderson Carvalho, com quem pude aprender no início, bem como aos veteranos, Carina Santos, Evely Oliveira, Nathan Sousa e Talita Gomes.

Aqueles que ingressaram nesta jornada de pesquisa e com quem pude dividir espaço, aprendizados e bons momentos e que me auxiliaram na realização dos experimentos: Ana Flávia, Jenyfer Silva, Júlia Souza, Kassiana Souza, Maráisa Soares, Márcio Carvalho e Pedro Maia.

A todos os estudantes, servidores e professores que contribuíram de alguma forma para a realização do presente trabalho.

Por fim, agradeço a todos os professores, amigos e colegas que fizeram parte da minha trajetória acadêmica e que contribuíram para meu crescimento pessoal e profissional.

## RESUMO

O Queijo Minas Artesanal (QMA) é caracterizado pelo uso de leite cru e fermento natural "pingo", responsável pelos processos de fermentação, maturação e desenvolvimento das propriedades sensoriais do produto. O estudo investigou os determinantes espaciais (queijaria e microrregião) e temporais (sazonalidade) da carga microbiana do pingo em 10 regiões produtoras. As amostragens ocorreram em quatro campanhas (estações seca e chuvosa) entre 2024 e 2025. A microbiota foi analisada por métodos de cultivo para enumeração de bactérias do ácido lático (BAL), coliformes, *Staphylococcus aureus*, bolores e leveduras, além da determinação de pH e teor de NaCl. A variância foi particionada via PERMANOVA para identificar os principais fatores de variação, enquanto padrões de similaridade regional e efeitos sazonais foram avaliados por testes não paramétricos. Os resultados indicaram que a queijaria individual é o principal componente explicativo para a variação de BAL e coliformes. Em contraste, observou-se efeito sazonal significativo para *S. aureus*, bolores e leveduras. A microrregião produtora apresentou influência secundária sobre a variação das contagens. Assim, conclui-se que a variabilidade microbiológica do pingo é determinada primariamente pela unidade produtora e pela sazonalidade, o que demanda atenção ao manejo local da produção, sobretudo em períodos favoráveis à proliferação de microrganismos indesejáveis.

**Palavras-chave:** Pingo. Variação sazonal. Variação espacial. Caracterização microbiológica. Queijo Minas Artesanal.

## ABSTRACT

Minas Artisanal Cheese (MAC) is characterized by the use of raw milk and a natural starter culture known as "*pingo*", which is responsible for the fermentation, ripening, and development of the product's sensory properties. This study investigated the spatial (farmhouse and microregion) and temporal (seasonality) determinants of the microbial load in "*pingo*" across 10 producing regions. Sampling was conducted over four campaigns (dry and rainy seasons) between 2024 and 2025. The microbiota was analyzed using culture-based methods for the enumeration of lactic acid bacteria (LAB), coliforms, *Staphylococcus aureus*, and molds and yeasts, alongside the determination of pH and NaCl content. Variance was partitioned via PERMANOVA to identify the main factors of variation, while regional similarity patterns and seasonal effects were evaluated through non-parametric tests. The results indicated that the individual farmhouse is the primary explanatory component for the variation in LAB and coliform counts. In contrast, a significant seasonal effect was observed for *S. aureus*, molds, and yeasts. The producing microregion showed secondary influence on count variation. It is concluded that the microbiological variability of "*pingo*" is primarily determined by the producing unit and seasonality, which demands attention to local production management, particularly during periods favorable to the proliferation of undesirable microorganisms.

**Keywords:** Pingo. Seasonal variation. Spatial variation. Microbiological characterization. Minas Artisanal Cheese.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Mapa das regiões produtoras de queijo artesanal em Minas Gerais.....	15
Figura 2 - Representação de uma diluição seriada.....	18
Figura 3 - Representação do plaqueamento em superfície.....	18
Figura 4 - Partição da variância das contagens microbiológicas do pingo obtida por PERMANOVA, apresentada separadamente para cada grupo microbiano.....	21
Figura 5 - Padrões de similaridade entre microrregiões do QMA com base nas variações temporais do pingo.....	22
Figura 6 - Box Plots das variáveis que apresentaram variação global entre campanhas.....	25
Figura 7 - Heatmaps das matrizes de correlação de Spearman entre parâmetros físico-químicos (pH e Concentração de NaCl) e contagens microbiológicas do pingo apresentados por campanha.....	27
Figura 8 - Heatmaps das matrizes de correlação de Spearman entre as variações temporais ( $\Delta$ ) dos parâmetros físico-químicos (pH e NaCl) e das contagens microbiológicas do pingo, apresentados separadamente para cada transição entre campanhas.....	28

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>10</b>
1.1 Objetivo geral.....	11
1.2 Objetivos específicos.....	11
<b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>12</b>
2.1 Queijo artesanal.....	12
2.2 Queijo Minas Artesanal.....	13
2.3 Fermento lácteo endógeno: pingo.....	16
<b>3 METODOLOGIA.....</b>	<b>17</b>
3.1 Obtenção das amostras.....	17
3.2 Análises microbiológicas e físico-químicas.....	17
3.3 Análise dos dados.....	19
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>21</b>
4.1 Partição da variação das contagens microbiológicas.....	21
4.2 Padrões espaciais e microrregionais.....	22
4.3 Variação sazonal da microbiota.....	24
4.4 Associação com parâmetros físico-químicos.....	26
4.5 Efeitos espaciais, temporais e produtivos sobre a microbiota do pingo.....	28
<b>5 CONCLUSÃO.....</b>	<b>32</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>33</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A produção de queijo artesanal é uma tradição secular cujos métodos, transmitidos entre gerações, marcam a história, a cultura e a economia de diversas regiões brasileiras, com destaque para o estado de Minas Gerais, reconhecido pela tradição na produção de queijos no país (DARGÈRE *et al.*, 2023). Segundo o Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA, 2024), o Estado possui dez regiões produtoras de Queijo Minas Artesanal (QMA): Araxá, Canastra, Campos das Vertentes, Cerrado, Serra do Salitre, Serro, Triângulo Mineiro, Serras do Ibitipoca, Diamantina e Entre Serras da Piedade ao Caraça.

A produção do QMA, reconhecida como Patrimônio Cultural Imaterial da Humanidade pela UNESCO em 2024, caracteriza-se pela inoculação de culturas microbiológicas endógenas, localmente chamada de “pingo”, no processo de produção como agente de fermentação da massa formada a partir da coagulação do leite cru (DORES *et al.*, 2013). O uso desse fermento natural, obtido da produção anterior, permite a transferência da microbiota do leite cru e dos microrganismos presentes no ambiente de produção para o queijo. Dessa maneira, as variações na composição microbiológica de cada região conferem sabor, aroma e textura característicos ao produto final (DARGÈRE *et al.*, 2023).

A elucidação da diversidade populacional microbiana do pingo representa a preservação de tradições históricas e regionais de produção do QMA. Embora os queijos artesanais brasileiros sejam amplamente apreciados, a microbiota envolvida em sua fabricação e maturação ainda carece de estudos aprofundados. O mapeamento preciso dos grupos microbianos presentes em queijos de leite cru é essencial para aprimorar a qualidade e a segurança microbiológica desses produtos. Além disso, a identificação simultânea de microrganismos benéficos e potenciais patógenos em queijos artesanais reforça a necessidade de compreender como o pingo molda essas comunidades, especialmente diante da grande variabilidade regional e tecnológica do setor (CALDEIRA *et al.*, 2025; PINEDA *et al.*, 2021; KAMIMURA *et al.*, 2019).

Assim, considerando o crescente interesse científico pelos queijos artesanais brasileiros (PENNA; GIGANTE; TODOROV, 2021), este estudo objetivou investigar os determinantes espaciais (queijaria e microrregião) e temporais (sazonalidade) sobre a microbiota do fermento natural “pingo” em dez regiões produtoras de Minas Gerais. A caracterização dessa cultura endógena busca fornecer subsídios técnicos para a definição da identidade biológica de cada unidade produtora, contribuindo para a padronização e segurança do Queijo Minas Artesanal.

## 1.1 Objetivo geral

Investigar os determinantes espaciais (unidade produtora e microrregião) e temporais (sazonalidade) da carga microbiana do fermento natural “pingo” utilizado na produção do Queijo Minas Artesanal em dez regiões do estado de Minas Gerais.

## 1.2 Objetivos específicos

Para alcançar o objetivo geral, o trabalho propôs:

- a) Enumerar os grupos microbianos de interesse tecnológico (bactérias do ácido láctico) e de segurança sanitária (coliformes, *Staphylococcus aureus*, bolores e leveduras) presentes no pingo;
- b) Particionar a variância das contagens microbiológicas para determinar o peso relativo da queijaria individual, da microrregião e da sazonalidade sobre a carga microbiana presente no pingo;
- c) Identificar padrões de similaridade espacial entre as dez microrregiões produtoras por meio de análises multivariadas exploratórias;
- d) Correlacionar a dinâmica das populações microbianas com o pH e concentração de cloreto de sódio (NaCl) do pingo.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 Queijo artesanal

O queijo é um dos mais antigos alimentos manufaturados pela civilização humana, produzido a partir do leite de mamíferos como vacas, cabras e ovelhas, assim como búfalas, camelas, lhamas, renas, entre outros. Por meio da fermentação e coagulação do leite, o queijo é obtido pelo aproveitamento da caseína, principal proteína presente no leite. Este processo consiste, primeiramente, na adição de uma cultura bacteriana que realizará a acidificação do leite, e, com a adição do coalho, a quimosina, ele é transformado em coalhada e soro. São justamente os tipos bacterianos e o processamento do coalho que determinam a textura e o sabor na maioria dos queijos. Assim, independentemente da origem do leite, a produção do queijo segue algumas etapas básicas: coagulação, expulsão do soro, prensagem, moldagem, salmoura e maturação, além de que, a depender do objetivo de comercialização do queijo, este pode ser fresco ou maturado (NETTO, 2011). Dessa forma, o processo de coagulação do leite, observado naturalmente pelo homem e adaptado pela experiência prática, gerou um alimento que adquiriu, ao longo da história, seja pelo objetivo de conservação do alimento ou pelo gosto que possuía, grande variedade de tipos, muitos desses produzidos de forma artesanal e que fazem parte de uma identidade cultural e regional (MENESES, 2006).

