

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DOS ALIMENTOS

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-
QUÍMICA DE QUEIJO MUSSARELA FATIADO À
GRANEL E EMBALADO À VÁCUO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Joviana Ceolin Etges

Santa Maria, RS, Brasil

2011

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE
QUEIJO MUSSARELA FATIADO À GRANEL E EMBALADO
À VÁCUO**

por

Joviana Ceolin Etges

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**

Orientador: Prof.^a Leadir Lucy Martins Fries, PhD

Santa Maria, RS, Brasil

2011

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE QUEIJO
MUSSARELA FATIADO À GRANEL E EMBALADO À VÁCUO**

elaborada por
Joviana Ceolin Etges

Como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos

COMISSÃO EXAMINADORA

**Profª. PhD Leadir Lucy Martins Fries
(Presidente/Orientador)**

**Prof(a) Dr(a). Helena Sebastiany Coelho
(IFFarroupilha)**

**Prof(a) Dr(a). Neila Silvia Pereira dos Santos Richards
(UFSM)**

Santa Maria, 30 de março de 2011

*Dedico à minha mãe, com muito amor e carinho, pela dedicação
imensurável, apoio incondicional, e incentivo em todos
os momentos da minha vida.*

AGRADECIMENTOS

À minha mãe, que sempre lutou muito para dar educação a seus filhos, a quem eu devo tudo que sou hoje.

Aos demais familiares, em especial à minha avó e meus irmãos.

Ao Rodrigo, por todos os momentos em que esteve ao meu lado.

À professora Leadir L. M. Fries pela orientação e toda contribuição para realização deste trabalho.

Ao professor Ernesto H. Kubota, meu co-orientador pela atenção e sugestões.

À chefia do Centro de Educação Superior Norte do Rio Grande do Sul, professores Genésio Mário da Rosa e Rogério Fôlha Bermudes, que me proporcionaram a chance de realizar este trabalho.

À professora Terimar Ruoso Moresco pelo apoio e incentivo desde a idéia inicial do projeto.

Ao colega Aldoir pela sua disposição em sempre ajudar.

Às colegas de trabalho e amigas Pâmela, Mabel e Débora, por estarem comigo nos momentos mais difíceis e pelos ótimos momentos de descontração.

À colega e amiga Marina, peça fundamental para o desenvolvimento deste trabalho.

À Claudinha, minha grande amiga, que foi meu braço direito durante grande parte desta etapa da minha vida.

Ao Cristian, aluno de Iniciação Científica, que me auxiliou do início ao fim das análises.

Às amigas Graciane e Mariéle, por todas as vezes que pude contar com elas durante este período.

Aos estagiários do CEMICRO, Ricardo e Angélica, pela colaboração e amizade.

Aos colegas de trabalho do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFSM, Carlos Rubini, Liana, Ana Paula, Marialene e Moisés por me auxiliarem sempre que precisei.

À Lia, sempre muito prestativa nos auxiliando com as matrículas, relatórios, entre outros.

À Universidade Federal de Santa Maria e ao Curso de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela oportunidade de realizar este trabalho.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos
Universidade Federal de Santa Maria

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE QUEIJO MUSSARELA FATIADO À GRANEL E EMBALADO À VÁCUO

AUTORA: JOVIANA CEOLIN ETGES
ORIENTADORA: LEADIR LUCY MARTINS FRIES
Co-Orientador: ERNESTO HASHIME KUBOTA
Data e Local da Defesa: Santa Maria, 30 de março de 2011.

Resumo

O queijo Mussarela é um produto de elevado consumo, porém muito susceptível à contaminação microbiológica. Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica e físico-química do queijo Mussarela fatiado à granel e embalado à vácuo, comercializado em supermercados da região Noroeste do estado do Rio Grande do Sul. Foram avaliadas 5 marcas de queijo Mussarela embalado à vácuo (A, B, C, D e E), totalizando 50 amostras, e uma marca comercializada à granel (F), totalizando 25 amostras. As análises microbiológicas realizadas foram: contagem de coliformes termotolerantes (45°C), *Salmonella sp.* e *Staphylococcus coagulase positiva*, em dois diferentes períodos, durante o prazo de validade (período I) e após o vencimento das amostras (período II). Também foram realizadas as análises de pH, teor de gordura e umidade. Os parâmetros físico-químicos classificaram as amostras como sendo queijos gordos e de média umidade e atenderam os padrões exigidos pela legislação brasileira. Os resultados microbiológicos mostraram que todas as amostras apresentaram-se dentro dos padrões para coliformes termotolerantes e *Staphylococcus coagulase positiva*, nos dois períodos de análise, porém, no período I, foi detectada a presença de *Salmonella sp.* em uma das marcas (16,67 %), encontrando-se imprópria para o consumo humano.

Palavras-chave: Contaminação microbiológica; Coliformes fecais; *Salmonella sp.*; *Staphylococcus coagulase positiva*.

ABSTRACT

Master Degree Dissertation
Graduate Program in Science and Food Technology
Federal University of Santa Maria, RS, Brazil

MICROBIOLOGICAL QUALITY AND PHYSICAL CHEMISTRY OF BULK MOZZARELLA CHEESE SLICED AND VACUUM PACKED

AUTHOR: JOVIANA CEOLIN ETGES
ADVISER: LEADIR LUCY MARTINS FRIES
CO- ADVISER: ERNESTO HASHIME KUBOTA
Place and Date to Defense: Santa Maria, March 30th, 2011

Abstract

The mozzarella cheese is a product of high consumption, but very susceptible to microbiological contamination. Therefore, this study aimed to evaluate the microbiological and physical-chemistry of sliced mozzarella cheese in bulk and vacuum-packed, sold in supermarkets in the Northwest region of Rio Grande do Sul State. We evaluated five marks (50 samples) of vacuum-packed mozzarella cheese (A, B, C, D and E) and a mark (25 samples) sold in bulk (F). Microbiological tests were performed according to Normative Instruction 62, August 26th, 2003: fecal coliform counts (45°C), *Salmonella sp.* and coagulase positive *Staphylococcus* in two different periods during the validity period (period I) and after the expiration of the samples (period II). Were also conducted analysis of pH, fat and moisture, according to the Normative Instruction 68, December 12th, 2006. The physico-chemical parameters classified the samples as fat cheese and medium humidity and all attended the legal parameters established by the Brazilian legislation. The microbiological results showed that all samples were within the standards for fecal coliform and coagulase positive *Staphylococcus* in both periods of analysis. However, in period I detected the presence of *Salmonella sp.* in one of the marks (16.67 %), being improper for human consumption.

Keywords: Microbiological contamination; Fecal coliform; *Salmonella sp.*; Coagulase positive *Staphylococcus*.

LISTA DE TABELAS

Tabela Revisão Bibliográfica:

TABELA 1 – Quantidade diária recomendada de queijo fresco.....15

Tabelas Manuscrito:

TABELA 1 – Médias dos valores e desvios padrões de pH, umidade e gordura das amostras de queijo Mussarela fatiado e embalado a vácuo aos 15 dias após a fabricação.....31

TABELA 2 – Número mais provável (NMP.g⁻¹) de coliformes termotolerantes encontrados nas amostras de queijo Mussarela dentro (I) e fora (II) do prazo de validade.32

TABELA 3 – Número mais provável (NMP.g⁻¹) de coliformes termotolerantes encontrados nas amostras de queijo Mussarela fatiados vendidos à granel em supermercados..... 33

TABELA 4 – Contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva das amostras de queijo Mussarela fatiado embalado à vácuo.....33

TABELA 5 - Resultados da análise de *Staphylococcus* coagulase positiva nas amostras de queijo Mussarela fatiados vendidos à granel.....34

TABELA 6 – Resultados da análise de *Salmonella sp.* nas amostras de queijo Mussarela fatiados embalados à vácuo dentro (I) e fora (II) do prazo de validade.....35

TABELA 7 - Resultados da análise de *Salmonella sp.* nas amostras de queijo Mussarela fatiados vendidos à granel.36

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
2.1 Qualidade do leite como matéria prima	10
2.2 Definição e tipos de queijos	12
2.3 Composição nutricional do queijo	14
2.4 Alterações e defeitos dos queijos	15
2.4.1 Alterações dos queijos	15
2.4.2 Defeitos dos queijos	16
2.5 O mercado de queijos no Brasil	16
2.6 Queijo Mussarela	17
2.7 Aspectos microbiológicos	18
2.7.1 Grupo Coliformes	19
2.7.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	20
2.7.3 <i>Salmonella sp.</i>	21
2.8 Aspectos físico-químicos	22
3 MANUSCRITO	23
4 DISCUSSÃO GERAL	41
5 CONCLUSÕES	42
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
ANEXO A	50

1 INTRODUÇÃO

O leite e seus derivados desempenham um papel nutricional importante para o homem, uma vez que fornecem proteínas, carboidratos, gorduras e sais minerais necessários ao desenvolvimento do organismo (FONSECA & SANTOS, 2000). É de se esperar, portanto, uma grande preocupação em assegurar a integridade e a qualidade intrínseca do leite e dos produtos lácteos destinados ao consumo humano.

Devido a sua rica composição em nutrientes, estes produtos podem apresentar contaminações por micro-organismos, inclusive patogênicos. Dentre as bactérias que podem crescer em queijos destacam-se, principalmente, os coliformes totais e termotolerantes, o *Staphylococcus aureus* e a *Salmonella*, sendo a presença e o número destes micro-organismos indicadores da qualidade do produto (SALVADOR *et al.*, 2001).

Do ponto de vista de saúde pública, a população deve ter ao seu alcance alimentos de boa qualidade, dentro de padrões pré-estabelecidos, não só em valores nutritivos, como também, quanto às condições higiênicas, que propiciem segurança para a saúde do consumidor.

Em razão de mudanças de hábitos alimentares, como o consumo crescente de alimentos tipo *fast food* e pizzas, o queijo Mussarela é atualmente um dos mais fabricados no Brasil e no mundo, atingindo cerca de 33% do mercado brasileiro de queijos em 2004, o que representou quase 145 mil toneladas/ano (SANTOS, 2009).

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica e físico-química de queijos do tipo Mussarela embalados à vácuo e à granel, comercializados na região Noroeste do estado do Rio Grande do Sul. Para tanto, foram realizadas as análises de contagem de coliformes fecais (45°C), *Salmonella sp.* e *Staphylococcus coagulase positiva* e pH, teor de gordura e umidade.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Qualidade do leite como matéria prima

O leite tem um alto valor nutricional e fornece uma variedade de nutrientes, incluindo proteínas, vitaminas, minerais (especialmente cálcio), gordura e carboidratos (HARDING, 1995).

Cerca de 60% do leite produzido são controlados pelos serviços oficiais de inspeção, dos quais, aproximadamente 50% são comercializados na forma fluida (leite pasteurizado e UHT), 20% são transformados em pó, 20% em queijo, 5% em iogurte e sobremesas lácteas e 5% em outros produtos (cremes, doce de leite, manteiga, etc). Os outros 40% são consumidos pelo “mercado informal”, sem qualquer fiscalização higiênica, física ou sanitária (SILVA & FERNANDES, 2005).

Considerando-se a qualidade e quantidade dos componentes, o leite é o melhor alimento natural, que possui os requerimentos nutricionais que o homem precisa. Entretanto, várias espécies de micro-organismos encontram no leite um meio para o seu crescimento. Mesmo os que não crescem bem no leite, não são prejudicados por ele, a menos que estejam presentes anticorpos e inibidores naturais (CAMPBELL & MARSHALL, 1975; OLIVEIRA, 2003). Por esse motivo, o leite deve ser obtido com máxima higiene e mantido em baixa temperatura, desde a ordenha até a ocasião do seu beneficiamento, visando garantir características físicas, químicas e nutricionais do produto final (OLIVEIRA, 2003). O tempo em que os alimentos permanecem a temperatura ambiente, antes de serem ingeridos ou eventualmente resfriados, é um fator que predispõe o alimento como veículo de toxinfecções alimentares (HOBBS & ROBERTS, 1999).

O controle da temperatura pode prevenir, reduzir ou eliminar os riscos de ocorrência de perigos microbiológicos da matéria prima (ARRUDA *et al.*, 1996). Falhas ocorridas durante o processo de beneficiamento, em conjunto com altas temperaturas de conservação do produto, são fatores que contribuem para a comercialização de um produto de baixa qualidade e fora dos padrões legais (BORGES *et al.*, 1978).

A qualidade do leite está intimamente relacionada com a carga microbiana inicial e o binômio tempo/temperatura que o leite permanece desde a ordenha até o processamento.

Quanto maior for o número de contaminantes e mais próximo de 30°C estiver o leite, menor será o seu tempo de conservação (MUTUKUMIRA *et al.*, 1996). O leite com alta contaminação bacteriana pode sofrer alterações indesejáveis mesmo quando mantido sob refrigeração, pois bactérias psicrófilas podem crescer nessas condições e produzir enzimas como lipases e proteases que alteram a qualidade do produto (BISHOP & WHITE, 1988; BANKS & DALGHEISH, 1990; CRAVEN & MACAULEY, 1993). Esses micro-organismos e as enzimas por eles produzidas podem resistir ao processo de pasteurização (GOMES, 1988).

