



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS  
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação  
Comissão de Residência Multiprofissional e em Área  
Profissional da Saúde – COREMU**

**PROGRAMA DE RESIDÊNCIA INTEGRADA  
MULTIPROFISSIONAL E EM ÁREA PROFISSIONAL DA SAÚDE**

## **INSPEÇÃO DE LEITE E DERIVADOS**

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE QUEIJO MUSSARELA  
EM PEÇA E FATIADO**

**Mariana Fontanetti Marinheiro**

**Pelotas, RS, Brasil**

**2014**

Mariana Fontanetti Marinheiro

Qualidade Microbiológica de Queijo Mussarela  
em Peça e Fatiado

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado, como requisito parcial, para obtenção do grau de Especialista em Inspeção de Leite e Derivados, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 04 de fevereiro de 2014

Banca examinadora:

Prof. Dr. Claudio Dias Timm (Orientador)

Doutor em Ciência e Tecnologia Agroindustrial pela Universidade Federal de Pelotas

Profa. Dra. Helenice Gonzalez de Lima

Doutora em Zootecnia pela Universidade Federal de Pelotas.

Msc. Priscila Alves Dias

Mestre em Ciências pela Universidade Federal de Pelotas

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente meus pais, Jairo e Magali, pelo incentivo e apoio em mais esta etapa de minha vida.

Agradeço aos professores Cláudio Dias Timm, Helenice Gonzalez de Lima e Natacha Cereser, pela orientação e oportunidade de aprendizado e crescimento pessoal e profissional ao longo desses dois anos de residência.

Aos colegas de pós-graduação Priscila, Daiane, Talita, Janaina, Marina, Flávia, Daniel, Débora, Alana e Aline, obrigada pela recepção em uma cidade nova, pelo companheirismo, aprendizado e amizade.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	iv
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	v
<b>RESUMO</b> .....	vi
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	7
<b>2. RELATÓRIO DE ATIVIDADES</b> .....	12
<b>3. ARTIGO</b> .....	15
<b>4. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	24
<b>5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	25
<b>ANEXOS</b> .....	28

FOLHA DE ROSTO COBALTO

CÓPIA DO PROJETO

COMPROVANTE DA SUBMISSÃO DO ARTIGO

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1. Análises microbiológicas realizadas no período de residência.....	12
Tabela 2. Análises físico-químicas realizadas no período de residência .....	13
Tabela 3. Atividades realizadas na Danby Cosulati .....	13
Tabela 4. Atividades realizadas no CISPOA- Pelotas .....	14

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Laboratório de microbiologia .....	11
Figura 2. Laboratório de microbiologia .....	11
Figura 3. Laboratório de análises físico-químicas .....	11
Figura 4. Laboratório de biologia molecular .....	11
Figura 5. Sala de limpeza e esterilização de materiais .....	11

## RESUMO

Marinheiro, Mariana Fontanetti. Inspeção de Leite e Derivados. 2014. 36 f. Relatório de Residência, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Este relatório tem como objetivo reunir e discriminar as atividades realizadas durante a Residência em Inspeção de Leite e Derivados, realizada no Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal – LIPOA, durante o período de março de 2012 a fevereiro de 2014. Foram realizadas 963 análises microbiológicas e 154 análises físico-químicas. Foram acompanhadas as atividades junto ao Serviço de Inspeção Federal (SIF), com orientação da Médica Veterinária Mirela Scatolin Anselmo, e à Coordenadoria de Inspeção Sanitária de Produtos de Origem Animal (CISPOA), com orientação do Médico Veterinário Valmor Lansini. Em relação às atividades teóricas, foram realizadas aulas do eixo transversal ofertadas a todos os residentes, aulas teóricas e práticas do eixo específico, simpósios, congressos e seminários. Também foi escrito um Manual de Autocontroles em Indústrias de Leite e um capítulo de livro de Análises Microbiológicas em Leite e Derivados. No projeto apresentado como requisito à conclusão da residência foram analisadas 40 amostras de queijo mussarela comercializados na cidade de Pelotas-RS, a fim de verificar sua qualidade microbiológica.

Palavras-chave: Segurança alimentar, Inspeção, lácteos.

.

