

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental  
Programa de Pós-graduação em Ciências dos Alimentos

**Caracterização funcional genômica dos micro-organismos  
predominantes no fermento endógeno “pingo” do queijo da  
Serra da Canastra**

Débora Preceliano de Oliveira

Dissertação para obtenção do Título de  
Mestre em Ciência dos Alimentos.  
Orientador: Prof. Dr. Christian Hoffmann

São Paulo  
2020

**Resumo: OLIVEIRA, D. P. Caracterização funcional genômica dos micro-organismos predominantes no fermento endógeno “pingo” do queijo da Serra da Canastra.** 2020. 048c. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2020.

O queijo minas artesanal é reconhecido como Patrimônio Cultural Imaterial Brasileiro, sendo reconhecidas sete regiões produtoras de queijo artesanal em Minas Gerais, dentre elas, a Serra da Canastra. Durante a produção do queijo da Serra da Canastra é utilizada uma cultura iniciadora da fermentação, denominada popularmente como “pingo”, o qual é proveniente de parte do soro eliminado da produção do queijo do dia anterior. Estudos sobre a composição desse fermento endógeno estão focados, principalmente, na identificação das bactérias lácticas, através de métodos de análise microbiológica tradicionais e que apresentam diversas limitações quando comparado com técnicas moleculares. O presente estudo tem como objetivo caracterizar o genoma dos micro-organismos predominantes neste fermento endógeno utilizado na produção do queijo artesanal da Serra da Canastra (MG). Para realização do estudo foram coletadas amostras de pingo de 10 produtores com histórico de fabricação de queijos de boa qualidade e provenientes das cidades de Medeiros e São Roque de Minas. Uma coleção de estirpes foi feita através do isolamento aeróbico de bactérias presentes no pingo, em meios de cultura diversos, escolhidos para maximizar o potencial metabólico presente na cultura iniciadora e aumentar a diversidade microbiana dos isolados. Foram obtidos 464 isolados bacterianos diferenciados morfológicamente e pela coloração de Gram. Posteriormente, a coleção de estirpes foi triada através do sequenciamento do gene codificante para o rDNA 16S. Foram selecionados 13 isolados representativos para ter seu genoma sequenciado, sendo que, os principais gêneros encontrados foram *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* e *Streptococcus*. Todos os genomas selecionados, foram caracterizados quanto à sua função, apresentando dados interessantes quanto à produção de alguns compostos, como o diacetil, presente em vários queijos ao redor do mundo, e, extremamente relevante para o desenvolvimento de sabor e aroma. Além de levantar hipóteses importantes em relação à um possível controle biológico do sistema, pela produção de bacteriocinas, que são conhecidas na literatura por reduzirem e/ou inibirem a população de cepas patogênicas, como *Listeria monocytogenes*. O presente estudo, é o primeiro a caracterizar o genoma das cepas fundamentais para a fermentação láctea que ocorre na produção do queijo. Estudos como este, contribuem para a criação de uma identidade e/ou um padrão de origem dos queijos Canastra, além de contribuir para a melhoria do produto e promoverem a descoberta de novas aplicações tecnológicas.

Palavras chave: queijos artesanais. Serra da Canastra; “pingo”; caracterização genômica; fermentação.

**Abstract:** OLIVEIRA, D. P. **Functional genomic characterization of most microorganisms in the endogenous fermento “pingo” of Serra da Canastra cheese** 2020. 048c. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2020.

The artisanal Minas cheese was recognized like a Brazilian Intangible Cultural Heritage, there are seven recognized regions that produce the artisanal cheese in Minas Gerais, among them Serra da Canastra. During the production of Serra da Canastra cheese is used a starter culture of fermentation, popularly known as "pingo", that is a whey part eliminated from the previous day's production. Studies about the endogenous yeast composition are specially focused in lactic bacteria, using traditional methods of microbiological analysis. This study aims to characterize the microorganisms genome predominant in this endogenous yeast used in the artisanal Serra da Canastra cheese production. For this study, samples were collected from 10 producers with a history of manufacturing good quality cheese from Medeiros and São Roque de Minas cities. A collection of strains was made through the isolation of bacteria living in pingo of 10 producers, using different culture medias, have been chosen to maximize the metabolic pathways potential present in the starter culture and increase the microbial diversity of the isolates. We obtained 464 bacterial isolates, based on morphological characteristics as well as Gram staining. Subsequently, the strain collection was screened by sequencing the coding gene for the 16S rDNA. Sequencing was used to select 13 representative isolates for full genome, and the main genus found were *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* and *Streptococcus*. All selected genomes were characterized as to their function, presenting interesting data regarding the production of some compounds, such as diacetyl, present in various cheeses around the world, and extremely relevant to their flavor and aroma. In addition to raising important hypotheses in relation to a possible biological control of the system, for the production of bacteriocins, which are known in the literature to reduce and/or inhibit the population of pathogenic strains such as *Listeria monocytogenes*. The present study is the first to characterize the genome of strains that are fundamental for lactic fermentation that occurs in the production of Canastra cheese. Studies like this, contribute to the creation of an identity and/or a standard of origin for Canastra cheeses, in addition to contributing to the improvement of the product and promoting the discovery of new technological applications.

**Keywords:** artisanal cheeses. Serra da Canastra; “pingo”; genomic characterization; fermentation.