A carga microbiana do leite cru é de extrema importância na qualidade final dos produtos lácteos, sendo que é praticamente impossível melhorar as propriedades de um derivado, se o número de micro-organismos inicialmente presentes no leite *in natura* é elevado (HÜHN *et al.*, 1980; HÜHN *et al.*, 1982).

No Brasil, a qualidade do leite *in natura* é precária, devido à influência de fatores como estações do ano, manuseio na fazenda, distância da fazenda ao laticínio e temperatura em que o leite é mantido até o processo de pasteurização, o que pode favorecer o desenvolvimento de micro-organismos indesejáveis no leite (HÜHN *et al.*, 1980). Silveira, Carvalho e Teixeira (1998) citam ainda problemas de cunho social, econômico e cultural, que não recebem a devida atenção no campo político, mesmo o leite tendo papel importante na alimentação da população. As substâncias que compõem o leite (proteína, gordura, lactose e outros constituintes) são passíveis de serem utilizados e degradados por vários micro-organismos. Dentre as várias alterações possíveis de ocorrer no leite, podem ser citadas, produção excessiva de ácido e de gás, aumento da viscosidade, proteólise e coagulação doce, lipólise, produção de sabores variados, alteração de cor, entre outros (TRONCO, 1997).

A fabricação de queijos envolve alguns procedimentos gerais e outros que são específicos de cada tipo. O leite utilizado na produção de queijos frescos tem, obrigatoriamente, que ser pasteurizado (PERRY, 2004).

Sabe-se que a pasteurização não elimina 100% dos micro-organismos não patogênicos do leite, permanecendo uma microbiota não patogênica de aproximadamente 0,1% da concentração inicial no leite cru. Portanto, quanto maior a população microbiana antes da pasteurização, tanto maior será a microbiota residual (RIEDEL, 1996).

Apesar da importância da pasteurização, na Itália, ainda hoje, o queijo mussarela é elaborado a partir do leite cru de búfala com o propósito de não alterar o processo tecnológico, além de garantir as características organolépticas particulares e inerentes ao produto (BUZI *et al.*, 2009).

O leite destinado ao fabrico de queijos deve ser de boa qualidade e, tanto quanto possível, livre de contaminação bacteriana ou por agentes químicos como antibióticos, herbicidas, pesticidas, etc. No caso dos antibióticos, se estes forem administrados ao gado, passarão ao leite e poderão inibir a sua coagulação ou alterar o tempo de maturação dos queijos devido a alterações na microbiota láctica. De um modo geral, para fabricação de queijos duros e semiduros o leite também não deve ser homogeneizado; outros tipos de queijos exigem que a gordura seja padronizada sob a forma de 15 a 20% de nata. A homogeneização torna a gordura mais suscetível à ação das lipases facilitando, assim, a formação de ácidos graxos livres, os quais são constituintes fundamentais para o sabor dos queijos (PERRY, 2004).

Apesar das exigências para que o leite destinado à fabricação de queijos seja higienizado por meios físicos e submetidos à pasteurização, é intensa a comercialização dos queijos que não passam por tais especificações. Além disso, a contaminação do leite pós-pasteurização, a utilização de fermentos inativos, temperaturas inadequadas e incorretas condições de manufatura e armazenagem, contribuem também de forma efetiva para o comprometimento da qualidade do produto final (PEREIRA *et al.*, 1999).

2.2 Definição e tipos de queijos

Queijo é o nome genérico para um grupo de alimentos fermentados à base de leite com grande diversidade de sabor, textura e formas (FOX *et al.*, 2000). É um concentrado lácteo constituído de proteínas, lipídeos, carboidratos, sais minerais, cálcio, fósforo e vitaminas (PERRY, 2004).

De acordo com a Portaria nº 146 de 07 de março de 1996 (BRASIL, 1996), entende-se por queijo o produto fresco ou maturado que se obtém por separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado), ou de soros lácteos, coagulados pela ação física do coalho, de enzimas específicas, de bactéria específica, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e/ou especiarias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes.

A denominação **queijo** está reservada aos produtos em que a base láctea não contenha gordura e/ou proteínas de origem não láctea (BRASIL, 1996).

Esta portaria estabelece ainda, a classificação dos queijos:

a - De acordo com o conteúdo de matéria gorda no extrato seco, em percentagem, os queijos classificam-se em:

- Extra Gordo ou Duplo Creme: quando contenham o mínimo de 60%.
- Gordos: quando contenham entre 45,0 e 59,9%.
- Semigordo: quando contenham entre 25,0 e 44,9%.
- Magros: quando contenham entre 10,0 e 24,9%.
- Desnatados: quando contenham menos de 10,0%.

b - De acordo com o conteúdo de umidade, em percentagem, os queijos classificam-se em:

- Queijos de baixa umidade (geralmente conhecidos como queijo de massa dura): umidade de até 35,9%.

- Queijos de média umidade (geralmente conhecidos como queijo de massa semidura): umidade entre 36,0 e 45,9%.

- Queijos de alta umidade (geralmente conhecidos como de massa branda ou "macios"): umidade entre 46,0 e 54,9%.

- Queijos de muita alta umidade (geralmente conhecidos como de massa branda ou "mole"): umidade não inferior a 55,0%.

Quando submetidos ou não a tratamento térmico logo após a fermentação, os queijos de muita alta umidade se classificam em:

- Queijos de muita alta umidade tratados termicamente.
- Queijos de muita alta umidade.

A fabricação de queijos consiste em uma série de operações desde a produção de leite até o último dia de maturação e expedição para o mercado. A qualidade do queijo depende diretamente da qualidade do leite, sendo necessário um rígido controle de qualidade durante todas as fases de processamento. Contudo, o queijo é um alimento de grande comercialização, apresentando vantagens do ponto de vista tecnológico: é um produto de fácil aceitação, apresenta elevado rendimento na fabricação, o que melhora seu escoamento e distribuição no mercado (FURTADO, 1991).

A fabricação de queijos é uma forma conveniente de conservar o leite, transformando-o em um produto mais estável, palatável, cujas qualidades são mantidas, podendo ser padronizados ou adaptados às necessidades do mercado. O queijo, no Brasil e no mundo, é um dos produtos lácteos que mais se difundiu e o que mais sofreu adaptações na técnica de

elaboração, ocasionando, conseqüentemente, o surgimento de vários tipos existentes (MAGALHÃES, 2002).

Embora o processo básico de fabricação de queijos seja comum a quase todos, variações na origem do leite, nas técnicas de processamento e no tempo de maturação criam esta imensa variedade, conhecendo-se cerca de 1.000 tipos (PERRY, 2004).

2.3 Composição nutricional do queijo

A composição nutricional do queijo é determinada por diferentes parâmetros, incluindo o tipo de leite (espécie, tipo de alimentação, fase de lactação e teor de gordura), condições de manufatura e maturação. O queijo é, basicamente, um concentrado dos nutrientes que se encontram no leite. O próprio leite é um alimento quase completo, que deverá fazer parte da alimentação diária (PINHO & FERREIRA, 2006).

O queijo é um bom fornecedor de proteínas de alto valor biológico, ou seja, proteínas em que se encontram os aminoácidos essenciais em quantidades adequadas ao organismo. O teor de proteína varia conforme o tipo de queijo. A fração protéica predominante no queijo é a caseína, incluindo α – caseína, β – caseína, κ – caseína entre outras. A quantidade de hidratos de carbono é reduzida (PINHO & FERREIRA, 2006).

O teor em gordura de queijo é o principal responsável pelo seu *flavour* e textura, contribuindo decisivamente para a preferência dos consumidores. No entanto, é de realçar a presença importante de ácidos graxos saturados e colesterol, pelo que deve existir alguma preocupação com o consumo de certos queijos, devendo este alimento ser integrado numa dieta equilibrada (PINHO & FERREIRA, 2006).

O queijo é ainda um alimento rico em vitaminas lipossolúveis, como as vitaminas A, D, E, e K. Os sais minerais são também uma parte importante da sua constituição, sendo uma fonte importante de cálcio e fósforo. O queijo é um alimento bastante palatável e de digestão fácil. É normalmente considerado um excelente alimento, pois além de manter as características do leite (considerado um alimento completo), tem a vantagem de se poder apresentar como alternativa a este, nomeadamente nos casos de intolerância à lactose. No entanto, deve ser utilizado de forma equilibrada na alimentação, como exemplifica a Tabela 1, que indica a quantidade diária recomendada de queijo (OLIVEIRA, 2010).

Tabela 1 – Quantidade diária recomendada de queijo fresco.

<i>Faixa etária</i>	<i>Quantidade diária de queijo fresco recomendada (g)</i>
Crianças de 2 a 6 anos	20 – 30
Crianças de 7 a 11 anos	30
Adolescentes de 12 a 15 anos	50
Adolescentes de 15 a 20 anos	50 – 80
Adultos	30 – 50
Grávidas	50
Idosos	30

Fonte: Eck & Gillis, 1997, adaptado.

2.4 Alterações e defeitos dos queijos

2.4.1 Alterações dos queijos

Os agentes, por norma, responsáveis pelas alterações dos queijos são as bactérias, os fungos e os parasitas. As alterações são detectadas, porque as características organolépticas do queijo se modificam, no entanto, para se detectar com maior rigor essas alterações, os queijos devem ser testados com provas para avaliação da textura, verificação da formação de gás e teste de sondagem (BERNARDO, 1986).

O fato de os queijos apresentarem qualquer alteração indica que devem ser reprovados para consumo na sua totalidade ou parcialmente, porque frequentemente os agentes responsáveis por essa degradação são capazes de provocar toxinfecções no consumidor (BERNARDO, 1986). Entre as alterações dos queijos está o estufamento, provocado pela acumulação de gás resultante da degradação bacteriana da lactose e da proteína; a putrefação, caracterizada pelo aparecimento de manchas de cor variada que libertam um cheiro pútrido e progridem da superfície para a profundidade; a presença de parasitas com larvas de insetos e de ácaros que se instalam à superfície e progridem para o interior escavando galerias; e

alterações devidas à conservação deficiente como a desidratação e o ranço particularmente em queijos fracionados e/ou mantidos sob refrigeração sem embalagem adequada (BERNARDO, 1986).

2.4.2 Defeitos dos queijos

Os queijos podem ser considerados defeituosos quando apresentam irregularidades na textura, cor, sabor, cheiro e na superfície, sem que isso constitua motivo de reprovação para o consumo, uma vez que não são prejudiciais para a saúde. Os defeitos podem estar relacionados com a textura, correspondendo a uma falta de uniformidade da pasta, com centros duros, crostas demasiado espessas ou pastas excessivamente moles; com a cor, que pode estar modificada não por fenômenos de putrefação, mas por dessoramento diferenciado, utilização de corantes de qualidade deficiente, entre outros; com o sabor e cheiro, devido ao armazenamento incorreto dos queijos com outros alimentos que liberam odores que o queijo absorve ou por problemas de fabricação; ou serem defeitos superficiais, nomeadamente crosta enrugada ou roturada nos queijos de pasta mole, ou fendas superficiais que se prolongam à profundidade da pasta em alguns queijos de pasta dura (BERNARDO, 1986).

A causa destes defeitos é variável, tendo muitas vezes que ver com as condições de manutenção (temperatura, umidade relativa e circulação do ar) e a sua gravidade é relativa (BERNARDO, 1986).

2.5 O mercado de queijos no Brasil

O queijo é um alimento definitivamente incorporado no cardápio dos brasileiros. Em 2005, o setor foi responsável pela produção de aproximadamente 545 mil toneladas, com um faturamento aproximado de R\$ 3,75 bilhões e um crescimento na ordem de 7% em relação ao ano anterior. Sua participação nas exportações não é desprezível. Em 2007, foram exportadas 7,58 mil toneladas de queijo, com crescimento, em volume, em relação a 2006, de 2,2%. A receita gerada em 2007 foi de US\$ 25,7 milhões, representando um aumento em relação ao

ano anterior de 22,9%, o que significa uma valorização do produto no mercado internacional (MERCADO, 2008). O país é o sexto maior produtor de queijos (CHALITA, 2010).

O mercado de queijos vem crescendo 4% em média nos últimos três anos, impulsionado por um aumento de vendas no varejo, mas também devido ao crescimento expressivo no *food service*, o que representa aumento do consumo de queijos industrializados. No total, são comercializados 50 tipos de queijo, dentre eles, 234 marcas de queijo prato, 353 de mussarela, 263 de minas frescal, 164 de provolone, 147 de minas padrão e 45 de queijo ralado. No caso dos queijos finos, há menor número de marcas, pois requerem maior capacidade tecnológica e de marketing (BORTOLETO, 2000 apud REZENDE, 2004).

As características estruturais do mercado de queijos no Brasil são opostas àquelas do mercado mundial, que se pauta pela tradição na produção artesanal e fortemente vinculada a uma região geográfica. A diferenciação e singularidade do produto (variabilidade e qualidade) são principalmente definidas no nível internacional, pela Europa, a partir da forte influência da tradição francesa (CHALITA, 2010).

Comparado a outros países, o consumo de queijo no Brasil ainda é tímido – aproximadamente 3 kg por pessoa -, enquanto que na Argentina é de 11 kg *per capita*, e na França de 23kg. As tendências apontam que tem havido um crescimento do consumo. Quase 50% do consumo ainda é de mussarela e prato para uso culinário, porém, o consumo de queijos finos vem aumentando significativamente (REZENDE, 2004; SETTE, 2003).