Os queijos artesanais adquirem características distintas pelas variações no modo de produção, ou seja, para além dos tipos bacterianos e processamento do coalho, as formas como o fermento lácteo é adicionado, o cozimento da massa, a maneira como se realiza a prensagem, salga, adição de creme ou gordura e os diferentes períodos de maturação conferem aos queijos artesanais brasileiros suas diferenças. O modo de produção, baseado na experiência prática, perpetuado ao longo das gerações de pequenos produtores, resultou em variações na identidade e padrões de qualidade dos queijos artesanais produzidos em uma mesma região (ARAÚJO *et al.*, 2020; NETTO, 2011).

No Brasil, a fabricação de queijo começou no período da colonização portuguesa, quando foram introduzidos os primeiros rebanhos. Os portugueses transmitiram técnicas de fabricação de queijos, como a receita do hoje conhecido Queijo Serra da Estrela, queijo semimacio português, produzido com leite cru de ovinos. Adaptada e modificada às condições ambientais de cada região do Brasil, a maneira de fazer o queijo português serviu de referência para outros queijos tradicionais brasileiros (PERKINS, 2019).

A legislação brasileira regulamenta e define o Queijo Artesanal prezando pelas suas características tradicionais e territoriais, por meio de leis como a Lei n.º 13.860/2019, que define e regulamenta a elaboração e comercialização de queijos artesanais (BRASIL, 2019). Tem-se, também, a Lei n.º 13.680/2018, que instituiu o Selo Arte, certificado para produtos alimentícios de origem animal de produção artesanal, com o intuito de facilitar a fiscalização e permitir a comercialização em todo o território nacional desses produtos, garantindo qualidade, identidade e segurança (BRASIL, 2018). A partir da regulamentação da Lei do Selo Arte, a responsabilidade de concessão do selo foi descentralizada aos órgãos estaduais de agricultura e pecuária, de modo que os Estados Brasileiros definam regras próprias, tal como Minas Gerais, maior produtor de queijos artesanais do país e pioneiro em legislação própria sobre a produção artesanal de queijos de leite cru (ARAÚJO *et al.*, 2020; CHAVES *et al.*, 2021).

A Lei estadual n.º 23.157/2018 regulamenta a produção e comercialização dos queijos artesanais em Minas Gerais, definindo conceitos-chave relacionados à sua produção e estabelecendo competências aos órgãos e entidades da administração pública sobre o reconhecimento de identidade e qualidade dos produtos, como o Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) e os sistemas municipais de inspeção, que devem atuar na fiscalização e habilitação de queijarias e entrepostos (MINAS GERAIS, 2018). Ademais, o Decreto n.º 48.024/2020 detalha os requisitos para o registro, instalação, rotulagem, transporte e obrigações sanitárias para a produção dos queijos artesanais, bem como prevê princípios de precaução e proteção à saúde. A norma ampliou o escopo das legislações anteriores, fortalecendo a segurança sanitária, a formalização e a valorização sociocultural da cadeia produtiva do queijo em Minas Gerais (MINAS GERAIS, 2020). A legislação também permite que os produtores de queijos artesanais utilizem ingredientes adicionais, desde que o processo cumpra normas técnicas de higiene e manejo de rebanho, conforme previsto na Portaria IMA n.º 2.373, que estabelece os requisitos para a produção e comercialização dos queijos artesanais, unificando e atualizando normas anteriores (MINAS GERAIS, 2025a).

## **2.2 Queijo Minas Artesanal**

O Queijo Minas Artesanal (QMA), conforme a legislação vigente (MINAS GERAIS, 2024), é todo queijo elaborado exclusivamente com leite bovino cru, fresco, integral, recém-ordenhado de animais saudáveis, cuja fermentação utiliza cultura láctica natural, apresentando massa com consistência firme, cor e sabor característicos, sem corantes

ou conservantes, podendo apresentar, ou não, olhaduras, produzido segundo as práticas tradicionais e históricas da região onde é produzido. Conforme explícito na Portaria IMA n.º 2303, de 20 de maio de 2024, o QMA deve possuir como ingredientes o leite integral sem tratamento térmico, culturas lácticas naturais, o pingo e, também, coalho, registrado em órgão competente, e sal para consumo humano, bem como não deve ser utilizado qualquer tipo de aditivo ou coadjuvante de tecnologia em sua fabricação.

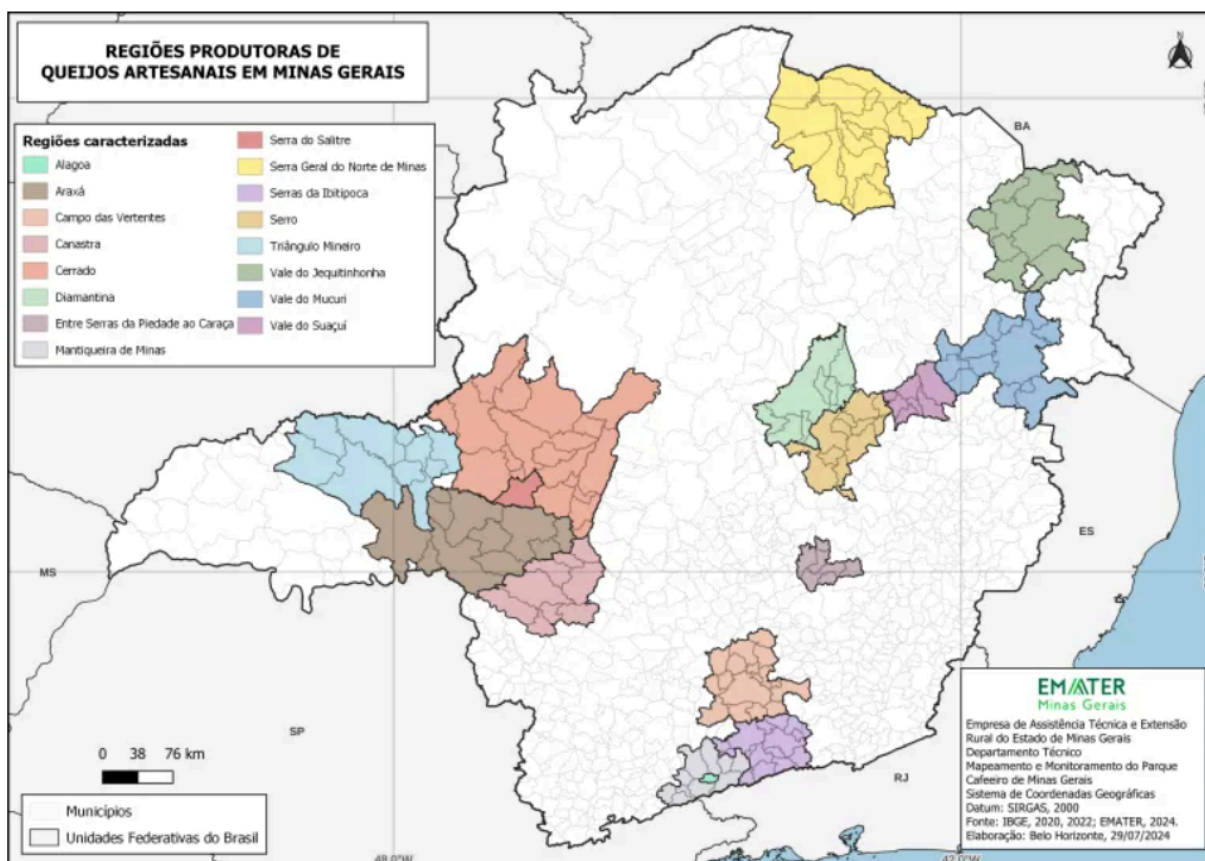
A diversidade sensorial dos queijos artesanais mineiros é oficialmente reconhecida pelo Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA), que, por meio da Portaria n.º 2303, de 4 de maio de 2024, apresenta descrições específicas para cada microrregião produtora do Queijo Minas Artesanal, contemplando aspectos como consistência, textura, cor, sabor e crosta. Estas descrições evidenciam a relação entre os fatores ambientais, as práticas tradicionais e a microbiota local, que resultam em produtos com identidade sensorial única e que expressam as suas origens geográficas e culturais para cada microrregião mineira (MINAS GERAIS, 2024).

Ademais, sendo o QMA produzido conforme a tradição histórica e cultural de cada região, os queijos possuem características que os diferenciam dos demais e até entre os próprios, graças à microbiota do leite, ao soro-fermento utilizado, às condições ambientais, às condições climáticas, aos hábitos dos produtores, entre outras variáveis que impactam diretamente na obtenção do produto final. Estes fatores são conhecidos como *terroir*, termo francês que denomina o conjunto de fatores naturais e humanos de um determinado local que atuam na obtenção de um produto. A microbiota desses queijos possui uma forte assinatura do *terroir*, criando, assim, condições favoráveis para as possíveis sucessões microbiológicas ao longo do processo de fabricação, resultando em uma microbiota variada e característica de cada um dos queijos. Portanto, uma região pode ser propícia para produção de um determinado queijo e, ao mesmo tempo, inadequada para produção de outro (NETTO, 2011; SANT'ANNA, 2019).