## **1. INTRODUÇÃO**

### **Inspeção de produtos de origem animal**

O médico veterinário desempenha um papel fundamental na área de saúde pública, inserindo-se em diferentes atividades, desde a gestão e o planejamento em saúde até a vigilância epidemiológica, sanitária e ambiental (BURGER, 2009).

Observando este fato, a Organização Mundial de Saúde, em 1946, definiu novas áreas de atuação para a Medicina Veterinária na saúde pública, sendo as principais o controle de zoonoses, higiene dos alimentos, trabalhos de laboratório e atividades experimentais (PFUETZENREITER, 2004).

A inspeção de produtos de origem animal é definida como atividade exclusiva do médico veterinário e pode ser realizada no âmbito federal, estadual ou municipal. É considerado dever do Estado garantir à população o direito à saúde e à segurança alimentar (PFUETZENREITER, 2004). Aos órgãos responsáveis pelos serviços de inspeção de produtos de origem animal é atribuída a competência de assegurar a qualidade e inocuidade dos alimentos. Estão sujeitos à inspeção os animais de açougue, a caça, o pescado, o leite, o ovo, o mel e a cera de abelhas, e seus subprodutos derivados (BRASIL, 1952).

A inspeção abrange a inspeção "ante" e "post mortem" dos animais, o recebimento, manipulação, transformação, elaboração, preparo, conservação, acondicionamento, embalagem, depósito, rotulagem, trânsito e consumo de quaisquer produtos e subprodutos, adicionados ou não de vegetais, destinados ou não à alimentação humana. A inspeção abrange também outros produtos utilizados na indústria de alimentos, como condimentos, conservadores, antioxidantes, fermentos e outros (BRASIL, 1952).

### **Produção de leite no Brasil**

O Brasil destaca-se mundialmente como um grande produtor de leite. A atividade ocupa atualmente posição de destaque no cenário econômico nacional, sendo um dos principais agronegócios do Brasil. Em 2012, o país produziu 30.715 milhões de toneladas de leite, sendo que, em 2010, a renda proporcionada por essa



atividade corresponde a 10% do valor gerado pela agropecuária brasileira (EMBRAPA, 2013).

Nos últimos anos, temos notado uma evolução significativa da produção de leite no país. No período de 2000 a 2010, a produção cresceu mais de 50%, tendo em média um crescimento de 5% ao ano (EMBRAPA, 2011). O incremento na produção nacional deve-se essencialmente ao aumento que o rebanho brasileiro sofreu, pois a produtividade não tem se alterado significativamente no decorrer dos anos. Em 2012 a produtividade brasileira foi de 1,41 tonelada/vaca/ano (IBGE, 2013), média muito inferior a países como Estados Unidos, Alemanha (PINHO, 2012) e Argentina (EMBRAPA, 2011).

No segmento lácteo internacional, o Brasil destaca-se como o quinto maior produtor de leite, embora sua representatividade no mercado exportador seja pequena (SIQUEIRA et al., 2010). O leite produzido pelo Brasil é considerado um dos mais baratos do mundo e, portanto, o incremento na sua qualidade é um fator decisivo para tornar nosso produto competitivo no mercado internacional (ZOCCAL, 2009).

Em 1998, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) criou o Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite (PNQL) visando contribuir com a qualidade do leite produzido no Brasil (SCALCO & SOUZA, 2006). O PNQL surgiu com o intuito de mudar a forma de se produzir leite no Brasil, melhorando sua qualidade, a fim de garantir à população o consumo de produtos lácteos mais seguros e nutritivos, bem como proporcionar um aumento no rendimento dos produtores (GAZOLA, 2010).

Em janeiro de 2002, entrou em vigor a Instrução Normativa n. 51/2002 do MAPA, visando a garantir os objetivos propostos pelo PNQL. A IN 51 tornou obrigatória a implantação de Boas Práticas de Fabricação (BPF) e do Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) na indústria de laticínios com Serviço de Inspeção Federal (SIF) (BRANDÃO, 1998).

Foram estabelecidas metas para a contagem de células somáticas (CCS) e a contagem bacteriana total (CBT) do leite cru refrigerado. Para isso, o MAPA exigiu que fosse enviada a cada mês ao menos uma amostra de leite de cada produtor para um laboratório credenciado (BRASIL, 2002).