2.6 Queijo Mussarela

O queijo mussarela teve sua origem na Itália e era originalmente produzido a partir de leite de búfala (KOSIKOWSKI & MISTRY, 1997). Devido a sua crescente utilização na culinária, principalmente nos Estados Unidos, onde é conhecido como *Pizza Cheese*, sua produção tem crescido nos últimos anos (GUINEE *et al.*, 2002; KINDSTEDT, 1993), sendo hoje fabricado principalmente a partir de leite de vaca.

O queijo tipo Mussarela é um queijo de massa filada, de origem italiana, porém conhecido, produzido, apreciado e consumido no mundo todo, e especialmente no Brasil, onde se destaca sendo o queijo mais fabricado, representando cerca de 33 % da produção total de queijos. A maior utilização e consumo do queijo Mussarela são como ingrediente para a

confeção de inúmeros pratos quentes, sanduíches, pizzas, entre outros alimentos, que visam explorar as suas propriedades para fatiamento e a sua facilidade de derretimento (VALLE *et al.*, 2004; SANTOS 2009).

A mussarela é um queijo macio que pertence ao grupo dos queijos de massa filada, no qual se encontram também o Provolone, classificado como um queijo duro, e o “Caccio Cavallo”, semi-macio (VALLE & LEITÃO, 1995). A etapa de filagem promove a ordenação das cadeias de proteína por ação mecânica e calor, resultando em uma estrutura alinhada e filamentosa, com camadas de soro livre e gordura emulsificada entrepostos (McMAHON *et al.*, 1993).

Conforme portaria nº 364, de 04 de setembro de 1997, que aprova o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Queijo Mozzarella (Muzzarela ou Mussarela), entende-se por queijo Queijo Mozzarella o queijo que se obtém por filagem de uma massa acidificada (produto intermediário obtido por coagulação de leite por meio de coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas), complementada ou não pela ação de bactérias lácticas específicas.

O queijo mussarela encontra-se entre os queijos mais consumidos no Brasil, devido ao grande consumo de pizza. O formato tradicional desse queijo é o paralelepípedo, entretanto, outras formas também podem ser encontradas, como bolinha, palito e nozinho, utilizados no consumo de mesa (SILVA, 2005).

A mussarela brasileira tradicional possui uma composição físico-química muito irregular (SPADOTI & OLIVEIRA, 1999). Apresenta composição média de 43-46% de umidade, 22-24% de gordura, 1,6-1,8% de sal, pH de 5,1-5,3 e não existe uma diferenciação de padrão físico-químico para as diferentes mussarelas comercializadas, seja para consumo direto ou uso como ingrediente culinário (FURTADO & LOURENÇO NETTO, 1994).

2.7 Aspectos microbiológicos

Em termos gerais, dentro do campo da microbiologia de alimentos, sem dúvida as contaminações microbianas dos alimentos são indesejáveis e inclusive nocivas. Este aspecto é encarado com tal rigor que para se conhecer a existência de possíveis deficiências higiênicas, as quais implicariam em contaminações alimentares, voltam-se as atenções para grupos de

micro-organismos, desde aqueles considerados indicadores, como também para os patogênicos que encontram no alimento um meio propício para o desenvolvimento e até mesmo a liberação de substâncias tóxicas (FRANCO & ALMEIDA, 1992).

A qualidade microbiológica do leite e derivados é um termo muito amplo e genérico. Os principais micro-organismos envolvidos com a contaminação do leite são bactérias, vírus e fungos (mofos e leveduras) (FONSECA & SANTOS, 2000). Franco e Landgraf (2008) ainda citam os micro-organismos indicadores e os classificam como sendo grupos ou espécies de micro-organismos que, quando presentes no alimento, podem fornecer informações sobre a contaminação fecal, com provável presença de patógenos ou com deterioração potencial do alimento, além de poderem indicar condições sanitárias inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento.

Dentre alguns micro-organismos importantes em alimentos destacamos: a *Salmonella sp.*, causadora de intoxicação alimentar; a *Escherichia coli*, que possui sorogrupos cuja patogenicidade é conhecida através da ação toxigênica e infecciosa e o *Staphylococcus aureus*, que é toxigênico e produtor de toxina termoestável pré formada no alimento (SALOTTI *et al.*, 2006).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), através da resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001, estabeleceu padrões microbiológicos para diversos alimentos. Para o queijo Mussarela fatiado, o padrão microbiológico para coliformes à 45°C é de 5×10^2 NMP.g⁻¹, para *Staphylococcus* coagulase positiva é de 10^3 UFC.g⁻¹ e para *Salmonella sp.* é ausência em 25 gramas do produto.

2.7.1 Grupo Coliformes

A utilização do grupo coliforme como indicador das condições higiênico sanitárias em alimentos é prática estabelecida há anos. Dos agentes bacterianos, os coliformes são internacionalmente considerados micro-organismos indicadores da segurança microbiológica de alimentos (BONASSI, 1984; FRAZIER & WESTHOFF, 1993).

Os coliformes totais a 35°C, segundo Silva *et al.* (1997), incluem as bactérias na forma de bastonetes Gram-negativos, não esporogênicos, aeróbios ou aeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 35°C. Os coliformes a 45°C são capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24h a 44,5-45,5°C. Esse grupo

inclui três gêneros: *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella*, sendo as cepas de *Enterobacter* e *Klebsiella* de origem não fecal. Por isso, que a *E. coli* é a mais conhecida, sendo seu habitat natural o trato gastrointestinal, e a indicadora de contaminação fecal em alimentos processados (SILVA *et al.*, 1997).

Os coliformes fecais são grupos ou espécies de micro-organismos que, quando estão presentes no alimento, fornecem informações sobre a ocorrência de contaminação de origem fecal e a provável presença de micro-organismos patogênicos. Vivem no intestino de animais de sangue quente e tem como principal representante a *Escherichia coli*, que, segundo Forsythe (2002), se desenvolvem em atividade água de no mínimo 0,935, pH em torno de 4,0 e 9,0 e faixa de temperatura de 7° a 49,4 °C.

Segundo FURTADO (1999), quando a contaminação é grande os coliformes são facilmente notados pelo número de pequenos olhos distribuídos na massa fermentada, logo quando a massa é filada, uma grande parte desta flora gasógena é eliminada e as olhaduras desaparecem na massa moldada a quente, mas isto não quer dizer que a presença maciça de coliformes foi reduzida, sendo que o sabor da Mussarela é alterado, pois a fermentação por coliformes produz compostos diversos, como ácido acético.

2.7.2 *Staphylococcus aureus*

Dentre os diversos tipos de micro-organismos patogênicos que podem ser transmitidos através do leite e derivados, destaca-se o *Staphylococcus aureus*, ou *Staphylococcus* coagulase positiva, cuja importância na epidemiologia das doenças veiculadas por alimentos decorre de sua alta prevalência e do risco de produção, nos alimentos contaminados, de toxinas causadoras de gastroenterites alimentares (ZECCONI & HAHN, 2000).

Para Franco & Landgraf (2008), a presença de números elevados de *Staphylococcus aureus* é uma indicação de perigo potencial à saúde pública devido à enterotoxina estafilocócica presente no alimento, bem como à sanificação questionável, principalmente quando o processo envolve manipulação do alimento, por ser um micro-organismo que vive nas mucosas e na pele dos indivíduos. Apresentam atividade de água mínima de 0,83, pH entre 4 e 10 e a faixa de temperatura de 7° a 50°C (FORSYTHE, 2002).

A incubação de um surto é de trinta minutos a oito horas, sendo a média de duas a quatro horas após a ingestão do alimento (FRANCO & LANDGRAF, 2008).

A intoxicação estafilocócica pode ser resultante do crescimento de *Staphylococcus aureus* em leite ou produtos lácteos. Os estafilococos podem contaminar o leite após a pasteurização, as toxinas produzidas por essas bactérias são termoestáveis e os micro-organismos não precisam estar presentes no alimento para produzir a intoxicação (CAMPBELL & MARSHALL, 1975). A intoxicação estafilocócica causa um quadro geralmente agudo, com sintomas como náuseas, vômitos, cólicas e diarreia, sem febre (GERMANO & GERMANO, 2003).

O *S. aureus* é frequentemente pesquisado em alimentos, sendo o queijo, um dos principais veículos causadores de toxinfecção alimentar, pois sua presença está associada à práticas de higiene e manipulação inadequadas (REIBNITZ *et al.*, 1998).

De acordo com Franco & Landgraf (2008), o homem e os animais domésticos são portadores destes micro-organismos. Um exemplo típico é a mastite estafilocócica do gado leiteiro, onde se o leite contaminado é consumido ou utilizado para preparação de queijos, haverá grandes chances de ocorrer intoxicação.

A pele das mãos e o nariz frequentemente abrigam estafilococos, alguns dos quais produzem toxinas nos alimentos cozidos indicando condições de fabricação inadequadas. Surtos de intoxicações alimentares estafilocócicas ocorrem em hospitais e fábricas através de queijos classificados como de segunda classe devido às falhas na cultura iniciadora resultando em *flavour* anormal. A pasteurização do leite para a produção de queijos reduz, senão elimina os riscos de toxinfecções alimentares (HOBBS & ROBERTS, 1999).

2.7.3 *Salmonella sp.*

O gênero *Salmonella* pertence à família *Enterobacteriaceae* e compreende os bacilos Gram negativos não produtores de esporos. São anaeróbios facultativos, produzem gás a partir de glicose (exceto *S. typhi*) e são capazes de utilizar o citrato como fonte de carbono. A maioria é móvel, apresentando flagelos peritríquios, exceções feitas à *S. pullorum* e à *S. paratyphi* (FRANCO & LANDGRAF, 2008). Alguns casos foram associados ao consumo de leite cru, mariscos e vegetais crus (JAY, 1994).

As bactérias do gênero *Salmonella* são patogênicas e são responsáveis pela maior causa de surtos de toxinfecções alimentares. A contaminação ocorre devido ao controle inadequado de temperatura, de práticas de manipulação incorretas ou por contaminação cruzada de

alimentos crus com alimentos processados. Sua simples presença no alimento implica na rejeição de todo lote, por isso a análise de *Salmonella sp.* é dita qualitativa (FRANCO & LANDGRAF, 2008).

As bactérias do gênero *Salmonella* estão disseminadas no ambiente (CAMPBELL & MARSHALL, 1975). Alguns tipos predominantes causam a doença de origem alimentar conhecida como salmonelose, uma doença infecciosa aguda com repentinamente acesso de dor abdominal, diarreia, náusea e vômito (CAMPBELL & MARSHALL, 1975; GERMANO & GERMANO, 2003). As salmonelas que causam intoxicações alimentares são classificadas em mais de 2000 sorotipos (HOBBS & ROBERTS, 1999). As amostras que causam a febre tifóide e paratifóide são excluídas desse grupo, entretanto, todas podem ser transmitidas da mesma maneira em leite sem pasteurização ou em produtos lácteos contaminados após a pasteurização. Como estes micro-organismos são encontrados no trato intestinal do homem e dos animais, os primeiros meios de controle são a higiene pessoal, as operações sanitárias na produção e processamento do leite e uma pasteurização perfeita (CAMPBELL & MARSHALL, 1975).

2.8 Aspectos físico-químicos

O queijo mussarela brasileiro possui uma composição físico-química muito irregular, devido à inexistência de padrões legais e grandes variações nos métodos de elaboração. Apresenta, em média, cerca de 43% a 46% de umidade e entre 40% a 45% de gordura no extrato seco - GES (FURTADO, 1997), assemelhando-se, portanto, ao queijo mussarela para pizza americana. Já a Portaria 366/97 do MAPA (Brasil, 1977), especifica que como requisito máximo para umidade é de 55% e o mínimo para GES é de 35%.

A portaria nº 364, de 04 de setembro de 1997, que aprova o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Queijo Mussarela, estabelece um máximo de 60% de umidade para este tipo de queijo e um teor mínimo de gordura no extrato seco de 35% (BRASIL, 1997).

Já a concentração hidrogeniônica, que determina o pH dos alimentos, é um dos principais fatores que exercem influência sobre o crescimento, a sobrevivência ou a destruição dos micro-organismos, que nele se encontram presente (SILVA, 2000). O valor de pH encontrado para queijo mussarela situa-se entre 5,1 e 5,3.

3 MANUSCRITO

Qualidade microbiológica e físico-química de queijo mussarela fatiado à granel e embalado à vácuo

Este manuscrito está em fase final de revisão pelos autores para ser submetido à Revista
Ciência Agronômica

1 **Qualidade microbiológica e físico-química de queijo mussarela fatiado à granel e**
2 **embalado à vácuo¹**

3
4 **Microbiological quality and physical chemistry of bulk mozzarella cheese sliced and**
5 **vacuum packed**

6
7 Joviana Ceolin Etges^{2*}, Cristian Marlon de Magalhães Rodrigues Martins³, Marina Bergoli
8 Sheren⁴, Ernesto Hashime Kubota⁵, Leadir Lucy Martins Fries⁶

9
10 **Resumo** - O queijo Mussarela é um produto de elevado consumo, porém muito
11 suscetível à contaminação microbiológica. Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar a
12 qualidade microbiológica e físico-química do queijo Mussarela fatiado à granel e embalado à
13 vácuo, comercializado em supermercados da região Noroeste do estado do Rio Grande do Sul.
14 Foram avaliadas 5 marcas de queijo Mussarela embalado à vácuo (A, B, C, D e E),
15 totalizando 50 amostras, e uma marca comercializada à granel (F), totalizando 25 amostras.
16 As análises microbiológicas realizadas foram: contagem de coliformes termotolerantes
17 (45°C), *Salmonella sp.* e *Staphylococcus coagulase positiva*, em dois diferentes períodos,
18 durante o prazo de validade (período I) e após o vencimento das amostras (período II).