Em conformidade, a Portaria IMA n.º 2303, de 4 de maio de 2024, que consolida legalmente a intrínseca relação entre o *terroir* e as propriedades sensoriais do queijo artesanal mineiro, reforçando a importância da tipificação regional para a valorização e preservação do QMA como patrimônio cultural e gastronômico do Estado, reconhece como regiões produtoras do QMA: Araxá, Campos das Vertentes, Canastra, Cerrado, Diamantina, Entre Serras da Piedade ao Caraça, Serra do Salitre, Serras do Ibitipoca, Serro, Triângulo Mineiro (MINAS GERAIS, 2024). Além dessas, consideram-se outras regiões que produzem outros tipos de queijos artesanais mineiros, diferentes do QMA: Alagoa, Mantiqueira de Minas,

Serra Geral do Norte de Minas, Vale do Jequitinhonha, Vale do Suaçuí e Vale do Mucuri (MINAS GERAIS, 2025b) (Figura 1).

Figura 1 - Mapa das regiões produtoras de queijo artesanal em Minas Gerais



Fonte: Minas Gerais (2025b).

A produção do QMA exerce forte influência na identidade cultural mineira, a ponto de seus modos de produção se tornarem Patrimônio Cultural Imaterial da Humanidade (UNESCO, 2024). Além de seu valor simbólico, o QMA representa uma significativa parcela da produção familiar em Minas Gerais, sustentando milhares de famílias que preservam um saber tradicional de grande valor imaterial. Segundo o levantamento do sistema Safra Agroindústria, da Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural de Minas Gerais (Emater-MG), das 11.332 unidades de agricultura familiar de produtos derivados do leite, 7.776 são empreendimentos específicos de queijos artesanais (EMATER, 2024).

### 2.3 Fermento lácteo endógeno: pingo

O queijo, quando comparado a outros produtos lácteos, é considerado um produto alimentício dinâmico e instável, justamente porque sua fabricação e maturação dependem de sucessivas ações de microrganismos. A composição e interação da microbiota determinam a qualidade, autenticidade e a diversidade sensorial dos queijos, de forma que comunidades microbianas benéficas favorecem propriedades físicas e sensoriais desejáveis, enquanto outros microrganismos indesejáveis afetam negativamente a qualidade do alimento (GOBBETTI *et al.*, 2018; KAMIMURA *et al.*, 2019).

O Queijo Minas Artesanal, além do uso do leite cru, tem em seu cerne a utilização do pingo, definido na legislação (MINAS GERAIS, 2025a) como “cultura láctea natural proveniente do processo de fabricação do queijo artesanal”. O pingo é o soro obtido após a segunda salga no dia anterior, composto por microrganismos específicos de cada região e considerado uma cultura endógena (CASTRO *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2025). Assim, permanecendo em fermentação de um dia para o outro, junto a uma elevada concentração de sal, é capaz de inibir fermentações indesejáveis de microrganismos deteriorantes. Além disso, o pingo é rico em microrganismos benéficos viáveis, atuando como fermento natural e legítimo na produção do queijo (SANT’ANNA, 2019).

Ao atuar como cultura iniciadora natural, o pingo se torna fonte de bactérias do ácido láctico e de leveduras nos QMAs (PENNA *et al.*, 2021). O soro pode possuir coliformes e *Staphylococcus spp.*, que podem significar fonte de contaminação para o produto final, bem como bolores e leveduras (CASTRO *et al.*, 2016). Apesar de as leveduras desempenharem papel benéfico na fermentação e maturação, em alguns casos, são associadas a defeitos no queijo (SANTOS *et al.*, 2025). As bactérias do ácido láctico (BAL), por outro lado, são essenciais para a produção dos queijos artesanais, uma vez que são as principais responsáveis pela fermentação e coagulação do leite no estágio inicial de produção (CAMARGO *et al.*, 2021). As BAL também desempenham um importante papel na maturação do QMA, uma vez que múltiplas linhagens são conhecidas como organismos benéficos à saúde do consumidor, capazes de sintetizar compostos antimicrobianos que podem inibir o crescimento de bactérias patogênicas e deteriorantes, além da redução no pH, que desempenha importante papel na preservação do queijo, limitando o crescimento de microrganismos indesejáveis. As BAL também possuem propriedades probióticas e contribuem para redução do potencial alérgico de algumas proteínas do leite (CAMARGO *et al.*, 2021; CASTRO *et al.*, 2016; COELHO *et al.*, 2022; PENNA *et al.*, 2021).

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 Obtenção das amostras

As amostras de fermento endógeno (pingo) foram obtidas em 50 queijarias localizadas nas 10 microrregiões oficialmente reconhecidas para a produção de Queijo Minas Artesanal (MINAS GERAIS, 2024), sendo assim distribuídas: Araxá (n=6), Canastra (n=8), Cerrado (n=6), Serra do Salitre (n=3), Triângulo Mineiro (n=4), Campos das Vertentes (n=6), Serras da Piedade ao Caraça (n=4), Serro (n=6), Diamantina (n=4) e Serras do Ibitipoca (n=3). Foram realizadas quatro campanhas de amostragem entre os anos de 2024 e 2025, abrangendo as estações seca e chuvosa típicas de Minas Gerais (GRIFT *et al.*, 2025; MARTIN *et al.*, 2023; NEVIANI *et al.*, 2025).

Alíquotas de 500 ml de pingo foram coletadas pelos próprios produtores de queijo no momento em que seriam utilizadas no processo de produção do queijo. As amostras foram acondicionadas em frascos plásticos estéreis previamente entregues aos produtores. Após a coleta da alíquota, os produtores acondicionaram as amostras em refrigerador (4 a 8°C) até o momento da coleta destas pela equipe executora do projeto.

As amostras foram transportadas no mesmo dia da coleta para o Instituto Federal de Minas Gerais - *Campus* Bambuí em caixas de isopor resfriadas com gelo reutilizável, onde foram processadas e armazenadas para análises futuras em laboratório.

#### 3.2 Análises microbiológicas e físico-químicas

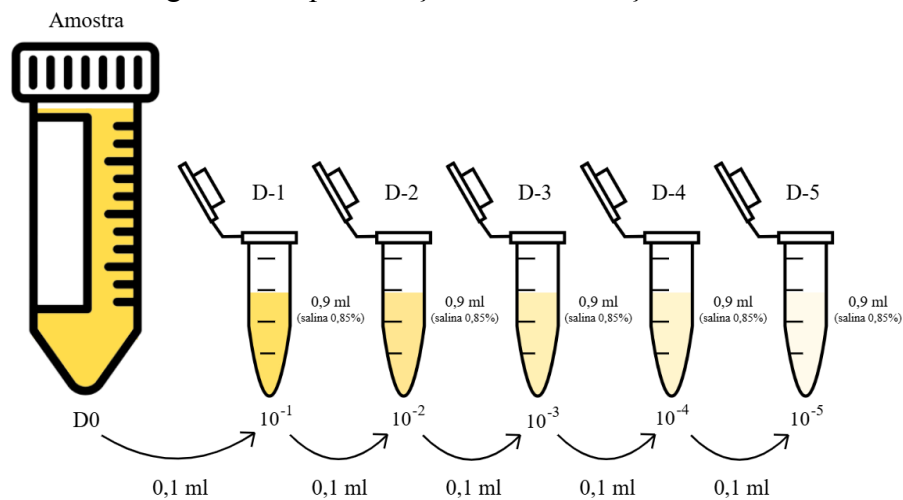
Inicialmente, alíquotas de cada amostra de pingo foram destinadas às análises físico-químicas de salinidade e potencial hidrogeniônico (pH). A concentração de cloreto de sódio (NaCl) foi determinada utilizando-se um refratômetro digital portátil (Modelo Milwaukee MA887), em gramas/ml, enquanto o pH foi mensurado em pHmetro de bancada devidamente calibrado.

As análises microbiológicas consistiram em ensaios quantitativos por meio da técnica de contagem padrão em placas, seguindo a metodologia descrita por Silva e colaboradores (2007). Empregou-se o plaqueamento em superfície (*spread plate*), com os resultados expressos em Unidades Formadoras de Colônias por mililitro (UFC/mL). Foram avaliados cinco grupos microbianos indicadores: Bactérias do ácido lático (BAL), cultivadas em meios MRS (lactobacilos) e M17 (estreptococos lácticos); Coliformes totais, utilizando o

meio seletivo *Chromocult Coliform Agar*; *Staphylococcus aureus*, utilizando placas *Compact Dry XSA*; Bolores e leveduras, utilizando placas *Compact Dry YM*.

A partir da amostra bruta (D0), realizou-se uma diluição seriada (fator 1:10) em microtubos de 1,5 mL contendo solução salina a 0,85%, obtendo-se diluições de D-1, D-2, D-3, D-4 e D-5 (Figura 2). As alíquotas foram plaqueadas em duplicata, visando à obtenção de placas com contagem entre 25 e 250 colônias.

Figura 2 - Representação de uma diluição seriada

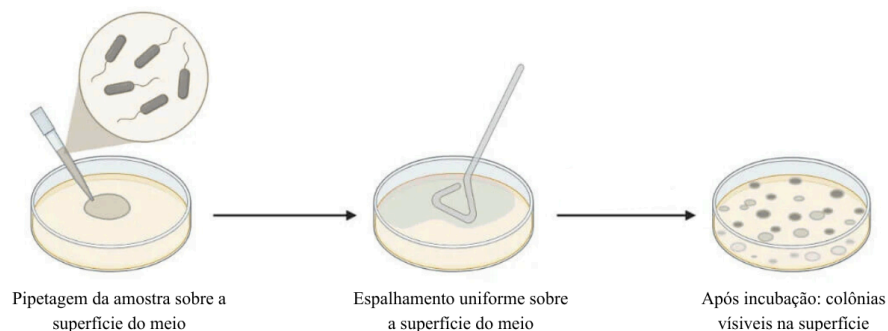


Fonte: Autoria própria (2025).

Legenda: Esquema representativo da diluição seriada (fator 1:10) de uma amostra.