A edição da Instrução Normativa n. 62 de 29 de dezembro de 2011 pelo MAPA foi uma resposta às dificuldades ocorridas para a implantação da IN 51. Essa medida aumentou os prazos definidos em 2002, criando novos limites para os parâmetros exigidos e um novo cronograma para adaptação gradativa dos produtores (BRASIL, 2011).

### **Regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos produtos lácteos**

A qualidade dos produtos lácteos também está assegurada por meio de diversos regulamentos técnicos de identidade e qualidade específicos, criados e fiscalizados pelo MAPA. A legislação é desenvolvida à medida que novos produtos vão sendo criados e comercializados pela indústria. São produtos que possuem seus próprios regulamentos: queijos, creme de leite, gordura láctea (BRASIL, 1996), doce de leite (BRASIL, 1997), leite fermentado (BRASIL, 2000), manteiga, queijo coalho (BRASIL, 2001), bebida láctea (BRASIL, 2005), composto lácteo (BRASIL, 2007), leite em pó modificado (BRASIL, 2007), entre outros.

Esses documentos têm como finalidade tirar qualquer dúvida sobre a definição do produto, como ele é classificado, sua composição, padrão físico-químico, padrões microbiológicos, peso, medida, rotulagem, métodos preconizados de análise e amostragem.

### **Residência em Inspeção de Leite e Derivados**

A residência compreendeu o período de março de 2012 a fevereiro de 2014, e o local de atuação primária se deu no Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal (LIPOA) da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Pelotas - UFPel, localizado no campus Capão do Leão. O prédio conta atualmente com três laboratórios, sendo um de microbiologia (figuras 1 e 2), um de análises físico-químicas (figura 3) e um de biologia molecular (figura 4), uma sala para limpeza e esterilização de materiais (foto 5), uma sala de aula, duas salas de professores, uma sala da pós-graduação e uma sala para estagiários.

As atividades do residente compreenderam realizar as análises de rotina, interpretar resultados e redigir laudos, auxiliar no preparo de materiais para aulas práticas, palestras para alunos da graduação e seminários, realizar um projeto próprio e auxiliar em outros projetos realizados por pós-graduandos do laboratório.

Durante o período, também foram acompanhadas as atividades de dois médicos veterinários do Serviço de Inspeção Oficial. Primeiramente, junto à Inspeção Federal locada no Laticínio Danby Cosulati, com a supervisão da médica veterinária Mirela Scatolin Anselmo, totalizando 240 horas, e posteriormente acompanhando o Médico Veterinário Valmor Lansini, responsável pela supervisão regional de Pelotas da Coordenadoria de Inspeção Sanitária de Produtos de Origem Animal (CISPOA), totalizando 400 horas.



Figura 1. Laboratório de Microbiologia



Figura 2. Laboratório de Microbiologia



Figura 3. Laboratório de Análises Físico-Químicas



Figura 4. Laboratório de Biologia Molecular



Figura 5. Sala de Limpeza e Esterilização de Materias

## 2. RELATÓRIO DE ATIVIDADES

As análises microbiológicas realizadas no LIPOA atendem a Instrução normativa nº62 de 2003 do MAPA, que estabelece os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. Foram realizadas um total de 963 análises no período de residência (Tabela 1).

Tabela 1. Análises microbiológicas realizadas no período de residência.

Análise	Número de análises
Contagem de coliformes termotolerantes	63
Contagem de coliformes totais	34
Pesquisa de <i>Salmonella</i>	73
Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	51
Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase-positiva	135
Contagem de micro-organismos mesófilos	422
Pesquisa de <i>Campylobacter</i>	185
Total	963

As análises físico-químicas foram realizadas de acordo com a Instrução normativa nº68 de 2006 do MAPA, que oficializa os métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos. Foram realizadas 154 análises no total. (Tabela 2)

Tabela 2. Análises físico-químicas realizadas no período de residência.

Análise	Número de análises
Acidez	12
Densidade	12
Gordura	19
Extrato seco total	13
Extrato seco desengordurado	13
Crioscopia	10
Redutase	09
Pesquisa de inibidores	48
Peroxidase	09
Fosfatase alcalina	09
Total	154

Foram acompanhadas as atividades da Inspeção Federal locada no Laticínio Danby Cosulati, com a supervisão da médica veterinária Mirela Scatolin Anselmo, totalizando 240 horas, onde foram realizadas as atividades junto com funcionários do laticínio e os agentes de inspeção conforme a tabela 3.