*Autor para correspondência

¹Parte da dissertação de Mestrado do primeiro autor, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos/ PPGCTA, Centro de Ciências Rurais (CCR)/Universidade Federal de Santa Maria(UFSM)

²Centro de Educação Superior Norte do Rio Grande do Sul (CESNORS)/UFSM, Avenida Independência nº 3751 - Bairro Vista Alegre, Palmeira das Missões-RS, Brasil, 98300-000 joviceolin@yahoo.com.br

³Graduando do Curso de Zootecnia do CESNORS/UFSM, Avenida Independência nº 3751 - Bairro Vista Alegre, Palmeira das Missões-RS, Brasil, 98300-000, cristianmartins99@yahoo.com.br

⁴Departamento de Tecnologia de Alimentos/CCR-UFSM, prédio 42, Avenida Roraima, nº 1000, Cidade Universitária, Bairro Camobi, Santa Maria – RS, 97105-900, nina_bergoli@hotmail.com

⁵Departamento de Tecnologia de Alimentos/CCR-UFSM, prédio 42, Avenida Roraima, nº 1000, Cidade Universitária, Bairro Camobi, Santa Maria – RS, 97105-900, ernestokubota@smail.ufsm.br

⁶Departamento de Tecnologia de Alimentos/CCR-UFSM, prédio 42, Avenida Roraima, nº 1000, Cidade Universitária, Bairro Camobi, Santa Maria – RS, 97105-900, lucymicro@yahoo.com.br

19 Também foram realizadas as análises de pH, teor de gordura e umidade. Os parâmetros físico-
20 químicos classificaram as amostras como sendo queijos gordos e de média umidade e
21 atenderam os padrões exigidos pela legislação brasileira. Os resultados microbiológicos
22 mostraram que todas as amostras apresentaram-se dentro dos padrões para coliformes
23 termotolerantes e *Staphylococcus* coagulase positiva, nos dois períodos de análise, porém, no
24 período I, foi detectada a presença de *Salmonella sp.* em uma das marcas (16,67 %),
25 encontrando-se imprópria para o consumo humano.

26 **Palavras-chave:** Contaminação microbiológica. Coliformes fecais. *Salmonella sp.*.
27 *Staphylococcus* coagulase positiva.

28 **Abstract** - The mozzarella cheese is a product of high consumption, but very susceptible to
29 microbiological contamination. Therefore, this study aimed to evaluate the microbiological
30 and physical-chemistry of sliced mozzarella cheese in bulk and vacuum-packed, sold in
31 supermarkets in the Northwest region of Rio Grande do Sul State. We evaluated five marks
32 (50 samples) of vacuum-packed mozzarella cheese (A, B, C, D and E) and a mark (25
33 samples) sold in bulk (F). Microbiological tests were performed according to Normative
34 Instruction 62, August 26th, 2003: thermotolerant coliforms counts (45°C), *Salmonella sp.*
35 and coagulase positive *Staphylococcus* in two different periods during the validity period
36 (period I) and after the expiration of the samples (period II). Were also conducted analysis of
37 pH, fat and moisture, according to the Normative Instruction 68, December 12th, 2006. The
38 physico-chemical parameters classified the samples as fat cheese and medium humidity. The
39 microbiological results showed that all samples were within the standards for fecal coliform
40 and coagulase positive *Staphylococcus* in both periods of analysis. However, in period I
41 detected the presence of *Salmonella sp.* in one of the marks (16.67 %), being improper for
42 human consumption.

43 **Keywords:** Microbiological contamination. Fecal coliform. *Salmonella sp.*. Coagulase
44 positive *Staphylococcus*.

45 **Introdução**

46 O queijo tipo Mussarela é um queijo de massa filada, de origem italiana, porém
47 conhecido, produzido, apreciado e consumido no mundo todo, e especialmente no Brasil,
48 onde se destaca como sendo o queijo mais fabricado, representando cerca de 33% da
49 produção total de queijos. A maior utilização e consumo do queijo Mussarela são como
50 ingrediente para a confecção de inúmeros pratos quentes, sanduíches, pizzas, entre outros
51 alimentos, que visam explorar as suas propriedades para fatiamento e a sua facilidade de
52 derretimento (VALLE *et. al.*, 2004; SANTOS, 2009).

53 Em termos gerais, dentro do campo da microbiologia de alimentos, sem dúvida as
54 contaminações microbianas dos alimentos são indesejáveis e inclusive nocivas. Este aspecto é
55 encarado com tal rigor que para se conhecer a existência de possíveis deficiências higiênicas,
56 as quais implicariam em contaminações alimentares, voltam-se as atenções para grupos de
57 micro-organismos, desde aqueles considerados indicadores, como também para os
58 patogênicos que encontram no alimento um meio propício para o desenvolvimento e até
59 mesmo a liberação de substâncias tóxicas (FRANCO & ALMEIDA, 1992).

60 Dentre os micro-organismos considerados indicadores das condições higiênico-
61 sanitárias, podemos citar os coliformes fecais que, quando estão presentes no alimento,
62 fornecem informações sobre a ocorrência de contaminação de origem fecal e a provável
63 presença de micro-organismos patogênicos. Vivem no intestino de animais de sangue quente e
64 tem como principal representante a *Escherichia coli*, que, segundo Forsythe (2002), se
65 desenvolvem em atividade água de no mínimo 0,935, pH em torno de 4,0 e 9,0 e faixa de
66 temperatura de 7° a 49,4°C.

67 *Salmonella sp.* e *Staphylococcus aureus* fazem parte do grupo de micro-organismos
68 causadores de toxinfecções alimentares. As salmonelas que causam intoxicações alimentares
69 são classificadas em mais de 2000 sorotipos capazes de invadir e infectar o corpo do homem e
70 dos animais. A pele das mãos e o nariz freqüentemente abrigam estafilococos, alguns dos
71 quais produzem toxinas nos alimentos cozidos indicando condições de fabricação
72 inadequadas. Surto de intoxicações alimentares estafilocócicas ocorrem em hospitais e
73 fábricas através de queijos mal elaborados devido às falhas na cultura iniciadora resultando em
74 *flavour* anormal. A pasteurização do leite para a produção de queijos reduz, senão elimina os
75 riscos de toxinfecções alimentares (HOBBS, 1999).

76 Tendo em vista as diferentes vias que podem levar à contaminação de queijo Mussarela
77 e seu elevado consumo, é de suma importância a análise microbiológica desses alimentos
78 como forma de avaliar os perigos que podem representar para a saúde do consumidor.

79 Portanto, este trabalho teve como objetivos verificar a qualidade microbiológica e físico-
80 química de queijos Mussarela fatiados produzidos em estabelecimentos sob inspeção sanitária
81 e comercializados na região Noroeste do estado do Rio Grande do Sul, através da
82 determinação de *Salmonella sp.*, contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva e de
83 coliformes termotolerantes, pH, teor de umidade e gordura e comparar os resultados obtidos
84 com a legislação específica vigente.

85 **Materiais e métodos**

86 Foram adquiridas, em supermercados da região Noroeste do estado do Rio Grande do
87 Sul, 50 amostras de 5 diferentes marcas de queijo Mussarela fatiados e embalados à vácuo. De
88 cada marca, foram analisadas 5 amostras do mesmo lote no período I, o qual correspondia a
89 15 dias após a data de fabricação. Outras 5 amostras da mesma marca e do mesmo lote foram
90 armazenadas, em refrigeração, e analisadas em um segundo período (II), este compreendia o
91 intervalo de 2 a 5 dias após o vencimento da data de validade. As amostras analisadas no

92 primeiro período foram denominadas de A_I, B_I, C_I, D_I e E_I, e as amostras do segundo período
93 denominaram-se: A_{II}, B_{II}, C_{II}, D_{II} e E_{II}.

94 Também foram adquiridas 25 amostras, da mesma marca, de queijo Mussarela fatiado
95 comercializado à granel em um único estabelecimento da região. As amostras foram
96 adquiridas semanalmente, durante cinco semanas (5 amostras/semana), sempre ao final do
97 dia. Esta amostra foi denominada de F.

98 As amostras foram transportadas em caixas isotérmicas contendo gelo ao laboratório do
99 Centro de Estudos de Microbiologia (CEMICRO) para as análises microbiológicas e para o
100 Laboratório de Inspeção e Qualidade de Leite e Derivados, a fim de realizar as análises físico-
101 químicas; ambos localizados no Centro de Educação Superior Norte do Rio Grande do Sul
102 (CESNORS), da Universidade Federal de Santa Maria.

103 No laboratório, após a limpeza externa da embalagem com álcool 70% para a remoção
104 dos contaminantes presentes, os queijos foram amostrados no interior de câmara de fluxo
105 laminar conforme recomendação de SILVA *et al.* (2001).

106 Para as análises microbiológicas, retirou-se assepticamente 25 gramas do produto, sendo
107 transferidos para embalagem estéril, onde foram posteriormente adicionados 225 mL de
108 solução de água peptonada tamponada 1%. Amostra e diluente foram homogeneizados em
109 *stomacher*, a fim de obter-se a diluição inicial (10^{-1}), seguida de diluições decimais, até a
110 diluição 10^{-6} .

111 Para análise de coliformes termotolerantes foi utilizada a técnica do número mais
112 provável (NMP.g⁻¹), segundo a Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003
113 (BRASIL, 2003). Para o enriquecimento primário utilizou-se Caldo Lauril Sulfato Triptose
114 (LST), em concentração simples e dupla, e para a confirmação caldo E.C. a 45 °C ($\pm 0,2$).
115 Todos os tubos continham tubos de Durham para verificar a produção de gás. Os tubos

116 positivos foram comparados à tabela do número mais provável e os resultados registrados
117 como NMP.g⁻¹ de coliformes termotolerantes.

118 A análise de *Staphylococcus* coagulase positiva, segundo Brasil (2003), foi realizada
119 semeando-se a amostra na superfície de placas de Ágar Baird-Parker (BP), com auxílio de
120 alça de Drigalsky, a partir da inoculação de 0,1 mL de cada diluição, sendo feitas até 10⁻⁶
121 (BRASIL, 2003). A incubação foi realizada a 36 °C (± 1) por 48 horas. Para a contagem
122 foram selecionadas placas com 20 a 200 colônias, sendo contadas as colônias típicas e
123 atípicas. Foram transferidas três colônias típicas e três atípicas de cada placa para tubos de
124 Caldo Infusão de Cérebro Coração (BHI), os mesmos foram incubados a 36 °C (± 1) por 24
125 horas. A confirmação de *Staphylococcus* coagulase positiva foi realizada por meio do teste de
126 coagulase. Para isso, foram transferidos 0,3 mL de cada cultura obtida em BHI, para tubos, e a
127 estes foram adicionados 0,3 mL de coagulase plasma-EDTA. Os tubos foram incubados
128 novamente a 36 °C (± 1) e observados após 6 horas quanto à formação de coágulo. As
129 contagens de *Staphylococcus* são obtidas pela multiplicação do número de colônias pela
130 recíproca da diluição utilizada e os resultados expressos como UFC.g⁻¹.

131 Para avaliação da presença ou ausência de *Salmonella* sp., também foi seguida a
132 legislação conforme Brasil (2003). A diluição inicial 10⁻¹, preparada com o caldo de
133 enriquecimento não seletivo, água peptonada tamponada a 1%, foi incubada a 36 °C (± 1) por
134 16 a 20 horas. Após a incubação, foi transferido 0,1 mL da cultura obtida para um tubo de
135 Caldo Rappaport e 1 mL em outro tubo contendo Caldo Tetracionato, ambos foram incubados
136 à temperatura de 41 °C (± 0,5) por 24 horas. A seguir, foi realizado plaqueamento seletivo-
137 diferencial em Ágar Salmonella-Shigella (SS) e Ágar Rambach, por estriamento. Após
138 incubação a 36 °C (± 1) por 24 horas, verificou-se o aparecimento de colônias suspeitas e
139 procedeu-se os testes bioquímicos. Utilizou-se Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI), Ágar Lisina
140 Ferro (LIA), Caldo Uréia e Ágar Sulfato Indol Motilidade (SIM), os quais foram semeados

141 com fio de platina, inoculados com uma colônia típica e bem isolada. Incubou-se a 36 °C (\pm 1)
142 por 24 horas e os resultados obtidos foram anotados.

143 A determinação do pH foi realizada em potenciômetro (DM 22, Digimed, São Paulo,
144 Brasil), de acordo com o Laboratório Nacional de Referência Animal (LANARA) (BRASIL,
145 1981). O aparelho foi previamente calibrado, e 5 g da amostra foram diluídos em 50 mL de
146 água destilada, homogeneizada e então levada à leitura.