O procedimento do plaqueamento em superfície consistiu na inoculação da amostra ou de suas diluições em uma placa de Petri contendo meio sólido, seguida do espalhamento do inóculo com uma alça estéril e posterior incubação em estufa (Figura 3).

Figura 3 - Representação do plaqueamento em superfície



Fonte: Adaptado de Dahal (2022).

Para o plaqueamento das BALs em meios MRS e M17, foram utilizadas as diluições D-3, D-4 e D-5, com incubação em estufa bacteriológica a 37 °C por 24 horas no meio M17 e 48 horas no meio MRS. Para o cultivo de bactérias coliformes e *Escherichia coli* no meio *Chromocult Coliform Agar*, empregaram-se as diluições D0, D-2, D-3 e D-4, incubadas a 37 °C por 48 horas. O plaqueamento de *Staphylococcus aureus* nas placas *Compact Dry XSA* foi realizado com as diluições D-1, D-2 e D-3, incubando-se as placas a 37 °C por 48 horas. Por fim, para o crescimento de bolores e leveduras no meio *Compact Dry YM*, utilizaram-se as diluições D-1, D-2 e D-3 com incubação a 25 °C por 48 a 72 horas.

### 3.3 Análise dos dados

Os dados obtidos nas análises físico-químicas foram tabulados por meio do programa *Google Sheets*, bem como os dados microbiológicos obtidos a partir das contagens das unidades formadoras de colônias (UFC) que foram transformados em  $\log_{10}$ , visando atender aos pressupostos de homogeneidade de variâncias e reduzir efeitos de valores extremos. As análises estatísticas foram conduzidas considerando-se diferentes níveis de organização espacial e temporal, incluindo queijaria individual, microrregião produtora do Queijo Minas Artesanal (QMA) e campanhas de coleta que correspondem às diferentes estações de seca e chuva de Minas Gerais durante os anos de 2024 e 2025.

Inicialmente, a contribuição relativa da queijaria, da microrregião e da campanha para a variação das contagens microbiológicas do pingo foi avaliada por meio da Análise de Variância Multivariada Permutacional (PERMANOVA), baseada em matriz de distância euclidiana construída a partir das contagens log-transformadas. Para cada grupo microbiano, a variância total foi particionada entre os fatores incluídos no modelo, permitindo estimar a proporção da variação explicada por cada componente ( $R^2$ ).

Ademais, a existência de padrões espaciais associados às microrregiões produtoras foi investigada por meio da análise de cluster hierárquico, utilizando as variações médias ( $\Delta$ ) entre campanhas consecutivas das variáveis microbiológicas e físico-químicas. A análise de *cluster* foi utilizada como abordagem exploratória para identificar padrões de similaridade entre microrregiões. Os dados foram padronizados por z-score, e o agrupamento foi realizado pelo método de Ward utilizando distância euclidiana, que minimiza a variância intragrupo, ideal para a identificação de padrões multivariados de similaridade. A estrutura dos *clusters* foi visualizada por meio de dendrograma acoplado a *heatmap*, permitindo identificar, simultaneamente, a similaridade entre microrregiões e as variáveis que mais

contribuíram para a separação dos grupos. Posteriormente, as variações temporais das variáveis microbiológicas e físico-químicas foram comparadas entre microrregiões utilizando-se o teste de Kruskal–Wallis.

Em seguida, a variação sazonal da microbiota do pingo foi avaliada por meio do teste de Friedman, considerando medidas repetidas ao longo do tempo para cada uma das queijarias. Esse teste não paramétrico foi empregado por não assumir a normalidade dos dados e por ser apropriado para comparações entre mais de duas condições relacionadas. Para as variáveis que apresentaram efeito global significativo, comparações pareadas entre campanhas consecutivas foram realizadas empregando-se o teste de Wilcoxon, com correlação de Holm, para múltiplas comparações.

Por fim, as associações entre os parâmetros físico-químicos, pH e concentração de NaCl e as contagens microbiológicas foram investigadas por meio da correlação de Spearman, aplicada separadamente para cada campanha de coleta, bem como para as variações temporais ( $\Delta$ ) entre campanhas consecutivas. Em todas as análises, adotou-se um nível de significância de 5%.

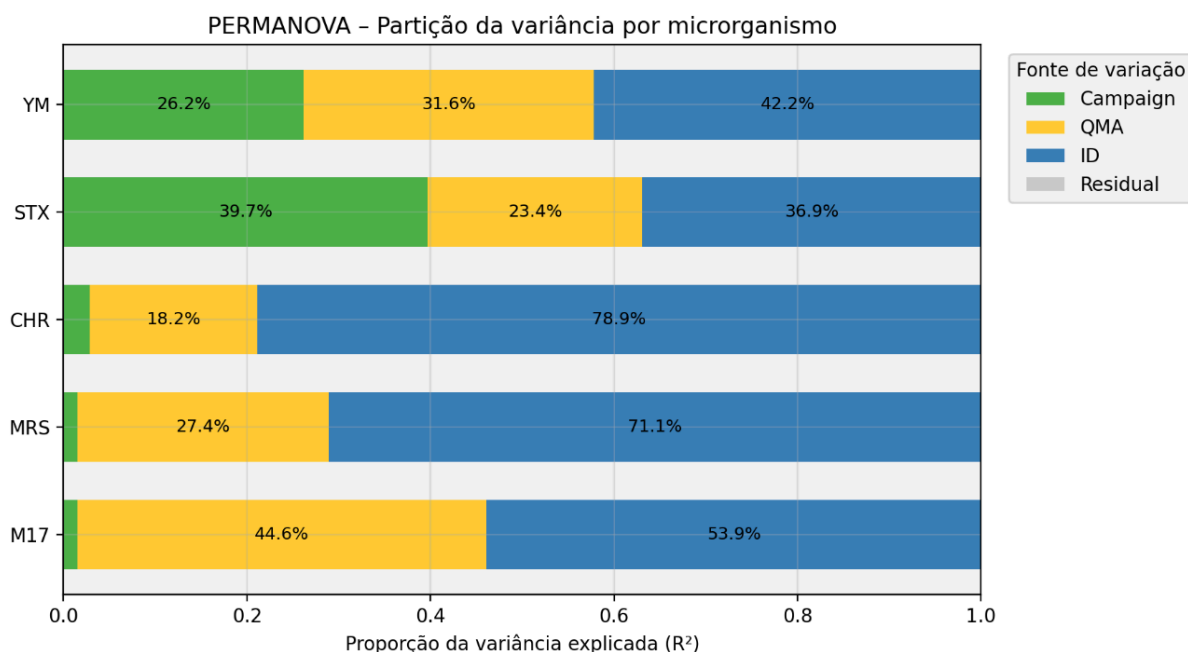
Os dados foram organizados, processados e analisados utilizando-se a biblioteca Pandas em Python (MCKINNEY, 2010). Os *scripts* empregados nas análises estatísticas e gráficas foram gerados com apoio do ChatGPT, sendo revisados criticamente, ajustados e validados individualmente pelo autor, assegurando a adequação ao desenho experimental, a consistência metodológica e a correta interpretação dos resultados.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Partição da variação das contagens microbiológicas

A partição da variância das contagens microbiológicas do pingo revelou que a principal fonte de variação difere entre os grupos microbianos analisados (Figura 4). Observou-se que, para as bactérias do ácido lático cultivadas nos meios M17 e MRS, bem como para os coliformes cultivados em *Chromocult Coliform Agar* (CHR), a maior parcela da variância foi explicada pela queijaria individual. Em contraste, para *Staphylococcus aureus* (STX), cultivadas em meio *Compact Dry XSA*, verificou-se contribuição expressiva da campanha de coleta, indicando uma maior sensibilidade desse grupo microbiano às variações sazonais. Bolores e leveduras (YM) apresentaram um padrão intermediário, com efeitos combinados da queijaria e campanha, sugerindo que tanto fatores locais quanto temporais atuam de forma relevante sobre esses microrganismos.

Figura 4 - Partição da variância das contagens microbiológicas do pingo obtida por PERMANOVA, apresentada separadamente para cada grupo microbiano



Fonte: Elaboração própria (2025).

Nota: As barras empilhadas horizontais representam a proporção da variância total (R<sup>2</sup>) explicada pelos fatores sazonalidade (*Campaign*), microrregião (*QMA*), queijaria (*ID*) e pelo componente residual, calculada a partir de matriz de distância euclidiana das contagens expressas em log<sub>10</sub>.