Tabela 3. Atividades realizadas na Danby Cosulati.

Atividades	Número de análises/atividade
Cloro e pH de água	90
Análises recepção leite	70
Análises leite em pó e leite condensado	50
Coleta de amostras para análise oficial	24
Inspeção junto com os agentes	45
Redação de RNC	15
Acompanhamento da produção	12
Total	306

O período acompanhando o Médico Veterinário Valmor Lansini, responsável pela supervisão regional de Pelotas da Coordenadoria de Inspeção Sanitária de

Produtos de Origem Animal (CISPOA) totalizou 400 horas, e as atividades estão listadas na tabela 4.

Tabela 4. Atividades realizadas no CISPOA- Pelotas

Atividades	Número atividades/visitas
Aprovação de plantas de indústria	16
Coleta de amostras para análise oficial	32
Liberação abate	15
Acompanhamento abate suínos	22
Acompanhamento abate frangos	02
Acompanhamento abate bovinos	35
Verificação de programas de autocontrole	42
Total	164

### 3. ARTIGO

## QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE QUEIJO MUSSARELA EM PEÇA E FATIADO MICROBIOLOGICAL QUALITY OF SLICED AND BLOCKED MOZZARELLA CHEESE

**Resumo:** O monitoramento da qualidade microbiológica dos alimentos é fundamental para que a indústria possa realizar um controle de qualidade eficiente de seus produtos, além de assegurar ao consumidor que ele está adquirindo um alimento inspecionado e dentro dos padrões de qualidade aceitáveis. O presente trabalho teve como objetivo verificar a qualidade microbiológica do queijo mussarela comercializado em estabelecimentos varejistas da cidade de Pelotas-RS. Foram analisadas 40 amostras de queijo mussarela, sendo 20 de queijo em peça e 20 de queijo fatiado, as quais foram submetidas a contagem de coliformes termotolerantes e de *Staphylococcus* coagulase positiva, e pesquisa de *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*. Observou-se que 12,5% das amostras de queijo fatiado e 5% de queijo em peça estavam em desacordo com os padrões estabelecidos pela legislação. Estes resultados indicam a necessidade de maior monitoramento desses produtos e maior cuidado higiênico-sanitário durante o processamento por parte das indústrias.

**Palavras-chave:** Segurança alimentar, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Listeria monocytogenes*.

**Abstract:** Monitoring the food microbiological quality is fundamental for industry to be able to perform an efficient quality control of their products, besides ensuring to the costumer that he is purchasing an inspected food, that is within acceptable quality standards. This study aims to verify the microbiological quality of the mozzarella cheese that is sold on the retail market of the city of Pelotas-RS. Forty samples of cheese were analysed, being 20 of blocked cheese and 20 of sliced cheese, for quantitative analysis of fecal coliforms and *Staphylococcus* coagulase positive, and research of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes*. It was noticed that 12,5% of the sliced cheese samples and 5% of the blocked cheese were not in conformity with the legislation standards. These results indicate the need for a better monitoring of these products and more concern with the hygienic and sanitary practices during the processing by the industries.

**Key-words:** Food safety, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Listeria monocytogenes*.



Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), define-se como queijo o produto obtido da separação parcial do soro do leite, coagulado por ação física, enzimática, bacteriana, ácidos orgânicos isolados ou combinados, todos aptos ao consumo, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e/ou especiarias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes (BRASIL, 1996).

O queijo mussarela é amplamente utilizado na culinária, no preparo de pratos quentes e sanduíches, por conta de suas propriedades de fatiamento e facilidade de derretimento (COELHO et al., 2012). É o tipo de queijo com a maior produção no país (28,4%), seguido pelo prato (19,9%) e o requeijão culinário (18,7%), atingindo cerca de 200.000 toneladas no ano de 2009 (LIMA FILHO; POMBO, 2010).