147 A umidade foi determinada através do Método A: Umidade e voláteis e sólidos totais
148 segundo a Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006 (BRASIL, 2006). Logo,
149 foram pesados aproximadamente 5 g de amostra, permanecendo em estufa a temperatura de
150 102°C (\pm 2), onde pesagens da amostra foram realizadas em intervalos de 1 hora até peso
151 constante e, então, calculado o teor de umidade.

152 A determinação do teor de gordura das amostras foi realizada de acordo com o método
153 Método I: Butirométrico para queijo pelo butirômetro de leite, segundo a Instrução Normativa
154 nº 68, de 12 de dezembro de 2006 (BRASIL, 2006). Foram pesados aproximadamente 2 g de
155 amostra, que foi adicionada de 10 mL de uma solução de ácido sulfúrico, de densidade 1,605
156 e levada ao aquecimento, a uma temperatura de 60°C. Homogeneizou-se até dissolução
157 completa do resíduo. Passou-se para um butirômetro de leite, ao qual foram adicionados mais
158 8 mL da solução de ácido sulfúrico e 1 mL de álcool isoamílico. As amostras nos
159 butirômetros foram transferidas para banho-maria a 65°C por 10 minutos, em seguida foram
160 centrifugadas durante 5 minutos, e então, recolocadas em banho-maria por mais 10 minutos e
161 então realizada a leitura.

162 Os dados microbiológicos e físico-químicos foram submetidos a um delineamento
163 inteiramente casualizado e foi realizada Análise de Variância (ANOVA), sendo que as médias
164 foram comparadas pelo teste de Tukey, considerando o nível de significância de 5% ($p < 0,05$),
165 utilizando o programa estatístico SPSS 13.0 (NORUSIS, 2005).

166 **Resultados e discussão**

167 A Tabela 1 mostra os resultados das análises físico-químicas realizadas. Os resultados
168 de umidade mostram que as amostras de queijo mussarela analisadas podem ser classificadas
169 como de média umidade ($36\% < \text{umidade} < 46\%$), segundo a portaria nº 146 de 07 de março
170 de 1996, que aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos (BRASIL,
171 1996). Esses resultados atendem à portaria nº 364 de 04 de setembro de 1997, que aprova o
172 Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Queijo Mussarela, a qual
173 permite o teor máximo de umidade de 60% para queijo mussarela (BRASIL, 1997).

174 O pH das amostras variou de 5,19 a 5,43 e apresentaram diferença estatística
175 significativa entre si, pelo teste de Tukey. Os resultados vão ao encontro da média de pH
176 encontrada para este tipo de queijo, segundo Furtado & Lourenço Netto, 1994.

177 Em relação ao teor de gordura no extrato seco, os queijos analisados foram classificados
178 como gordos ($45\% < \text{matéria gorda no extrato seco} < 59,9\%$), segundo a portaria 146 de 07 de
179 março de 1996 (BRASIL, 1996), atendendo a especificação da portaria nº 366 de 04 de
180 setembro de 1997, a qual exige o mínimo de 35% de gordura no extrato seco. As amostras
181 diferiram estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, onde as marcas C e D apresentaram menores
182 conteúdos de gordura.

183 Na Tabela 2 encontram-se os resultados de coliformes termotolerantes determinados nos
184 períodos I e II. A tabela permite verificar que das 5 marcas de queijo analisadas, 3
185 apresentaram valores menores que 3 NMP.g^{-1} . As amostras B e C apresentaram maiores
186 valores para coliformes termotolerantes no período I (4 e $3,7 \text{ NMP.g}^{-1}$, respectivamente),
187 porém estes valores encontram-se dentro do limite permitido pela legislação, definido na
188 Resolução - RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária
189 (ANVISA), de $5 \times 10^2 \text{ NMP.g}^{-1}$ (BRASIL, 2001). Estas duas amostras apresentaram diferença
190 significativa entre os dois períodos de análise, sendo que nos dois casos, foi encontrada uma

191 quantidade menor de coliformes termotolerantes no período II. Este resultado deve-se
 192 provavelmente às condições de meio (pH, atividade de água, inibidores naturais presentes,
 193 dentre outros) menos favoráveis à sobrevivência do micro-organismo no queijo estocado.

194 Tabela 1 – Médias dos valores e desvios padrões de pH, umidade e gordura no extrato seco
 195 (GES) das amostras de queijo Mussarela fatiado e embalado a vácuo aos 15 dias após a
 196 fabricação.

Amostra	pH	Umidade (%)	GES (%)
A	5,32 ± 0,01 ^{a*}	39,58 ± 0,869 ^a	49,03 ± 0,548 ^{ab}
B	5,43 ± 0,007 ^b	42,51 ± 0,375 ^b	49,93 ± 0,497 ^{ab}
C	5,34 ± 0,01 ^a	42,96 ± 0,212 ^{bc}	45,29 ± 0,735 ^b
D	5,25 ± 0,02 ^c	45,44 ± 0,494 ^c	45,20 ± 0,269 ^b
E	5,19 ± 0,01 ^d	45,10 ± 0,212 ^c	53,09 ± 0,452 ^a
F	5,21 ± 0,01 ^{cd}	45,2 ± 0,118 ^c	52,98 ± 0,521 ^a

197 * A média dos resultados com a mesma letra indica que não há diferença significativa (Teste de Tukey).
 198

199 Tabela 2 – Número mais provável (NMP.g⁻¹) de coliformes termotolerantes encontrados nas
 200 amostras de queijo Mussarela dentro (I) e fora (II) do prazo de validade.

Amostra	Coliformes termotolerantes (NMP.g ⁻¹)*
A _I	< 3 ^{a**}
A _{II}	< 3 ^a
B _I	4 ^b
B _{II}	< 3 ^a
C _I	3,7 ^b
C _{II}	< 3 ^a
D _I	< 3 ^a
D _{II}	< 3 ^a
E _I	< 3 ^a
E _{II}	< 3 ^a

201 * Limite máximo para coliformes fecais é 5,0 x 10² NMP.g⁻¹, segundo a Resolução – RDC nº 12, de 02 de
 202 janeiro de 2001 da ANVISA (BRASIL, 2001).

203 ** A média dos resultados com a mesma letra indica que não há diferença significativa (Teste de Tukey).

204 Os resultados encontrados para coliformes termotolerantes da amostra F, de queijo
 205 Mussarela fatiado comercializado à granel estão demonstrados na Tabela 3. A amostra foi
 206 analisada semanalmente, sendo coletada sempre no final do dia, com o objetivo de se verificar
 207 a influência da exposição do produto. Os resultados foram satisfatórios considerando-se que
 208 todas as amostras encontraram-se dentro dos padrões exigidos pela RDC 12/2001 (BRASIL,
 209 2001).

210 Tabela 3 – Número mais provável (NMP.g⁻¹) de coliformes termotolerantes encontrados nas
 211 amostras de queijo Mussarela fatiados vendidos à granel em supermercado.

Período	Amostra F	
	Coliformes termotolerantes (NMP.g ⁻¹)*	
1ª semana	< 3 ^{a**}	
2ª semana	< 3 ^a	
3ª semana	< 3 ^a	
4ª semana	< 3 ^a	
5ª semana	< 3 ^a	

212 * Limite máximo para coliformes fecais é $5,0 \times 10^2$ NMP.g⁻¹, segundo a Resolução – RDC nº 12, de 02 de
 213 janeiro de 2001 da ANVISA (BRASIL, 2001).

214 ** A média dos resultados com a mesma letra indica que não há diferença significativa (Teste de Tukey).

215

216 QUINTANA & CARNEIRO (2007) avaliando as condições higiênico-sanitárias do
 217 queijo tipo Mussarela produzido na cidade de Morrinhos – GO, encontraram o valor máximo
 218 de $1,7 \times 10^1$ UFC/g para coliformes fecais nas amostras analisadas, sendo abaixo do valor
 219 máximo permitido pela legislação. PIETROWSKI *et al.* (2008) monitoraram a qualidade
 220 microbiológica de queijo tipo Mussarela comercializado na cidade de Ponta Grossa - PR e os
 221 resultados das análises para coliformes termotolerantes revelaram que 100% das amostras
 222 encontravam-se dentro do padrão microbiológico. Esses estudos apresentam resultados que
 223 vem de encontro aos relatados no presente trabalho.

224 Os resultados das análises para *Staphylococcus* coagulase positiva estão expostos nas
 225 Tabelas 4 e 5. Tanto as amostras embaladas à vácuo, dentro e fora do prazo de validade

226 (Tabela 4), como as comercializadas à granel (Tabela 5), não foram observadas a produção
 227 de coagulase positiva, estando todas dentro dos padrões microbiológicos exigidos pela RDC
 228 12/2001 igual a 10^3 UFC.g⁻¹ (BRASIL, 2001).

229 Tabela 4 – Contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva das amostras de queijo Mussarela
 230 fatiado embalado à vácuo.

Amostra	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva (UFC.g ⁻¹)*
A _I	< 1,0 x10 ² a**
A _{II}	< 1,0 x10 ² a
B _I	< 1,0 x10 ² a
B _{II}	< 1,0 x10 ² a
C _I	< 1,0 x10 ² a
C _{II}	< 1,0 x10 ² a
D _I	< 1,0 x10 ² a
D _{II}	< 1,0 x10 ² a
E _I	< 1,0 x10 ² a
E _{II}	< 1,0 x10 ² a

231 * Limite máximo para *Staphylococcus* coagulase positiva é 10^3 UFC.g⁻¹, segundo a Resolução – RDC nº 12,
 232 de 02 de janeiro de 2001 da ANVISA (BRASIL, 2001).

233 ** A média dos resultados com a mesma letra indica que não há diferença significativa (Teste de Tukey).
 234

235 Tabela 5 - Resultados da análise de *Staphylococcus* coagulase positiva nas amostras de queijo
 236 Mussarela fatiados vendidos à granel.

Período	Amostra F <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva (UFC.g ⁻¹)*
1ª semana	< 1,0 x10 ² a**
2ª semana	< 1,0 x10 ² a
3ª semana	< 1,0 x10 ² a
4ª semana	< 1,0 x10 ² a
5ª semana	< 1,0 x10 ² a

237 * Limite máximo para *Staphylococcus* coagulase positiva é 10^3 UFC.g⁻¹, segundo a Resolução – RDC nº 12, de
 238 02 de janeiro de 2001 da ANVISA (BRASIL, 2001).

239 ** A média dos resultados com a mesma letra indica que não há diferença significativa (Teste de Tukey).

240 Os resultados de RIBEIRO (2003) conferem com os deste trabalho, já que o mesmo
241 verificou que 100% de suas amostras estavam dentro dos padrões, assim como QUINTANA e
242 CARNEIRO (2007) que tendo analisado queijo tipo Mussarela e Minas Frescal, da cidade de
243 Morrinhos em Goiás, nos meses de abril, junho, julho e agosto, quanto a contagem de
244 *Staphylococcus* coagulase positiva, evidenciaram que apenas o resultado obtido no mês de
245 maio, e para o queijo tipo Minas Frescal, apresentaram valores acima do limite estabelecido
246 pela legislação.

247 Apesar de, pela legislação brasileira, todas as amostras terem sido adequadas ao
248 consumo pela ausência de *Staphylococcus* coagulase positiva, os estafilococos não produtores
249 de coagulase também podem ser produtores de enterotoxinas, e deste modo, oferecer risco ao
250 consumidor (PEREIRA & PEREIRA, 2005).

251 Conforme demonstrado na Tabela 6, os resultados da pesquisa de *Salmonella sp.*
252 indicam que das 6 amostras analisadas no primeiro período, uma marca de queijo mussarela
253 fatiado e embalado à vácuo (B) apresentou a presença deste microrganismo, o que
254 corresponde a 16,67% das amostras avaliadas, estando fora dos padrões permitidos pela
255 legislação (BRASIL, 2001), a qual exige ausência de *Salmonella* em 25 g de amostra. Já no
256 período II, não foi detectada a presença deste microrganismo em nenhuma das amostras,
257 assim como nas amostras de queijos fatiados à granel (Tabela 7).

258 PIETROWSKI *et al.* (2008) em seu estudo observou que uma das amostras analisadas
259 também estava fora do padrão, detectando a presença de *Salmonella sp.* Já RIBEIRO (2003)
260 analisando a qualidade microbiológica do queijo tipo Mussarela fatiado disponível em
261 supermercados da cidade de Ponta Grossa – PR obteve 100% de suas amostras dentro do
262 padrão vigente, assim como OLIVIERI (2004) que estudou a qualidade microbiológica de
263 amostras de mercado de queijo tipo Mussarela, elaborado a partir de leite de búfala, não
264 detectou a presença deste microrganismo em nenhuma das amostras observadas.

265 Tabela 6 – Resultados da análise de *Salmonella sp.* nas amostras de queijo Mussarela fatiados
266 embalados à vácuo dentro (Período I) e fora (Período II) do prazo de validade.

Amostra	<i>Salmonella sp.</i> *
A _I	Ausência
A _{II}	Ausência
B _I	Presença
B _{II}	Ausência
C _I	Ausência
C _{II}	Ausência
D _I	Ausência
D _{II}	Ausência
E _I	Ausência
E _{II}	Ausência

267 * A Resolução – RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 da ANVISA (BRASIL, 2001) exige ausência de
268 *Salmonella sp.* em 25 g de amostra.
269

270 Tabela 7 - Resultados da análise de *Salmonella sp.* nas amostras de queijo Mussarela fatiados
271 vendidos à granel.