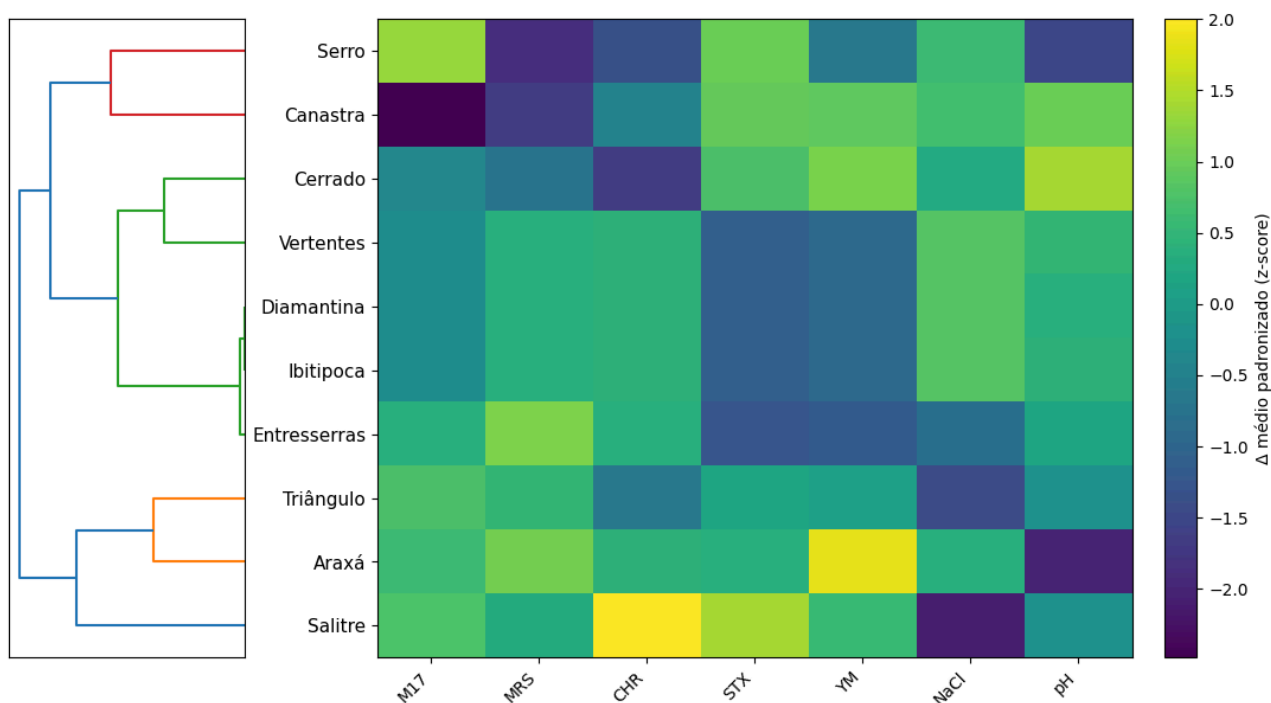
A microrregião produtora foi um fator que explicou uma fração menor da variância para todos os grupos analisados, indicando que diferenças regionais amplas exercem impacto limitado quando comparadas às particularidades de cada queijaria e às variações temporais.

Ressalta-se que, na aplicação univariada da PERMANOVA, a variância tende a ser matematicamente alocada quase integralmente aos fatores incluídos no modelo, de modo que a elevada proporção explicada não implica ausência de variabilidade residual, mas reflete a estrutura matemática do método.

## 4.2 Padrões espaciais e microrregionais

A análise de cluster hierárquico das variações temporais médias das variáveis microbiológicas e físico-químicas não evidenciou um agrupamento consistente das amostras de pingo por microrregião produtora do QMA (Figura 5).

Figura 5 - Padrões de similaridade entre microrregiões do QMA com base nas variações temporais do pingo



Fonte: Elaboração própria (2025).

Nota: Dendrograma hierárquico (método de Ward, distância euclidiana) acoplado a *heatmap* das variações médias padronizadas (z-score) entre campanhas consecutivas das variáveis microbiológicas e físico-químicas do pingo em diferentes microrregiões do QMA.

Embora tenham sido observados padrões de similaridade entre algumas microrregiões, essas associações foram limitadas e não refletem uma separação clara baseada na origem geográfica. A confirmação estatística desses padrões indicou diferença significativa entre clusters apenas para bolores e leveduras (Kruskal-Wallis,  $p = 0,025$ ).

Em contraste, a comparação entre microrregiões produtoras do QMA não evidenciou diferenças estatisticamente significativas para nenhuma das variáveis microbiológicas e parâmetros físico-químicos avaliados, conforme demonstrado pelo teste de Kruskal-Wallis aplicado às variações temporais médias entre campanhas (Tabela 1), com valores superiores a 0,05 em todos os casos.

Tabela 1 - Resultados do teste de Kruskal-Wallis para comparação das variações temporais ( $\Delta$ ) entre campanhas consecutivas das contagens microbiológicas e dos parâmetros físico-químicos do pingo entre microrregiões produtoras do QMA nas campanhas

Variável	H (Kruskal-Wallis)	p-valor	Diferença entre microrregiões
M17 (LAB)	5,24	0,813	não
MRS (LAB)	2,87	0,969	não
CHR (Coliformes)	0,75	0,999	não
STX ( <i>S. aureus</i> )	6,41	0,699	não
YM (Bolores e Leveduras)	10,13	0,340	não
NaCl	1,39	0,998	não
pH	4,27	0,893	não

Fonte: Elaboração própria (2025).

Esses resultados sugerem que, embora variações ambientais mais amplas exerçam influência sobre as características sensoriais do QMA, sua contribuição para a variação temporal da microbiota do pingo é relativamente modesta quando comparada às particularidades de cada queijaria. Diante da ausência de efeito microrregional consistente, as análises subsequentes foram conduzidas considerando cada queijaria como réplica biológica independente, mantendo-se o pareamento temporal das observações.

Esses resultados preconizam que, embora fatores territoriais possam influenciar características do Queijo Minas Artesanal descritas na literatura, a variação temporal da

microbiota do pingo observada neste estudo é mais fortemente determinada pelas particularidades de cada queijaria.

Esses resultados sugerem que a variação temporal da microbiota do pingo é mais fortemente influenciada pelas particularidades de cada queijaria do que por fatores associados ao recorte regional de origem do queijo.

### 4.3 Variação sazonal da microbiota

A avaliação da variação sazonal por meio do teste de Friedman, considerando o pareamento temporal das amostras por queijaria, indicou que as contagens microbiológicas do pingo não permanecem estáveis ao longo do tempo, respondendo de forma diferenciada às mudanças entre campanhas de coleta (Tabela 2). Foram detectadas variações significativas para as bactérias lácticas cultivadas em MRS, para *Staphylococcus aureus*, para bolores e leveduras, bem como para o pH do pingo.

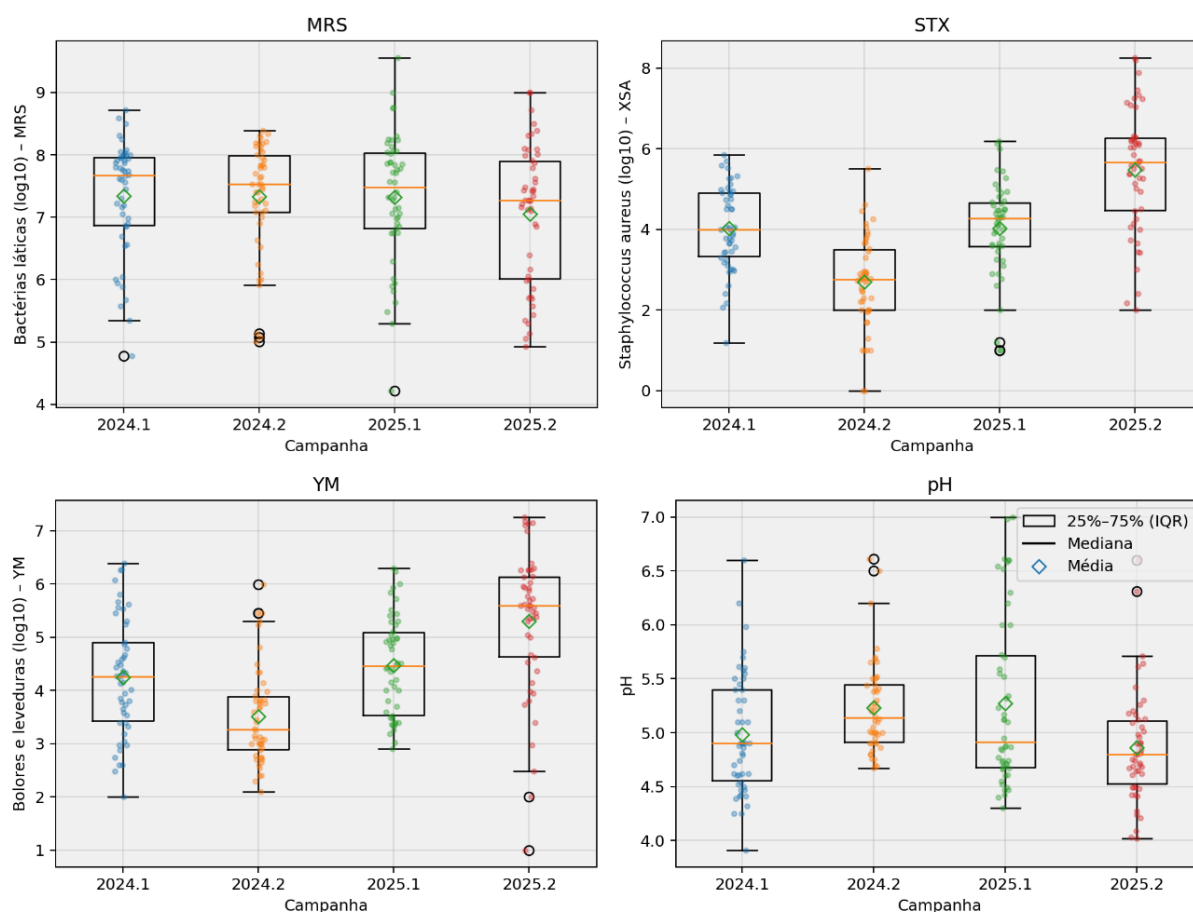
Tabela 2 - Teste global de Friedman aplicado às contagens microbiológicas e aos parâmetros físico-químicos do pingo para avaliar variações entre as estações de coleta, considerando medidas repetidas nas mesmas queijarias

Variável	Qui-quadrado (Friedman)	p-valor
M17 (LAB)	3,33	0,344
MRS (LAB)	10,38	0,016
CHR (Coliformes)	7,06	0,070
STX ( <i>S. aureus</i> )	72,23	< 0,001
YM (Bolores e Leveduras)	34,22	< 0,001
NaCl	4,92	0,178
pH	22,07	< 0,001

Fonte: Elaboração própria (2025).

A representação gráfica das trajetórias temporais por queijaria evidenciou deslocamentos sistemáticos nas distribuições dessas variáveis entre campanhas, acompanhados por padrões individuais relativamente consistentes (Figura 6). Esses resultados evidenciam a existência de efeito temporal associado à sazonalidade, indicando que alterações ambientais ao longo do ano influenciam a dinâmica microbiana do pingo.