O método de fabricação do queijo envolve vários processos, são eles: a pasteurização do leite, coagulação, corte do coágulo, dessoragem, enformagem, salga, maturação (quando necessário) e embalagem. A mussarela, em particular, também passa pela filagem. Há uma grande manipulação do produto, que entra em contato com diferentes equipamentos e superfícies, o que aumenta o risco de contaminação microbiológica (PINTO et al., 2009).

O queijo é um alimento rico em nutrientes, o que favorece a proliferação de micro-organismos que podem levar a alterações nas características organolépticas do produto e/ou provocar toxi-infecções alimentares nos consumidores. Os coliformes, por exemplo, são considerados micro-organismos indicadores, ou seja, quando detectados em populações elevadas no alimento indicam higiene inadequada no processamento e, no caso de coliformes termotolerantes, provável presença de micro-organismos patogênicos (PIETROWSKI et al, 2008). Além disso, o sabor do queijo é alterado, devido à produção de compostos decorrentes do metabolismo bacteriano, como o ácido acético (SANTOS-KOELLN et al, 2009).

*Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* e *Listeria monocytogenes* são micro-organismos causadores de doenças transmitidas por alimentos (DTA), os quais podem ocasionalmente ser encontrados em queijos. As enfermidades que essas bactérias podem causar nos consumidores vão desde leves distúrbios gastrointestinais, como diarreia e vômitos, até síndromes graves, abortos e morte (PINTO, 2009.)

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (BRASIL, 2001) estabelece padrões microbiológicos para diversos alimentos. Para os queijos de média umidade, no qual está incluída a mussarela, é exigida ausência de *Salmonella* e *L. monocytogenes* em 25g do

alimento e são estabelecidos os valores máximos de  $10^3$  UFC/g para *Staphylococcus* coagulase positiva e  $10^3$  UFC/g para coliformes a 45°C.

O objetivo deste trabalho foi verificar a qualidade microbiológica do queijo mussarela fatiado e em peça comercializado na região sul do Rio Grande do Sul, de acordo com os padrões estabelecidos pela ANVISA.

Foram analisadas 40 amostras de queijo mussarela, sendo 20 delas de queijo em peça e 20 de queijo fatiado dentro do laticínio, produzido por indústrias sob inspeção federal ou estadual, comercializadas em redes varejistas da cidade de Pelotas, RS. Foram coletadas amostras de queijo com a data de fabricação mais recente possível, visando a minimizar os efeitos que uma conservação inadequada no local de comércio pudesse gerar. As amostras, mantidas em suas embalagens originais de venda, foram acondicionadas em caixas isotérmicas com gelo e imediatamente transportadas ao laboratório para realização das análises.

Foram realizadas contagens de coliformes termotolerantes e *Staphylococcus* coagulase positiva e pesquisas da presença de *Salmonella* e *L. monocytogenes*, conforme os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal recomendados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2003).

Para a análise presuntiva de coliformes termotolerantes, pesou-se asepticamente 25 gramas de cada amostra, que foram colocados em saco plástico estéril com 225 mL de solução salina 0,85% (m/v) e homogeneizados em *stomacher*, obtendo-se assim a diluição  $10^{-1}$ . A partir desta, foram feitas outras diluições de base 10, adicionando 1 mL de cada diluição em 9 mL de solução salina, sucessivamente. Um mL de cada diluição foi pipetado, em triplicata, para tubo de ensaio com 10 mL de caldo Lauril Sulfato de Sódio contendo tubo de Durhan invertido, os quais foram incubados a  $36\pm 1^\circ\text{C}$  por 48 horas. A presença de coliformes é indicada pela formação de gás no tubo de Durhan. Para prova confirmativa de coliformes termotolerantes, foi feita inoculação, a partir dos tubos positivos na etapa anterior, em caldo EC e incubação a  $45\pm 0,2^\circ\text{C}$  por 48 horas. O resultado foi obtido com o uso de tabela para número mais provável (NMP).