Período	Amostra F <i>Salmonella sp.</i> *
1ª semana	Ausência
2ª semana	Ausência
3ª semana	Ausência
4ª semana	Ausência
5ª semana	Ausência

272 * A Resolução – RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 da ANVISA (BRASIL, 2001) exige ausência de
273 *Salmonella sp.* em 25 g de amostra.
274

275 A ausência de *Salmonella sp.* nas amostras indica um processamento adequado. Além
276 disso, essa bactéria não é uma boa competidora, sofrendo injúria em meios ácidos ou com a
277 presença de coliformes, principalmente, se a contaminação inicial for com um número
278 pequeno de células. Nestas condições, esses microrganismos podem desaparecer ou
279 permanecer em números indetectáveis em alimentos ácidos ou muito contaminados (BRASIL,

280 2003), fato o qual pode justificar a ausência de *Salmonella sp.* na amostra B no segundo
281 período de análise.

282 **Conclusões**

283 Os resultados físico-químicos das amostras classificaram os queijos analisados como
284 sendo de média umidade e, conforme o teor de matéria gorda no extrato seco, como queijos
285 gordos. Todas as amostras de queijo mussarela fatiados, embalados a vácuo e à granel,
286 atenderam os padrões exigidos pela legislação brasileira.

287 Quanto aos padrões microbiológicos todas as amostras encontraram-se dentro dos
288 padrões microbiológicos para coliformes termotolerantes e *Staphylococcus* coagulase
289 positiva, porém em uma marca foi detectada a presença de *Salmonella sp.*, sendo esta
290 considerada imprópria para o consumo humano.

291 Os resultados da marca de queijo mussarela fatiado à granel, F, mostraram que o
292 fatiamento e o local de exposição no supermercado apresentaram condições higiênico-
293 sanitárias satisfatórias, livres de contaminação, uma vez que os resultados obtidos
294 encontravam-se todos dentro dos limites permitidos pela legislação brasileira.

295 Em relação à amostra contaminada por *Salmonella sp.*, como as que apresentaram
296 *Staphylococcus* coagulase negativa e coliformes termotolerantes (mesmo dentro dos
297 padrões), não pode-se afirmar que a contaminação tenha ocorrido durante o processo de
298 fabricação dos queijos ou se foi durante o fatiamento dos mesmos. Sendo assim, percebe-se a
299 necessidade de realizar uma pesquisa com queijo mussarela, em amostras não fatiadas e fatiadas
300 de um mesmo lote do produto, para que o problema de contaminação possa ser rastreado e
301 resolvido.

302 **Referências bibliográficas**

- 303 BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).
304 Resolução nº 12, de 02 de Janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões
305 microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 02 jan. 2001. 51 p.
- 306 BRASIL, Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa
307 Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal – LANARA. **Métodos Analíticos**
308 **para o Controle de Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes - Métodos físicos e**
309 **químicos**. Brasília, 1981.
- 310 BRASIL, Ministério da Agricultura, Abastecimento e Reforma Agrária. Portaria nº 146 de 07
311 de março de 1996. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos produtos lácteos.
312 **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 11 de março de 1996. Seção 1. p. 3978-3986.
- 313 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n. 364 de 04 de
314 setembro de 1997. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Queijo
315 Mozzarella (Muzzarella ou Mussarella). (aprovado pelo Decreto nº 30.691 de 29/03/1952 e
316 alterado pelo Decreto 1255 de 25/06/1962). **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, portaria nº
317 364 de 04 de setembro de 1997.
- 318 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de
319 26 de agosto de 2003. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle
320 de produtos de origem animal e água. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 26 ago. 2003.
- 321 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68, de
322 12 de dezembro de 2006. Métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite.
323 **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 12 dez. 2006.
- 324 FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da Segurança Alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2002.
- 325 FRANCO, R. M.; ALMEIDA, L. E. F. Avaliação microbiológica de queijo ralado, tipo
326 parmesão, comercializado em Niterói, RJ. **Revista Higiene Alimentar**, v.6, n.21, p.33-36,
327 1992.

- 328 HOBBS, B. C; ROBERTS, D. **Toxinfeções e controle Higiênico-Sanitário de Alimentos.**
329 1. ed. São Paulo: Livraria Varela. 1998. 64p.
- 330 IARIA, S. T. (1991). Staphylococcus aureus em manipuladores de alimentos. In IV Simpósio
331 Brasileiro de microbiologia de alimentos. Goiânia – GO. p.64 – 76, abril, 1991.
- 332 OLIVIERI, D. A. Avaliação da Qualidade Microbiológica de amostras de mercado de Queijo
333 Mussarela elaborado a partir de leite de búfala. Dissertação de mestrado. Universidade de São
334 Paulo, Piracicaba – SP, 2004.
- 335 PEREIRA, K. S.; PEREIRA, J. L. Estafilococos coagulase negativa: potenciais patógenos em
336 alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.19, n.129, p.32-34, 2005.
- 337 PIETROWSKI G. A. M.; RANTHUM M.; CROZETA T.; JONGE V. **Avaliação da**
338 **qualidade microbiológica de queijo tipo mussarela comercializado na cidade de Ponta**
339 **Grossa, Paraná.** VI Semana de Tecnologia em Alimentos, Universidade Tecnológica
340 Federal do Paraná – UTFPR, Ponta Grossa, PR, Brasil, v 02, n. 38, 2008. Disponível em:
341 <http://www.pg.utfpr.edu.br/depog/periodicos/index.php/rbta/article/view/280>. Acesso em: 12
342 dez. 2010.
- 343 QUINTANA, R. C.; CARNEIRO, L. C. Avaliação das condições higiênico-sanitárias dos
344 queijos minas frescal e mussarela produzidos na cidade de Morrinhos – GO. **Revista**
345 **Brasileira de Saúde e Produção Animal.** v. 8, n.3, p. 205-211, 2007. Disponível em:
346 <http://revistas.ufba.br/index.php/rbspa/article/view/756/489>. Acesso em: 11 dez. 2010.
- 347 RIBEIRO, C. DE C. Análise da Qualidade Microbiológica do Queijo Mussarela Fatiado
348 Disponível em Supermercados da Cidade de Ponta Grossa, no Estado do Paraná. **Revista**
349 **Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, Ponta Grossa v. 02, n. 2: p. 25-31, 2008.
350 Disponível em: em:
351 <http://www.pg.utfpr.edu.br/depog/periodicos/index.php/rbta/article/viewFile/280/248>. Acesso
352 em: 11 dez. 2010.

- 353 SANTOS, M. V. Leite com CCS elevada tem menor rendimento para a fabricação de queijo
354 Mussarela. 2009. Disponível em:
355 <http://www.milkpoint.com.br/noticiaID=35209&actA=7&areaID=61&secaoID=180>. Acesso
356 em 17 de outubro de 2010.
- 357 SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A **Manual de métodos de análises**
358 **microbiológicas de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 2001. 317p.
- 359 VALLE, J. L. E.; CAMPOS, S. D. S.; YOTSUNAGI, K; SOUZA, G. Influência do teor de
360 gordura nas propriedades funcionais do queijo tipo mozzarella. **Revista Ciência e Tecnologia**
361 **de Alimentos**, Campinas, v.24, n.4, p.669-673, out./dez. 2004. Disponível em:
362 <http://www.scielo.br/pdf/cta/v24n4/a32v24n4.pdf>. Acesso em 05 dez. 2010.

4 DISCUSSÃO GERAL

Os principais perigos existentes na matéria-prima, no manipulador, nos equipamentos, nas instalações que por ventura podem contaminar o queijo durante o seu processamento, são basicamente as bactérias patogênicas. Os alimentos podem servir como veículos de agentes patogênicos ao homem, ou como substrato para microrganismos que poderão elaborar substâncias nocivas, que trarão prejuízos quando ingeridas (GONÇALVES, 1998).

Os resultados deste trabalho vieram sanar dúvidas em relação à qualidade microbiológica das principais marcas de queijo Mussarela comercializadas na região Noroeste do estado do Rio Grande do Sul, dados importantes visto os benefícios deste produto e seu elevado consumo.

Os baixos níveis de coliformes fecais e *Staphylococcus aureus* encontrados nas amostras de queijo mussarela fatiado embalados à vácuo, assim como na marca analisada comercializada à granel podem estar relacionados com diversos fatores, desde a utilização de uma matéria-prima de boa qualidade para fabricação destes produtos, um processamento adequado, com boas práticas de fabricação, diminuindo ao máximo a contaminação dos mesmos, até uma estocagem e distribuição aos destinos para consumo adequados.

Por outro lado, deve-se voltar a atenção para a marca em que foi detectada a presença de *Salmonella sp.*, visto que é exigido ausência deste micro-organismo pela legislação, devendo, desta forma, haver um maior controle por parte dos órgãos fiscalizadores.

Os resultados da amostra de queijo Mussarela fatiado comercializado à granel mostraram condições higiênico-sanitárias satisfatórias que podem ser devidas não só ao local onde o produto ficava exposto, mas também do processo de fatiamento e higiene dos manipuladores do estabelecimento onde as amostras foram adquiridas.

Das fontes de contaminação, o homem é um fator de relevante importância para obtenção de alimentos de melhor qualidade, pois, direta ou indiretamente está associado à contaminação por micro-organismos que podem ocasionar deterioração ou representar risco ao consumidor (IARIA, 1991).

5 CONCLUSÕES

Em virtude da variabilidade da matéria-prima, os parâmetros físico-químicos diferiram significativamente ($P > 0,05$) entre as marcas analisadas, demonstrando que não há um padrão uniforme dos queijos mussarela.

Os resultados para coliformes e *Staphylococcus* coagulase positiva foram satisfatórios, encontrando-se dentro dos padrões da legislação vigente, fornecendo maior segurança aos consumidores de queijo mussarela fatiado da região Noroeste do Rio Grande do Sul em relação a estes micro-organismos.

A avaliação microbiológica das amostras de queijo mussarela fatiado embalado à vácuo condenou uma das amostras analisadas no período I, na qual foi detectada a presença de *Salmonella* sp. Já no período II todas as amostras estavam de acordo com os padrões microbiológicos.

A amostra de queijo fatiado comercializado à granel estava dentro dos limites permitidos pela legislação para os micro-organismos analisados.

Sugere-se estudos que dêem continuidade à investigação quanto à qualidade microbiológica de queijos mussarela fatiados e não-fatiados, a fim de ser rastreada a possível fonte de contaminação dos mesmos.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARRUDA, G. A.; POPOLIM, W. D.; FUJINO, H. *et al.* Avaliação das condições de entrega de gêneros perecíveis em unidade de alimentação e nutrição, através do método de análise de perigos e pontos críticos de controle (APPCC). **Higiene Alimentar**, v.10, n.44, p.44-48, 1996.

BANKS, W. E.; DALGLEISH, D. G. Milk and processing. In: Robson R.K. (Ed.). **Dairy Microbiology**. 2. ed. Londres: Elsevier App, 1990.

BERNARDO, F. M. A. **Queijaria Tradicional**. Instituto Nacional de Formação Turística, Lisboa, 1986.

BISHOP, J. R.; WHITE, C. H. Estimation of potential shelf-life of pasteurized fluid milk utilizing bacterial numbers and metabolites. **Journal of Food Protection**, v.48, n.8, p.663-667, 1988.

BONASSI, A. T. Métodos atuais e modernos para análise de leite e derivados. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, V. 39, n. 235, p. 17-22, 1984.

BORGES, M. S.; RODRIGUES, R.; RUBINICH, J.; FAGUNDES, C. M. Comparison of the two types of milk at two sources in Belo Horizonte, Brasil market. **Journal of Food Protection**, v.41, n.9, p.739-742, 1978.

BRASIL, Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal – LANARA. **Métodos Analíticos para o Controle de Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes - Métodos físicos e químicos**. Brasília, 1981.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Abastecimento e Reforma Agrária. Portaria n. 146 de 07 de março de 1996. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos produtos lácteos. **Diário Oficial da União**. Brasília,DF, 11 de março de 1996. Seção 1. p. 3978-3986.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n. 364 de 04 de setembro de 1997. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Queijo Mozzarella (Muzzarela ou Mussarela). (aprovado pelo Decreto nº 30.691 de 29/03/1952 e alterado pelo Decreto 1255 de 25/06/1962). **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, portaria nº 364 de 04 de setembro de 1997.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução nº 12, de 02 de Janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 02 jan. 2001. 51 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 26 ago. 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Métodos analíticos oficiais físico-químicas para controle de leite. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 12 dez. 2006.

BUZI, K. A.; PINTO J. P. A. N.; RAMOS P. R. R.; BIONDI G. F. Análise microbiológica e caracterização eletroforética do queijo mussarela elaborado a partir de leite de búfala. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 29(1): 7-11 , jan.-mar. 2009.

CAMPBELL, J. R.; MARSHALL, R. T. Public health and the dairy industries. In: _____. **The science of providing milk for man**. New York: McGrall-Hill, 1975, p.482 – 495.

CHALITA, M. A. N.; SILVA R. O. P.; PETTI R. H. V.; SILVA C. R. L. Algumas considerações sobre a fragilidade das concepções de qualidade no mercado de queijos no Brasil. **Informações Econômicas**. São Paulo, v.39, n.6, jun. 2010.