Figura 6 - Box Plots das variáveis que apresentaram variação global entre campanhas



Fonte: Elaboração própria (2025).

Nota: As caixas representam o intervalo interquartil (25-75%), a linha central indica a mediana, o losango representa a média e os pontos correspondem às observações individuais das queijarias ao longo das campanhas. A campanha 2024.1 representa a estação chuvosa, e 2024.2, a estação seca, bem como a campanha de 2025.1 representa a estação chuvosa, e 2025.2, a estação seca.

Em particular, *Staphylococcus aureus* (STX) e bolores e leveduras (YM) mostraram elevada sensibilidade às mudanças sazonais, com diferenças estatisticamente significativas em todas as transições avaliadas entre campanhas consecutivas, conforme demonstrado pelas comparações pareadas realizadas pelo teste de Wilcoxon, com correção de Holm, para múltiplas comparações (Tabela 3).

As comparações pareadas também revelaram que, enquanto as contagens de *Staphylococcus aureus* (STX) e de bolores e leveduras (YM) apresentaram variações progressivas e significativas ao longo do tempo, as bactérias lácticas cultivadas em MRS exibiram um padrão distinto, e o pH apresentou variações pontuais entre campanhas específicas. Embora o teste global de Friedman tenha indicado efeito temporal para MRS (Tabela 2), as comparações entre duas campanhas consecutivas não atingiram significância

estatística após correção para múltiplas comparações (Tabela 3), sugerindo a ocorrência de variações de baixa magnitude distribuídas ao longo do período avaliado. Esse padrão é típico de variáveis com tendência temporal suave, nas quais o efeito se distribui ao longo do tempo, sem transições abruptas entre campanhas adjacentes. Esse comportamento indica maior estabilidade temporal das bactérias lácticas quando comparadas a microrganismos potencialmente indesejáveis, reforçando o papel do pingó como cultura iniciadora relativamente estável, mesmo sob condições ambientais variáveis.

Tabela 3 - Análise longitudinal pareada entre campanhas consecutivas das contagens microbiológicas e dos parâmetros físico-químicos (Concentração de NaCl e pH) que apresentaram efeito global pelo teste global de Friedman

Variável	Comparação	$\Delta$ média*	p (Holm)
MRS	2024.1 → 2024.2	-0,003	0,147
MRS	2024.2 → 2025.1	-0,013	1,000
MRS	2025.1 → 2025.2	-0,268	0,850
<b>STX</b>	<b>2024.1 → 2024.2</b>	<b>-1,331</b>	<b>&lt; 0,001</b>
<b>STX</b>	<b>2024.2 → 2025.1</b>	<b>+1,336</b>	<b>&lt; 0,001</b>
<b>STX</b>	<b>2025.1 → 2025.2</b>	<b>+1,450</b>	<b>&lt; 0,001</b>
<b>YM</b>	<b>2024.1 → 2024.2</b>	<b>-0,737</b>	<b>&lt; 0,001</b>
<b>YM</b>	<b>2024.2 → 2025.1</b>	<b>+0,957</b>	<b>&lt; 0,001</b>
<b>YM</b>	<b>2025.1 → 2025.2</b>	<b>+0,837</b>	<b>0,001</b>
<b>pH</b>	<b>2024.1 → 2024.2</b>	<b>+0,251</b>	<b>0,002</b>
<b>pH</b>	<b>2024.2 → 2025.1</b>	<b>+0,038</b>	<b>0,006</b>
pH	2025.1 → 2025.2	-0,409	0,496

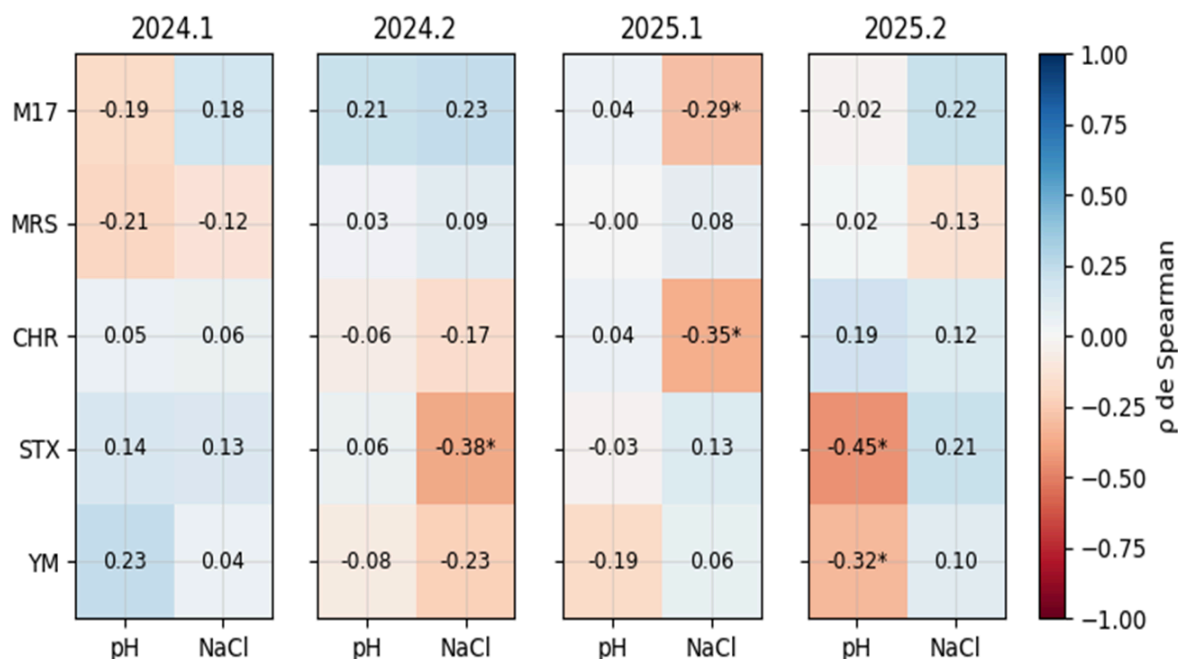
Fonte: Elaboração própria (2025).

Nota: Os valores representam a diferença entre as médias ( $\Delta$  média) de campanhas consecutivas e valores de  $p < 0,05$  estão indicados em negrito.

#### 4.4 Associação com parâmetros físico-químicos

A análise de correlação entre as variáveis microbiológicas e os parâmetros físico-químicos do pingó foi conduzida por meio do coeficiente de correlação de Spearman, considerando o conjunto completo de observações pareadas no tempo. Os resultados indicaram a existência de associações estatisticamente significativas entre algumas variáveis, evidenciando possíveis relações funcionais entre a dinâmica microbiana e as características físico-químicas do pingó (Figura 7). O mapa de correlação evidenciou associações positivas e negativas de diferentes magnitudes entre os grupos microbianos e os parâmetros pH e teor de NaCl, permitindo identificar padrões gerais de covariação (Figura 7).

Figura 7 - Heatmaps das matrizes de correlação de Spearman entre parâmetros físico-químicos (pH e Concentração de NaCl) e contagens microbiológicas do pingo apresentados por campanha



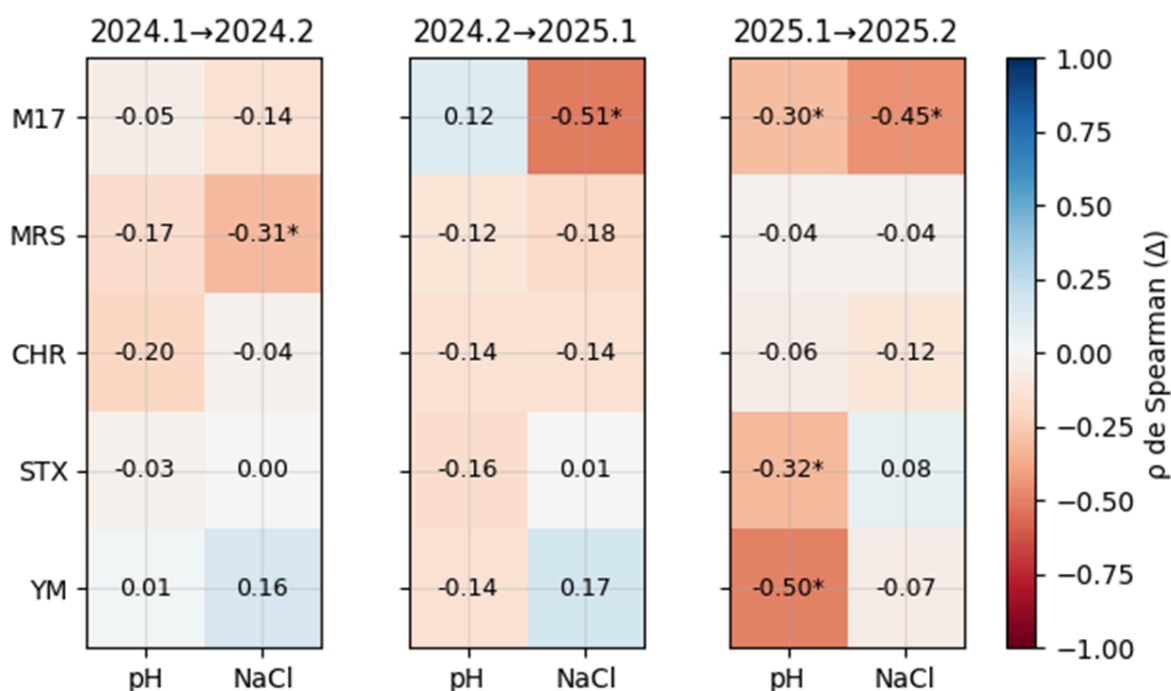
Fonte: Elaboração própria (2025).