Para a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, diluições seriadas de base 10 foram semeadas, em duplicata, em ágar Baird-Parker e incubadas a  $36\pm 1^\circ\text{C}$  por 48 horas. Cinco colônias típicas e cinco atípicas de cada placa foram inoculadas em Infusão de Cérebro e Coração e incubadas a  $36\pm 1^\circ\text{C}$  por 24 horas para realização da prova da coagulase, que

consistiu na mistura de 0,3 mL de cada cultura com 0,3 mL de plasma de coelho e incubação a  $36\pm 1^{\circ}\text{C}$  por 6 horas para observação de coagulação. Calculou-se a proporção de colônias coagulase positivas em relação à contagem de colônias típicas e atípicas na placa e o resultado final da contagem de cada placa foi obtido pela soma do número de colônias coagulase positivas. Após, foi calculada a média das duplicatas e realizada a correção da diluição utilizada para a contagem.

Para análise de *Salmonella*, pesou-se 25 g da amostra, que foram adicionados a 225 mL de Água Peptonada Tamponada e incubados a  $36\pm 1^{\circ}\text{C}$  por 16 a 20 horas para pré-enriquecimento. A partir desse, foi realizado o enriquecimento seletivo em caldo Rappaport Vassiliadis e em caldo Tetracionato (Acumedia) a  $41\pm 0,5^{\circ}\text{C}$  por 24 a 30 horas. De cada uma dessas culturas, foram feitas semeaduras por esgotamento em ágar BPLS e ágar XLD, que em seguida foram incubados a  $36\pm 1^{\circ}\text{C}$  por 18 a 24 horas. Das placas que apresentaram crescimento característico de *Salmonella*, três colônias foram coletadas para realização de testes bioquímicos e sorologia, conforme recomendações de BRASIL (2003).

Para pesquisa de *L. monocytogenes*, 25 g da amostra foram diluídas em 225 mL de caldo UVM, que foi incubado a  $30\pm 1^{\circ}\text{C}$  por 24 horas. Em seguida, 0,1 mL da cultura foi inoculado em 10 mL de caldo Fraser e incubado a  $30\pm 1^{\circ}\text{C}$  por 24 a 48 horas. A partir dessa cultura, realizaram-se semeaduras por esgotamento em ágar Palcan e ágar Oxford, para incubação a  $30\pm 1^{\circ}\text{C}$  por 24 a 48 horas. Das placas que apresentaram crescimento característico de *Listeria*, três colônias foram coletadas para realização de testes bioquímicos e identificação da espécie *monocytogenes*, conforme recomendações de BRASIL (2003).

Cinco amostras de queijo apresentaram contagem de coliformes termotolerantes maior ou igual a 1100 NMP/g, em desacordo com o estabelecido pela legislação vigente (Tabela 1). É importante ressaltar que foi somente nessa análise que encontramos amostras de queijo em peça em desacordo com o padrão. Nas demais análises, somente o queijo fatiado estava fora das especificações. A presença de coliformes nos alimentos indica que pode ter ocorrido contaminação durante o processo de fabricação ou após o processamento (SANTOS-KOELLN et al., 2009). Em estudos semelhantes realizados em Goiás (QUINTANA; CARNEIRO, 2007; RODRIGUES et al., 2011) e Paraná (PIETROWSKI et al., 2008; SANTOS-KOELLN et al., 2009), foi relatado que todas as amostras analisadas encontravam-se dentro dos limites estabelecidos pela legislação, o que também seria de se esperar no nosso trabalho, já que estudamos queijos de indústrias com inspeção federal ou estadual.

Tabela 1. Número de amostras de queijo mussarela em peça e fatiado com resultados em desacordo com a RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (BRASIL, 2001).

Forma de apresentação	Coliformes termotolerantes (%)	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva (%)	<i>Salmonella</i> spp.(%)	<i>Listeria monocytogenes</i> (%)	Total amostras
Peça	2 (10)	0	0	0	20
Fatiado	3 (15)	4 (20)	1 (5)	1 (5)	20
Total	5 (12,5)	4 (10)	1 (2,5)	1 (2,5)	40

Quatro amostras de queijo fatiado apresentaram contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva acima do limite de  $10^3$  UFC/g estabelecido pela legislação. Pietrowski et al. (2008) também obtiveram três amostras (18,75%) com valores acima de  $10^3$  UFC/g ao analisar queijo fatiado, o que indica que o risco de contaminação pode aumentar muito com esta etapa do processamento. No queijo em peça, todas as amostras analisadas estavam dentro do padrão. Quintana e Carneiro (2007) e Santos-Koelln et al. (2009) também encontraram 100% de amostras de queijo mussarela em peça dentro do valor permitido pela legislação. Já Rodrigues et al. (2011) observaram quatro de 11 amostras de mussarela em peça com contagens acima do padrão. A ocorrência de amostras com contagens acima dos limites estabelecidos para *Staphylococcus* coagulase positiva pressupõe que o tratamento térmico do leite para a fabricação do queijo tenha sido ineficiente ou que tenha ocorrido contaminação após o tratamento, devido à manipulação por um funcionário que não tenha higienizado suas mãos de maneira correta ou contato com superfícies não sanitizadas adequadamente (KOMATSU et al., 2010).