CRAVEN, H. M.; MACAULEY, B. J. Microorganisms in pasteurized milk after refrigerated storage. III. Effects of milk processor. **Journal of Dairy Technology**, v.47, n.1, p.50-55, 1993.

ECK, A.; GILLIS, J. C. **Le Fromage, de la science à l'assurance qualite**. Paris: Lavoisier. 1997.

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da Segurança Alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2002.

FOX, P. F.; GUINEE, T. P.; COGAN, T. M.; MCSWEENEY, P. L. H. **Fundamentals of cheese science**. Gaithersburg: AN Aspen Publication, 2000. 587p.

FRANCO, R. M. & ALMEIDA, L. E. F. Avaliação microbiológica de queijo ralado, tipo parmesão, comercializado em Niterói, RJ. **Revista Higiene Alimentar**, v.6, n.21, p.33-36, 1992.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008.

FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D. C. **Microbiologia de los alimentos**. 4. ed. Zaragoza: Acribia, 1993. 667p.

FURTADO, M. M. **A arte e a ciência do queijo**. 2. ed. São Paulo, Globo, 1991.

FURTADO, M.M. **Manual Prático da Mussarella (Pizza Cheese)**. Campinas: Master Graf, 1997. 70p.

FURTADO, M. M. **Principais problemas dos queijos: causas e prevenção**. São Paulo: Fonte Comunicações, 1999.

FURTADO, M. M.; LOURENÇO-NETTO, J. P. M. **Tecnologia de queijos: Manual técnico para a produção industrial de queijos**. São Paulo: Dipemar, 1994. 118p.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. Agentes bacterianos de toxinfecções. In: _____. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. São Paulo: Varela, 2003, p.215- 275.

GOMES, M. I. F. V. **Alterações na qualidade do leite pasteurizado pela ação de lipase microbiana**. Piracicaba: ESALQ, 1988. 85p.

GONÇALVES, P. M. R. Toxinfecções alimentares: uma revisão. **Higiene alimentar**, vol. 12, nº 53: p.38-44, jan/fev, 1998.

GUINEE, T. P.; FEENEY, E. P.; AUTY, M. A. E.; FOX, P. F. Effect of pH and calcium concentration on some textural and functional properties of Mozzarella cheese. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.85, n.7, p.1655-1669, July, 2002.

HARDING, F. Nutricional aspects. In: _____. **Milk quality**. London: Chapman & Hall, 1995, p.151-162

HOBBS, B. C; ROBERTS, D. **Toxinfecções e controle Higiênico-Sanitário de Alimentos**. 1. ed. São Paulo: Livraria Varela. 1999.

HÜHN, S.; HAJDENWURCEL, J. R.; MORAES, J. M. *et al.* Qualidade microbiológica do leite cru obtido por meio de ordenha manual e mecânica e ao chegar à plataforma. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.35, n.209, p.3-8, 1980.

HÜNH, S.; FERREIRO, L.; MOURA CARVALHO, L. O. **Estudo comparativo da composição química do leite de zebuínos e bubalinos**. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1982.

IARIA, S. T. (1991). **Staphylococcus aureus em manipuladores de alimentos**. In IV Simpósio Brasileiro de microbiologia de alimentos. Goiânia – GO. p.64 – 76, abril, 1991.

JAY, J. M. **Microbiología moderna de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1994. 804p.

KINDSTEDT, P. S. Mozzarella and pizza cheese. In: FOX, P.F. (Ed.) **Cheese: Chemistry, physics and microbiology**, London, New York. Elsevier Applied Science Publishers, 1993. Vol.2, cap.12, p.337-362.

KOSIKOWSKI, F. V.; MISTRY, V.V. **Cheese and fermented cheese foods**. 3.ed. AVI Publishing Company, Westport, 1997.

MAGALHÃES, F. A. R. **Evolução de características físico-químicas e sensoriais durante a maturação do queijo tipo gorgonzola**. Lavras, MG. 2002. 85p. Dissertação de doutorado. Universidade Federal de Lavras, 2002.

McMAHON, D. J.; OBERG, C. J.; McMANUS, W. Functionality of mozzarella cheese. **Australian Journal of Dairy Technology**, Highett, v.48, n.2, p.99-104, Nov., 1993.

MERCADO de queijo, uma visão do Brasil. **Carta Leite**, Bebedouro (SP), 31 out. 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Sistema de informações hospitalares**. Brasília : DATASUS, 1999.

MUTUKUMIRA, A. N.; FERESU, S. B.; NARVHUS, J. A.; ABRAHAMSEN, R. K. Chemical and microbiological quality of raw milk produced by smallholder farmers in Zimbabwe. **Journal of Food Protection**, v.59, n.9, p.984-987, 1996.

NORUSIS, M. **SPSS 13.0: guide to data analysis**. Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, 2005.

OLIVEIRA, C. A. F. Qualidade do leite no processamento de derivados. In: GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. (Ed.) **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. 2.ed. São Paulo: Varela, 2003, p.91-102.

OLIVEIRA, T. F. M. de. **Evolução ao longo do tempo de vida útil do teor microbiológico de queijos frescos mantidos sob refrigeração doméstica**. Dissertação de mestrado. Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2010.

OLIVIERI, D. A. Avaliação da Qualidade Microbiológica de amostras de mercado de Queijo Mussarela elaborado a partir de leite de búfala. Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo, Piracicaba – SP, 2004.

PERRY, K. S. P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**. v.27, n.2. p. 293-300. São Paulo. mar/ abr. 2004.

PEREIRA, M. L.; GASTELOIS, M. C. A.; BASTOS, E. M. A. F.; CAIAFFA, W. T.; FALEIRO, E. S. C. Enumeração de coliformes fecais e presença de *Salmonella* sp. em queijo minas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 51, n. 5, 1999.

PEREIRA, K. S.; PEREIRA, J. L. Estafilococos coagulase negativa: potenciais patógenos em alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.19, n.129, p.32-34, 2005.

PIETROWSKI G. A. M.; RANTHUM M.; CROZETA T.; JONGE V. **Avaliação da qualidade microbiológica de queijo tipo mussarela comercializado na cidade de Ponta Grossa, Paraná**. VI Semana de Tecnologia em Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Ponta Grossa, PR, Brasil, v 02, n. 38, 2008.

PINHO, O. & FERREIRA, I. M. P. L. V. O. **Queijo, um alimento para todas as idades**. Entre o queijo tradicional e os novos alimentos funcionais. Leite I + D + T, nº1, Junho de 2006, pág. 10-11.

QUINTANA, R. C.; CARNEIRO, L. C. Avaliação das condições higiênico-sanitárias dos queijos minas frescal e mussarela produzidos na cidade de Morrinhos – GO. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. v. 8, n.3, p. 205-211, 2007.

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

REZENDE, D. C. de. **Estratégia de coordenação e qualidade na cadeia dos queijos finos**. 2004. 181p. Tese (Doutorado em: Desenvolvimento, Agricultura e Sociedade)-Instituto VELEN de Ciências Humanas e Sociais, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004.

RIBEIRO, C. DE C. **Análise da Qualidade Microbiológica do Queijo Mussarela Fatiado Disponível em Supermercados da Cidade de Ponta Grossa, no Estado do Paraná**. Ponta Grossa: 2003.

RIEDEL, G. Industrialização de alimentos e inspeção de alimentos industrializados. In: _____. **Controle sanitário dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996, Cap. X, p. 183-248.

SALOTTI, B. M.; CARVALHO A. C. F. B.; AMARAL L. A.; VIDAL-MARTINS A. M. C.; CORTEZ A. L. Qualidade microbiológica do queijo minas frescal comercializado no Município de Jaboticabal, SP, Brasil. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v.73, n.2, p.171-175, abr./jun., 2006.

SALVADOR, M.; CAMASSOLA, M.; MOSCHEN, E.S.; ZANROSSO, A.V. Avaliação microbiológica de queijo prato e parmesão ralado. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*. Curitiba, v. 19, n 1, p. 65-74, jan/jun 2001.

SANTOS M. V.; FONSECA L.F.L. **Estratégias para o controle da mastite e melhoria da qualidade do leite**. 1ª edição, Editora Manole. Barueri, SP, 2007.

SANTOS, M. V. Leite com CCS elevada tem menor rendimento para a fabricação de queijo Mussarela. 2009. Disponível em: <http://www.milkpoint.com.br/noticiaID=35209&actA=7&areaID=61&secaoID=180>. Acesso em 17 de outubro de 2010.

_____; SETTE, R. de S. **Pesquisa de marketing e segmentação em mercados agroalimentares**. In: CONGRESSO DE ECONOMIA E GESTÃO DE REDES AGROALIMENTARES, 2003, Ribeirão Preto (SP). **Anais...** Ribeirão Preto: FEA/USP, out. 2003.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. **A Manual de métodos de análises microbiológicas de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 2001. 317p.

SILVA, C. A. B; FERNANDES, A. R. **Projetos de empreendimentos agroindustriais**. Viçosa: Editora UFV, v. 1. Universidade Federal de Viçosa, 2005.

SILVA, F. T., Queijo Mussarela. **Embrapa Informação Tecnológica**. Brasília, DF, 2005.

SILVA, J. A. **Tópicos da Tecnologia de Alimentos**. São Paulo. Livraria Varela. 2000 p. 26-137.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo, Varela, 295 p., 1997.

SILVEIRA, I. A.; CARVALHO, E. P.; TEIXEIRA, D. Influência de microrganismos psicrotróficos sobre a qualidade do leite refrigerado – uma revisão. **Higiene alimentar**. v.12, n.55, p.21-27, 1998.

SPADOTI, L. M.; OLIVEIRA, A. J. Uso de leite reconstituído na fabricação de queijo mussarela. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.19, n.1, jan.-abr., 1999.

TRONCO, V. M. Alterações do leite ocasionadas por microrganismos. In: _____. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. Santa Maria: UFSM, 1997. Cap. 2, p. 35-38.

VALLE, J. L. E.; CAMPOS, S. D. S.; YOTSUNAGI, K; SOUZA, G. Influência do teor de gordura nas propriedades funcionais do queijo tipo mozzarella. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.24, n.4, p.669-673, out./dez. 2004.

VALLE, J. L. E.; LEITÃO, M. F. F. Desmineralização, pH e acidez durante a fermentação/acidificação do queijo mozzarella produzido pelas tecnologias tradicional e da acidificação direta. **Coletânea ITAL**, Campinas, v.25, n.1, p.59-66, 1995.

ZECCONI, A.; HAHN, G. *Staphylococcus aureus* in raw milk and human health risk. **Bulletin of IDF**, v.345, p.15 - 18, 2000.

ANEXO A - ORIENTAÇÃO AOS AUTORES PARA PUBLICAÇÃO NA REVISTA CIÊNCIA AGRONÔMICA

1. Política Editorial

A Revista Ciência Agronômica, publicada pelo Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, apresenta periodicidade trimestral e destina-se à publicação de **artigos científicos, artigos técnicos e notas científicas originais e não-publicados ou submetidos a outro periódico, inerentes às áreas de ciências agrárias e recursos naturais.**

2. Formatação do Artigo

Digitação: no máximo 20 páginas, formato A4, digitado em espaço duplo, fonte Times New Roman, estilo normal, corpo 12, recuo do parágrafo por 1 cm. Todas as margens deverão ter 2,5 cm. Os números de páginas devem ser colocados na margem superior, à direita. As linhas devem ser numeradas de forma contínua.

Estrutura: o artigo científico deverá ser redigido obedecendo a seguinte ordem: título, título em inglês, autores, resumo, palavras-chave, abstract, key words, introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusões, agradecimentos (opcional) e referências. Notas científicas não necessitam obedecer a mesma estrutura do artigo, mas devem conter, obrigatoriamente, título em inglês, resumo (incluindo palavras-chave) e abstract (incluindo key words).

Título: deve ser escrito com apenas a inicial maiúscula, em negrito e centralizado na página com no **máximo 15 palavras**. Como chamada de rodapé numérica, extraída do título, devem constar informações sobre a natureza do trabalho (se é pesquisa financiada, se é extraído de tese/dissertação) e referências às instituições colaboradoras.

Os títulos das demais seções da estrutura (resumo, palavras-chave, abstract,...) deverão ser escritos com apenas a inicial maiúscula, em negrito, justificado pela esquerda.

Autores: os nomes completos (sem abreviaturas) deverão vir abaixo do título, somente com a primeira letra maiúscula, um após outro, separados por vírgula e centralizados na linha. Como nota de rodapé na primeira página, deve-se indicar, de cada autor, afiliação completa (departamento, centro, instituição, cidade, estado e país), endereço eletrônico e endereço completo do autor correspondente. No caso de estudante, indicar o programa de pós-graduação.

O autor de correspondência deve ser identificado por um "*". Só serão aceitos artigos com mais de cinco autores, quando, comprovadamente, a pesquisa tenha sido desenvolvida em regiões distintas. **Na primeira versão do artigo submetido, os nomes dos autores e a nota de rodapé deverão ser omitidos.** O modelo a ser adotado para a inserção do nome dos autores e da nota de rodapé na **versão final do artigo** deve

seguir o apresentado no **modelo de artigo** (www.ccarevista.ufc.br)

Resumo e Abstract: devem começar com estas palavras, na margem esquerda, com apenas a inicial maiúscula, em negrito, contendo no máximo **250 palavras**.