Nota: Asteriscos indicam associações estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

Em particular, observou-se que alterações no pH estavam associadas a mudanças nas contagens de determinados grupos microbianos, enquanto o teor de NaCl apresentou correlações mais específicas, sugerindo efeito seletivo sobre microrganismos mais sensíveis às condições osmóticas.

A representação gráfica complementar das correlações significativas reforçou esses padrões, destacando as associações mais robustas entre as variáveis avaliadas e facilitando a visualização da direção e intensidade das relações observadas (Figura 8). Em conjunto, essas análises indicam que, embora o pingo apresente relativa estabilidade microbiológica, variações no pH e na concentração de NaCl não se associam de maneira uniforme às mudanças microbiológicas, sugerindo que essas relações variam conforme o período avaliado.

Figura 8 - Heatmaps das matrizes de correlação de Spearman entre as variações temporais ( $\Delta$ ) dos parâmetros físico-químicos (pH e NaCl) e das contagens microbiológicas do pingo, apresentados separadamente para cada transição entre campanhas



Fonte: Elaboração própria (2025).

Nota: Asteriscos indicam associações estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

#### 4.5 Efeitos espaciais, temporais e produtivos sobre a microbiota do pingo

A integração dos resultados obtidos por meio das abordagens analíticas utilizadas indica que a queijaria individual constitui o principal componente explicativo da variação quantitativa das contagens de bactérias lácticas e coliformes no pingo, enquanto a campanha de coleta exerce influência mais expressiva sobre a dinâmica de *Staphylococcus aureus* e de bolores e leveduras. Do mesmo modo, a contribuição da microrregião produtora mostrou-se secundária para todos os grupos microbiológicos avaliados, reforçando a ausência de um efeito consistente espacial em escala regional ampla.

Tendo em vista a influência do pingo na formação da microbiota do queijo (ISIDORIO, 2019; KAMIMURA *et al.*, 2020), Guimarães (2022) demonstra uma variação da microbiota do Queijo Minas Artesanal da Serra da Canastra entre as queijarias estudadas, apontando diferenças entre os processos de produção utilizados pelos queijeiros, o que reforça a influência do sistema produtivo local, que inclui práticas de manejo, condições higiênico-sanitárias e particularidades do ambiente de produção do QMA, sobre a composição microbiológica do pingo. Também, Hosken (2021), na obtenção de cepas de bactérias do

ácido láctico do Queijo Minas Artesanal produzido na região da Serra da Canastra e Serro, apontou uma variação da microbiota dos queijos presentes entre as propriedades produtoras, indicando como diferenças entre os produtores explicaram grande parte da variação da microbiota dos queijos, mais do que fatores gerais de região.

Ademais, embora coliformes representem microrganismos indicativos de higiene, sua maior variação nas contagens microbiológicas, associada à queijaria individual, sugere que, assim como as bactérias ácido-lácticas, sua presença no pingo está fortemente relacionada às práticas e condições específicas de cada queijaria, incluindo práticas de ordenha, higienização de utensílios e manejo do fermento natural (CALDEIRA *et al.*, 2025; CAMARGO *et al.*, 2021).

Adicionalmente, a variação temporal da microbiota durante as campanhas evidenciou comportamento dependente do grupo estudado, com maior sensibilidade sazonal observada para *Staphylococcus aureus* e bolores e leveduras, em contraste com a maior estabilidade apresentada pelas bactérias lácticas ao longo das campanhas. Estes resultados demonstram que o efeito da sazonalidade na microbiota do pingo pode ser quantitativamente mais expressivo para bolores e leveduras quando comparado a outros grupos microbianos, em conformidade com Martin e colaboradores (2023), que, no trabalho de caracterização da microbiota fúngica dos queijos artesanais produzidos na região da Canastra, indicam que a composição fúngica do Queijo Minas Artesanal é significativamente influenciada pela estação, pela fazenda e pela cidade de produção. Além disso, Valente e colaboradores (2024), em um estudo de queijos artesanais mineiros de quatro queijarias da microrregião Campo das Vertentes, em estação seca e chuvosa, com amostras de diferentes períodos de maturação do queijo, demonstram efeitos sazonais em *Staphylococcus aureus* e na contagem de bolores e leveduras. Os autores também sugerem que o período seco, provavelmente, favorece bolores e leveduras devido à temperatura ideal de crescimento e à maior dispersão de esporos no ar, assim como a persistência de *Staphylococcus spp.* na maturação do queijo indica uma recontaminação por meio dos manipuladores, considerando, também, que esses microrganismos podem tolerar a dessecação e a acidez.

A ausência de um agrupamento consistente por microrregião nas análises de cluster e a falta de diferenças significativas entre microrregiões (Kruskal–Wallis) indicam que as particularidades de cada queijaria são mais determinantes para a composição diária do pingo do que o recorte regional. Embora fatores regionais, como o clima, a vegetação e a tradição local, contribuam para características sensoriais do queijo, a variabilidade entre queijarias, provocada por diferenças de manejo e infraestrutura das propriedades, tende a

diluir padrões regionais claros no nível de avaliação da composição microbiana do pingo. Portanto, tratar cada queijaria como réplica biológica independente nas análises temporais reflete a realidade do alto grau de heterogeneidade entre produtores.

As associações entre os parâmetros físico-químicos e as contagens microbiológicas foram pontuais e dependentes do período avaliado. Como observado, reduções de pH estiveram associadas ao aumento de *Staphylococcus aureus* e bolores e leveduras apenas em períodos específicos, enquanto o NaCl apresentou associações fracas e inconsistentes, indicando que pH e teor de NaCl atuam contextualmente, e não como determinantes primários da estrutura microbiana do pingo. Também, Campos e colaboradores (2021) apontam como o pH não teve nenhuma correlação com as contagens microbiológicas obtidas em seu estudo com amostras de leite, pingo, coalhada e queijo da microrregião da Serra da Canastra, avaliadas quanto à presença de coliformes totais, *Escherichia coli*, *Staphylococcus* coagulase positiva e medição de pH.

Em suma, os resultados encontrados possuem algumas implicações práticas, uma vez que a queijaria individual explica grande parcela da variação em bactérias do ácido lático e coliformes. Intervenções de biossegurança e boas práticas direcionadas a cada estabelecimento, como melhorias na higiene da ordenha, protocolos padronizados para higienização de utensílios, controle de temperatura e condições de armazenamento do pingo, são medidas promissoras que podem reduzir a variabilidade indesejada e mitigar riscos sanitários sem eliminar a tipicidade microbiana local. Ademais, por apresentar sensibilidade sazonal, o monitoramento periódico de *Staphylococcus aureus* e bolores e leveduras, especialmente em campanhas associadas a condições ambientais favoráveis ao crescimento desses grupos, pode permitir ações preventivas que evitem impactos negativos sobre a qualidade e segurança do produto.

Ainda que os métodos dependentes de cultivo utilizados quantifiquem e não revelem a composição taxonômica fina ou funções específicas de cepas, como mecanismos moleculares ou presença de cepas produtoras de enterotoxinas de *Staphylococcus aureus* (RIBEIRO *et al.*, 2025), o presente estudo aponta caminhos complementares para pesquisa e ação técnica: a caracterização genômica de cepas representativas de pingo por queijaria; programas de vigilância de *Staphylococcus aureus* e triagem de genes de enterotoxina em queijarias com histórico de contagens elevadas, reduzindo riscos à saúde pública; e estudos experimentais de intervenção, com ensaios controlados de higienização, armazenamento e manejo do pingo, que ajudariam a estabelecer relações causais entre práticas produtivas e padrões microbianos observados.

Portanto, ao buscar compreender quais fatores influenciam a variabilidade nas contagens microbiológicas de diferentes grupos entre as queijarias, as microrregiões produtoras do Queijo Minas Artesanal e as diferentes estações de seca e chuva, o presente estudo contribui para a avaliação de um padrão microbiológico no fermento endógeno utilizado nas queijarias que, diretamente, impacta na composição microbiológica do queijo e, portanto, nas suas características como produto final. Tal elucidação do sistema microbiano na produção do queijo não só abre portas para estudos mais aprofundados, mas também contribui para a criação de uma identidade queijeira local. Além disso, contribui para a melhoria do queijo artesanal como produto e promove a descoberta de aplicações tecnológicas que respeitem a história e tradição presentes em sua produção.

## 5 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo permitem concluir que a variabilidade da microbiota do pingo é determinada, primariamente, pela unidade produtora individual (queijaria) e pela sazonalidade. A queijaria exerce influência predominante sobre os grupos de bactérias do ácido lático e coliformes, indicando que o manejo interno de cada propriedade é o fator que mais molda o perfil fermentativo do pingo. Em contrapartida, a variação sazonal atua de forma significativa sobre as contagens de *Staphylococcus aureus*, bolores e leveduras, demonstrando que fatores climáticos interferem diretamente na carga de microrganismos indesejáveis. A microrregião produtora, embora relevante, assume um papel secundário na explicação da diversidade observada, evidenciando que a identidade biológica do fermento é forjada prioritariamente no ambiente específico de cada queijaria.

Essas evidências possuem aplicações práticas imediatas para produtores, órgãos de fiscalização e assistência técnica. Para os produtores artesanais, os dados indicam que as estratégias de controle devem ser customizadas para a realidade de cada unidade, com atenção redobrada às variações sazonais, para garantir a estabilidade tecnológica e a segurança sanitária do fermento. Para instituições como o IMA e a EMATER-MG, os resultados oferecem subsídios técnicos para o refinamento de regulamentos e protocolos de Boas Práticas de Fabricação (BPF), permitindo que a normatização respeite as particularidades locais e temporais que conferem tipicidade ao Queijo Minas Artesanal. Assim, o estudo fundamenta a valorização do produto com base em sua ecologia microbiana e na segurança alimentar.