A presença de *Salmonella* foi identificada em uma amostra de mussarela fatiada. De acordo com a legislação, *Salmonella* e *L. monocytogenes* devem estar ausentes em 25 g de amostra, devido à sua capacidade de causar doença nos seres humanos. Outros estudos envolvendo mussarela verificaram a ausência do micro-organismo nas amostras analisadas (SANTOS-KOELLN et al., 2009; RODRIGUES et al., 2011), o que seria o esperado

considerando que essas amostras vêm de indústrias com inspeção oficial. Pietrowsky et al. (2008), ao analisar 16 amostras de mussarela, também observaram a presença desse micro-organismo em uma amostra (6,25%), que assim como no nosso estudo, foi de mussarela fatiada, o que evidencia o aumento do risco de contaminação.

A presença de *L. monocytogenes* foi evidenciada em uma das amostras de queijo fatiado. Ratti (2006), ao avaliar 30 amostras de mussarela fatiada, observou a presença de *L. monocytogenes* em uma delas (3,3%). Em um estudo retrospectivo, Silva et al. (2011) encontraram que, de 3428 amostras de diversos tipos de queijo, 111 (3,24%) foram positivas para *L. monocytogenes*. É importante ressaltar que nessa revisão, grande parte dos estudos envolveu a análise de queijo Minas e produtos artesanais, diferentemente do nosso trabalho, em que foram analisadas amostras de queijo mussarela produzidas por indústrias com inspeção estadual ou federal, onde se espera que exista um maior controle com as práticas higiênico-sanitárias. A presença de *L. monocytogenes* é ainda menor em estudos envolvendo produtos industrializados e inspecionados. A listeriose, apesar de rara, é considerada de grande importância para a saúde pública, devido à seriedade dos agravos que pode causar aos seres humanos. Na Europa, ela é a segunda maior responsável por mortes resultantes das Doenças Transmitidas por Alimentares (DTAs), ficando atrás somente da salmonelose (ALLERBERGER; WAGNER, 2010).

No presente estudo, do total de 40 amostras de mussarela, sete foram consideradas em desacordo com os padrões estabelecidos pela RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001 da ANVISA (BRASIL, 2001), sendo cinco de queijo fatiado e duas de queijo em peça. É importante ressaltar que uma das amostras de queijo fatiado apresentou desacordo em três análises, coliformes termotolerantes, *Salmonella* e *Listeria monocytogenes*. A maioria das amostras fora do padrão correspondiam ao produto fatiado, provavelmente por esses produtos passarem por uma etapa a mais (fatiamento) antes de serem embalados, o que faz com que entrem em contato com novas superfícies, equipamentos e manipuladores. Além disso, ao se fracionar qualquer produto sólido, aumenta-se sua superfície exposta, o que pode aumentar os riscos de contaminação. Não existem muitos trabalhos na literatura com estudos microbiológicos de queijos fatiados, mas Ratti (2006) e Rall et al. (2009), ao estudarem frios fatiados, também encontraram alta frequência de amostras fora do padrão.

Através dos resultados obtidos, observou-se que apesar do controle sanitário realizado pelos órgãos de fiscalização, ainda são encontrados no comércio produtos acabados fora dos

padrões de qualidade, especialmente no que se refere aos fatiados, pressupondo que quanto maior a manipulação dos alimentos maior é o risco de contaminação.

Ressalta-se a importância de um maior cuidado na elaboração e aplicação dos programas de autocontrole da indústria, em especial no que se relaciona à higiene dos manipuladores e à limpeza e desinfecção de equipamentos e superfícies que entram em contato com o alimento, e maior rigor na fiscalização pelos órgãos de inspeção oficial, com intuito de reduzir a comercialização de produtos contaminados.