Palavras-chave e Key words: devem conter no **mínimo três e no máximo cinco termos para indexação**, os quais não devem constar no título. Cada **palavra-chave e key word** devem iniciar com letra maiúscula e ser seguida de ponto.

Introdução: Deve ser compacta e objetiva contendo citações atuais que apresentem relação com o assunto abordado na pesquisa. As citações presentes na introdução devem ser empregadas para fundamentar a discussão dos resultados, criando, assim, a ligação entre o estudo da arte e a discussão dos resultados. Não deve conter mais de **550 palavras**.

Citação de autores no texto: devem ser observadas as normas da ABNT, NBR 10520 de agosto/2002.

Ex: Santos (2002) ou (SANTOS, 2002); com dois autores, usar Pereira e Freitas (2002) ou (PEREIRA; FREITAS, 2002);

com três ou mais autores, usar Xavier et al. (1997) ou (XAVIER et al., 1997).

Tabelas: serão denominadas de **Tabela**, numeradas consecutivamente com algarismos arábicos na parte superior. **Não usar linhas verticais.** As linhas horizontais devem ser usadas para separar o título do cabeçalho e este do conteúdo, além de uma no final da tabela. Cada dado deve ocupar uma célula distinta. Não usar negrito ou letra maiúscula no cabeçalho. Recomenda-se que as tabelas apresentem 8,2 cm de largura, não sendo superior a 17 cm. Veja a tabela presente no **modelo de artigo** (www.ccarevista.ufc.br)

Figuras: gráficos, fotografias ou desenhos levarão a denominação geral de **Figura** sucedida de numeração arábica crescente e legenda na parte inferior. Para a preparação dos gráficos deve-se utilizar “softwares” compatíveis com **Microsoft Windows** (Excel, Power Point, etc.). Na versão final devem ser gravadas em arquivo do tipo METAFILE ou TIFF. A resolução deve ser no mínimo **500 dps** e enviados em arquivos separados do arquivo de texto. As figuras devem apresentar 8,2 cm de largura, não sendo superior a 17 cm. A fonte empregada deve ser a Times New Roman, corpo 10 e não usar negrito na identificação dos eixos. As linhas dos eixos devem apresentar uma espessura de 2,5

mm de cor preta. A Revista Ciência Agronômica reserva-se ao direito de não aceitar tabelas e/ou figuras com o papel na forma “paisagem” ou que apresentem mais de 17 cm de largura. Os custos da publicação de fotos coloridas são de responsabilidade dos autores do artigo.

Tabelas e Figuras devem ser inseridas logo após à sua primeira citação.

Equações: devem ser digitadas usando o editor de equações do Word, com a fonte Times New Roman. As equações devem receber uma numeração arábica crescente. As equações devem apresentar o seguinte padrão de tamanho:

Inteiro = 12 pt

Subscrito/sobrescrito = 8 pt

Sub-subscrito/sobrescrito = 5 pt

Símbolo = 18 pt

Subsímbolo = 14 pt

Estas definições são encontradas no editor de equação no Word.

Estatística:

1. Caso tenha realizado análise de variância, apresentar os quadrados médios, juntamente com o resultado do teste F, se significativo ou não e a que nível de significância;
2. Dados quantitativos devem ser tratados pela técnica de análise de regressão;
3. Apresentar a significância dos coeficientes dos parâmetros das equações de regressão;
4. Dependendo do estudo (ex: função de produção), analisar os sinais associados aos parâmetros;
5. É requerido no mínimo quatro pontos para se efetuar o ajuste da equação de regressão;
6. Os coeficientes do modelo de regressão devem apresentar o seguinte formato: $y = a + bx + cx^2 + \dots$

Agradecimentos: logo após as conclusões poderão vir os agradecimentos a pessoas ou instituições, em estilo sóbrio e claro, indicando as razões pelas quais os faz.

Referências: deverão ser apresentadas em ordem alfabética de autores e de acordo com a NBR 6023 de agosto/2002 da ABNT. **UM PERCENTUAL DE 60% DO TOTAL DAS REFERÊNCIAS DEVERÁ SER ORIUNDO DE PERIÓDICOS CIENTÍFICOS INDEXADOS COM DATA DE PUBLICAÇÃO INFERIOR A 10 ANOS.** Nesse percentual de 60% não estão incluídos livros e anais, por exemplo. Com relação aos periódicos, é dispensada a informação do local de publicação, porém os títulos não devem ser abreviados. Recomenda-se um total de 20 a 30 referências.

Publicações com mais de três autores deve-se usar o et al.

Ex: ANDRADE, E. M. et al. Mapa de vulnerabilidade da bacia do Acaraú, Ceará, à qualidade das águas de irrigação, pelo emprego do GIS. **Revista Ciência Agronômica**, v. 37, n. 03, p. 280-287, 2006.

Alguns exemplos:

Livro

NEWMANN, A. L.; SNAPP, R. R. **Beef cattle**. 7. ed. New York: John Willey, 1977. 883 p.

Capítulo de livro

MALAVOLTA, E.; DANTAS, J. P. Nutrição e adubação do milho. In: PATERNIANI, E.; VIEGAS, G. P. **Melhoramento e produção do milho**. 2. ed. Campinas: Fundação Cargil, 1987. cap. 13, p.539-593.

Tese/dissertação

SILVA, M. N. da. **População de plantas e adubação de nitrogenada em algodoeiro herbáceo irrigado**. 2001. 52 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

Artigo de revista

XAVIER, D. F.; CARVALHO, M. M.; BOTREL, M. A. Resposta de *Cratylia argentea* à aplicação em um solo ácido. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 27, n. 01, p. 14-18, 1997.

ANDRADE, E. M. et al. (mais de 3 autores) Mapa de vulnerabilidade da bacia do Acaraú, Ceará, à qualidade das águas de irrigação, pelo emprego do GIS. **Revista Ciência Agronômica**, v. 37, n. 03, p. 280-287, 2006.

Resumo de trabalho de congresso

SOUZA, F. X.; MEDEIROS FILHO, S.; FREITAS, J. B. S. Germinação de sementes de cajazeira (*Spondias mombin* L.)

com pré-embebição em água e hipoclorito de sódio. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 11., 1999, Foz do Iguaçu. **Resumos...** Foz do Iguaçu: ABRATES, 1999. p.158.

Trabalho publicado em anais de congresso

BRAYNER, A. R. A.; MEDEIROS, C. B. Incorporação do tempo em SGBD orientado a objetos. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE BANCO DE DADOS, 9., São Paulo. **Anais...** São Paulo: USP, 1994. p.16-29.

Trabalho de congresso pela Internet

SILVA, R. N.; OLIVEIRA, R. Os limites pedagógicos do paradigma da qualidade total na educação. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPe, 4., 1996, Recife.

Anais eletrônicos... Recife: UFPe, 1996. Disponível em:

<<http://www.propesq.ufpe.br/anais/anais/educ/ce04.htm>>. Acesso em: 21 jan. 1997.

Trabalho de congresso em CD

GUNCHO, M. R. A educação à distância e a biblioteca universitária. In: SEMINÁRIO DE BIBLIOTECAS UNIVERSITÁRIAS, 10., 1998, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Tec Treina. 1 CD.

Unidades e Símbolos: As unidades e símbolos do Sistema Internacional adotados pela Revista Ciência Agronômica.

Grandezas básicas Unidades Símbolos Exemplos

Comprimento metro m

Massa quilograma kg

Tempo segundo s

Corrente elétrica amper A

Temperatura termodinâmica Kelvin K

Quantidade de substância mol mol

Unidades derivadas

Velocidade --- m s⁻¹ 343 m s⁻¹

Aceleração --- m s⁻² 9,8 m s⁻²

Volume metro cúbico, litro m³, L* 1 m³, 1 000 L*

Frequência Hertz Hz 10 Hz

Massa específica --- kg m⁻³ 1.000 kg m⁻³

Força newton N 15 N

Pressão pascal Pa 1,013.105 Pa

Energia joule J 4 J

Potência watt W 500 W

Calor específico --- J (kg °C)⁻¹ 4186 J (kg °C)⁻¹

Calor latente --- J kg⁻¹ 2,26. 106 J kg⁻¹

Carga elétrica coulomb C 1 C

Potencial elétrico volt V 25 V

Resistência elétrica ohm e 29 e

Intensidade de energia Watts/metros quadrado W m⁻² 1.372 W m⁻²

Concentração mol/metro cúbico mol m⁻³ 500 mol m⁻³

Condutância elétrica siemens S 300 S

Condutividade elétrica desiemens/metro dS m⁻¹ 5 dS m⁻¹

Temperatura grau Celsius °C 25 °C

Ângulo grau ° 30°

Porcentagem --- % 45%

Números mencionados em seqüência devem ser separados por **ponto e vírgula** (;). Ex: 2,5; 4,8; 25,3.

3. Lista de verificação - Revista Ciência Agronômica

Visando a maior agilidade no processo de submissão de seu artigo, o Corpo Editorial da Revista Ciência Agronômica, elaborou uma lista de verificação para que o autor possa conferir toda a formatação do manuscrito de sua autoria, **ANTES** de submetê-lo para publicação. A lista foi elaborada de acordo com as normas da Revista Ciência Agronômica. Respostas **NEGATIVAS** significam que seu artigo ainda deve ser adaptado às normas da revista e a submissão de tais artigos implicará na sua devolução e retardo na tramitação. Respostas **POSITIVAS** significam que seu artigo está em concordância com as normas, implicando em maior rapidez na tramitação.

A. Referente ao trabalho

1. O trabalho é original?
2. O trabalho representa uma contribuição científica para a área de Ciências Agrárias?
3. O trabalho está sendo enviado com exclusividade para a Revista Ciência Agronômica?

B. Referente à formatação

4. O trabalho pronto para ser submetido online está omitindo os nomes dos autores?
5. O trabalho contém no máximo 20 páginas, está no formato A4, digitado em espaço duplo, incluindo as referências; fonte Times New Roman, tamanho 12, incluindo títulos e subtítulos?
6. As margens foram colocadas a 2,5 cm, a numeração de páginas foi colocada na margem superior, à direita e as linhas foram numeradas de forma contínua?
7. O recuo do parágrafo de 1 cm foi definido na formatação do parágrafo? Lembre-se que a revista não aceita recuo de parágrafo usando a tecla “TAB” ou a “barra de espaço”.
8. A estrutura do trabalho está de acordo com as normas, ou seja, segue a seguinte ordem: título, título em inglês, autores, resumo, palavras-chave, abstract, key words, introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusões, agradecimentos (opcional) e referências?
9. O título contém no máximo 15 palavras?
10. O resumo bem como o abstract apresentam no máximo 250 palavras?
11. As palavras-chave contém entre três e cinco termos, iniciam com letra maiúscula e são seguidas de ponto?
12. A introdução contém citações atuais que apresentam relação com o assunto abordado na pesquisa; apresenta no

máximo 550 palavras?

13. As citações apresentadas na introdução foram empregadas para fundamentar a discussão dos resultados?

14. As citações estão de acordo com as normas da revista?

15. As tabelas e figuras estão formatadas de acordo com as normas da revista e estão inseridas logo em seguida à sua primeira citação? Lembre-se, não é permitido usar “enter” nas células que compõem a(s) tabela(s).

16. A(s) tabela(s), se existente, está no formato retrato?

17. A(s) figura(s) apresenta qualidade superior (resolução com no mínimo 500 dpis)?

18. As unidades e símbolos utilizados no seu trabalho se encontram dentro das normas do Sistema Internacional adotado pela Revista Ciência Agronômica?

19. Os números estão separados por ponto e vírgula? As unidades estão separadas do número por um espaço? Lembre-se, não existe espaço entre o número e o símbolo de %.

20. O seu trabalho apresenta entre 20 e 30 referências sendo 60% destas publicadas com menos de 10 anos em periódicos indexados?

21. Todas as referências estão citadas ao longo do texto?

22. Todas as referências citadas ao longo do texto estão corretamente descritas, conforme as normas da revista, e aparecem listadas?

C. Observações:

1. Lembre-se que **SE** as normas da revista não forem seguidas rigorosamente, seu trabalho não irá tramitar. Portanto, é melhor retardar o envio por mais alguns dias e conferir todas as normas. A consulta de um trabalho já publicado na sua área pode lhe ajudar a sanar algumas dúvidas e pode servir como um modelo (acesse aos periódicos no site <http://www.ccarevista.ufc.br/busca>).

2. Caso suas respostas sejam todas **AFIRMATIVAS** seu trabalho será enviado com maior segurança. Caso tenha ainda respostas **NEGATIVAS**, seu trabalho irá retornar retardando o processo de tramitação.

Lembre-se: A partir da segunda devolução, por irregularidade normativa, principalmente em se tratando das referências, o mesmo terá a submissão cancelada e **não haverá devolução da taxa de submissão**. Portanto é muito importante que os autores verifiquem cuidadosamente se o artigo se encontra de acordo com as normas requeridas pela Revista Ciência Agronômica.

3. Procure **SEMPRE** acompanhar a situação de seu trabalho pela página da revista (<http://ccarevista.ufc.br>) no sistema online de gerenciamento de artigos.

4. Esta lista de verificação não substitui a revisão técnica da revista, a qual todos os artigos enviados serão submetidos.