## REFERÊNCIAS

- 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**, Viçosa, v. 72, n. 5, p. 1845-1860, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1678-4162-11766>. Acesso em: 15 out. 2025.
- BRASIL. **Lei nº 13.680, de 14 de junho de 2018**. Altera a Lei n. 1.283, de 18 de dezembro de 1950, para dispor sobre o processo de fiscalização de produtos alimentícios de origem animal produzidos de forma artesanal. Brasília, DF: Diário Oficial da União, 2018.
- BRASIL. **Lei nº 13.860, de 18 de julho de 2019**. Dispõe sobre a elaboração e a comercialização de queijos artesanais e dá outras providências. Brasília, DF: Diário Oficial da União, 2019.
- CALDEIRA, L. A. *et al.* Effect of pingo on the characteristics of artisanal cheese during ripening: Lactic acid bacteria (matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry), microbiological, and physicochemical. **Journal of Dairy Science**, v. 108, n. 9, p. 9265-9276, 2025. Disponível em: [https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(25\)00448-5/fulltext](https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(25)00448-5/fulltext). Acesso em: 23 nov. 2025.
- CAMARGO, A. C. *et al.* Microbiological quality and safety of Brazilian artisanal cheeses. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 52, n. 1, p. 393-409, 2021. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s42770-020-00416-9>. Acesso em: 19 nov. 2025.
- CAMPOS, G. Z. *et al.* Microbiological characteristics of canastra cheese during manufacturing and ripening. **Food Control**, v. 121, art. 107598, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107598>. Acesso em: 29 dez. 2025.
- 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**, v. 99, n. 8, p. 6086-6097, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-10579>. Acesso em: 14 nov. 2025.
- CHAVES, A. C. S. D. *et al.* **Queijos artesanais brasileiros**. Brasília, DF: Embrapa; Sebrae, 2021. 15 p. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1135036>. Acesso em: 15 out. 2025.
- COELHO, M. C.; MALCATA, F. X.; SILVA, C. C. G. Lactic Acid Bacteria in Raw-Milk Cheeses: From Starter Cultures to Probiotic Functions. **Foods**, v. 11, n. 15, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/11/15/2276>. Acesso em: 19 nov. 2025.
- DAHAL, P. **Spread Plate Method - Definition, Principle, Procedure, Uses**. Microbe Notes, 2022. Disponível em: <https://microbenotes.com/spread-plate-technique/>. Acesso em: 26 nov. 2025.

DARGÈRE, A. F. *et al.* Determinação de parâmetros do queijo minas artesanal associados com as regiões de origem em Minas Gerais, Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 75, n. 3, p. 395-406, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1678-4162-12851>. Acesso em: 15 jun. 2025.

DORES, M. T. das *et al.* Enterotoxigenic potential of *Staphylococcus aureus* isolated from Artisan Minas cheese from the Serra da Canastra - MG, Brazil. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 33, n. 2, p. 271-275, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612013005000033>. Acesso em: 15 jun. 2025.

EMATER-MG. **Minas Gerais possui 32,6 mil agroindústrias familiares**. EMATER Minas Gerais, 2024. Disponível em: <https://www.emater.mg.gov.br/portal.do/site-noticias/minas-gerais-possui-32-6-mil-agroindustrias-familiares/>. Acesso em: 05 nov. 2025.

GOBBETTI, M. *et al.* Drivers that establish and assembly the lactic acid bacteria biota in cheeses. **Trends in Food Science & Technology**, v. 78, p. 244-254, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.06.010>. Acesso em: 10 nov. 2025.

GRIFT, D. V. de *et al.* Investigation of seasonal microbiome changes in raw milk between conventional and organic farming practices. **Journal of Dairy Science**, v. 108, n. 12, p. 13165-13178, 2025. Disponível em: [https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(25\)00805-7/fulltext](https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(25)00805-7/fulltext). Acesso em: 24 nov. 2025.

GUIMARÃES, J. P. M. **Caracterização microbiológica do queijo Minas artesanal da Canastra como ferramenta para definição da microbiota terroir**. 2022. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2022. Disponível em: <https://repositorio.ufla.br>. Acesso em: 27 dez. 2025.

HOSKEN, B. de O. **Bactérias lácticas de queijos Minas artesanais com potencial bioprotetor para aplicação industrial**. 2021. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2021. Disponível em: <https://locus.ufv.br/handle/123456789/31374>. Acesso em: 27 dez. 2025.

INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. **IMA abre consultas públicas sobre regulamentos técnicos de identidade e qualidade do Queijo Minas Artesanal**. Belo Horizonte: IMA, 2023. Disponível em: <https://ima.mg.gov.br>. Acesso em: 16 jun. 2025.

ISIDORIO, W. R. **Caracterização da microbiota dos queijos artesanais provenientes da Serra da Canastra - MG e da cultura iniciadora natural utilizada em sua produção**. 2019. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.11606/D.9.2019.tde-14102022-145043>. Acesso em: 27 dez. 2025.

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**, v. 89, art. 103453, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103453>. Acesso em: 27 dez. 2025.

KAMIMURA, B. A. *et al.* Large-scale mapping of microbial diversity in artisanal Brazilian cheeses. **Food Microbiology**, v. 80, p. 40-49, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.12.014>. Acesso em: 11 nov. 2025.

MARTIN, J. G. P. *et al.* Seasonal variation in the Canastra cheese mycobiota. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, art. 1076672, 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36817100/>. Acesso em: 24 nov. 2025.

MENESES, J. N. C. **Queijo artesanal de minas**: patrimônio cultural do Brasil. Belo Horizonte: Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional, 2006. Disponível em: <http://portal.iphan.gov.br>. Acesso em: 15 out. 2025.

MCKINNEY, W. Data structures for statistical computing in Python. In: PYTHON IN SCIENCE CONFERENCE (SCIPY), 9., 2010, Austin. **Proceedings** [...]. Austin: SciPy, 2010. p. 51-56. Disponível em: <https://doi.org/10.25080/Majora-92bf1845-00a>. Acesso em: 05 jan. 2026.

MINAS GERAIS. **Decreto nº 48.024, de 19 de agosto 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 do Executivo, 2020.

MINAS GERAIS. **Lei nº 23.157, de 18 de dezembro de 2018**. Dispõe sobre a produção e a comercialização dos queijos artesanais de Minas Gerais. Belo Horizonte: Diário do Executivo, 2018.

MINAS GERAIS. **Portaria IMA nº 2.373, de 26 de abril de 2025**. Estabelece os requisitos para produção e comercialização de queijos artesanais no Estado de Minas Gerais. Belo Horizonte: Diário Oficial do Estado de Minas Gerais, 2025a.

MINAS GERAIS. **Portaria IMA nº 2.303, de 20 de maio de 2024**. Estabelece o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Queijo Minas Artesanal. Belo Horizonte: Diário Oficial do Estado de Minas Gerais, 2024.

MINAS GERAIS. **Queijos Artesanais**. Governo de Minas, 2025b. Disponível em: <https://www.mg.gov.br/agricultura/pagina/servicos/queijos-artesanais>. Acesso em: 05 nov. 2025.

NETTO, M. M. **A geografia do queijo minas artesanal**. 2011. 420 f. Tese (Doutorado em Geografia) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Rio Claro, 2011. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br>. Acesso em: 08 out. 2025.

NEVIANI, E. *et al.* Microbiota of Cheese Ecosystems: A Perspective on Cheesemaking. **Foods**, v. 14, n. 5, 2025. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/14/5/830>. Acesso em: 24 nov. 2025.

PENNA, A. L. B.; GIGANTE, M. L.; TODOROV, S. D. Artisanal Brazilian Cheeses-History, Marketing, Technological and Microbiological Aspects. **Foods**, v. 10, n. 7, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/foods10071562>. Acesso em: 16 jun. 2025.

PERKINS, E. **Food Microbiology: Fundamentals, Challenges and Health Implications**. [S. l.]: Lulu Press, Inc., 2019.

PINEDA, A. P. A. *et al.* Brazilian Artisanal Cheeses: Diversity, Microbiological Safety, and Challenges for the Sector. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.666922>. Acesso em: 23 nov. 2025.

RIBEIRO, A. C. *et al.* Clarifying the Dual Role of Staphylococcus spp. in Cheese Production. **Foods**, v. 14, n. 22, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/foods14223823>. Acesso em: 29 dez. 2025.

SANT'ANNA, F. M. de. **Microbioma do queijo Minas artesanal da Serra do Salitre ao longo do período de maturação**. 2019. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2019. Disponível em: <https://hdl.handle.net/1843/31534>. Acesso em: 14 nov. 2025.

SANTOS, M. A. de A. *et al.* A importância da microbiota adicionada pelo pingo na produção de queijo minas artesanal. In: SIMPÓSIO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 4., 2025, [s. l.]. **Anais [...]**. Disponível em: <https://static.even3.com>. Acesso em: 18 nov. 2025.

SILVA, A. do A. D. *et al.* Physicochemical Profile of Canastra Cheese Inoculated with Starter Cultures of *Kluyveromyces lactis* and *Torulaspora delbrueckii*. **Foods**, v. 14, n. 1, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/foods14010121>. Acesso em: 11 nov. 2025.

SILVA, N. da *et al.* **Manual de Métodos de Análises Microbiológicas de Alimentos**. 3. ed. São Paulo: Livraria Varela Ltda., 2007.

UNESCO. **Traditional ways of making Artisan Minas Cheese in Minas Gerais**. [2024]. Disponível em: <https://ich.unesco.org/en/RL/traditional-ways-of-making-artisan-minas-cheese-in-minas-gerais-02102>. Acesso em: 16 jun. 2025.

VALENTE, G. L. C. *et al.* Microbiological and physicochemical characterization of Minas artisanal cheese from the Campo das Vertentes region (Brazil) during ripening in rainy and dry seasons. **Vigilância Sanitária em Debate**, Rio de Janeiro, v. 12, p. 1-6, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.22239/2317-269X.02357>. Acesso em: 28 dez. 2025.