## REFERÊNCIAS

ALLERBERGER, F.; WAGNER, M. Listeriosis: a resurgent foodborne infection. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 16, p. 16–23, 2010.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa. Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Resolução-RDC nº12, de 02 de janeiro de 2001, **Diário Oficial da União**, Brasília, nº 7, 10 jan. 2001. Seção I, p. 45-53.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Aprova os regulamentos técnicos de Identidade e Qualidade dos produtos lácteos. Portaria nº 146 de 07 de março de 1996. **Diário Oficial da União**, Brasília, 11 de março de 1996. Seção I, p. 39-77.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Instrução Normativa nº 62, de 26/08/2003. **Diário Oficial da União**, Brasília, 18 set. 2003. Seção I, p. 14-51.

COELHO, K.O.; MESQUITA, A.J.; MACHADO, P.F.; OLIVEIRA, A.N.; SOUZA, C.M.; MEYER, P.M.. Níveis de células somáticas sobre a proteólise do queijo Mussarela. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, n. 3, p. 682-693, 2012.

KOMATSU, R.S.; RODRIGUES, M.A.M.; LORENO, W.B.N.; SANTOS, K.A. Ocorrência de *Staphylococcus* coagulase positiva em queijo minas frescal produzido em Uberlândia-MG. **Bioscience Journal**, v. 26, n. 2, p. 316-321, 2010.

LIMA FILHO, R.R.; POMBO, G. Aumenta o consumo de queijo no Brasil. **Carta Leite**, ed. 105, 2010.

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. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 2, n. 2, p. 25-31, 2008.

PINTO, M. S. et al. Segurança alimentar do queijo minas artesanal do Serro, Minas Gerais, em função da adoção de boas práticas de fabricação. **Revista Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 39, n. 4, p. 342–347, 2009.

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.

RALL, R.; DORICO, J.A.; RALL, V.L.M.; ALQUATI, L.H. Queijos e embutidos pré fatiados: Um perigo aos consumidores? In: **ETIC – V Encontro de iniciação científica**. 2009; Disponível em: <http://intertemas.unitoledo.br/revista/index.php/ETIC/article/view/2211/2371>. Acesso em 27 de out de 2012.

RATTI, R. P. **Listeria monocytogenes em alimentos fatiados e equipamentos: ocorrência, formação de biofilme e controle**. 2006. Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, 2006.

RODRIGUES, J.; FIDELIS DE FARIAS, H.L.; BARBOSA, B.F.F.; GARCIA, T.A.; ISSY, P.N.; ARMONDES, M.P.O. Levantamento das características físico-químicas e microbiológicas de queijo minas frescal e mussarela produzidos no entorno de Goiânia-GO. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 9, n. 1, p. 30-34, 2011.

SANTOS-KOELLN, F.T.; MATTANA, A.; HERMES, E. Avaliação microbiológica do queijo tipo mussarela e queijo colonial comercializado na região oeste do Paraná. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 3, n. 2, p. 66-74, 2009.

SILVA, A. S., ARAGON, C.C.; SANTANA, E.H.W.; DESTRO, M.T.; COSTA, M.R.;  
ALEGRO, L.C.A. *Listeria monocytogenes* em leite e produtos lácteos no Brasil: Uma revisão.  
**UNOPAR Científica - Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 13, n. 1, p. 59-67. 2011.



#### **4. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A Residência Veterinária me proporcionou experiência prática na rotina laboratorial em análises de alimentos, além de acompanhar a rotina do Serviço de Inspeção Oficial, tanto federal quanto estadual. Além disso, também pude ministrar aulas e desenvolver um projeto de pesquisa, o que foi de fundamental importância para meu crescimento profissional.

Ao longo desse período pude aprofundar meus conhecimentos em inspeção de leite e derivados, microbiologia de alimentos e segurança alimentar, conhecendo a realidade da produção leiteira da região, bem como das indústrias, e os desafios que os veterinários que trabalham nessa área enfrentam diariamente.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRANDÃO, S. **Normas higiênico-sanitárias e tecnológicas para leite e produtos lácteos**: programa nacional de melhoria da qualidade do leite. Vol. 1, s.n., 1998.

BRASIL. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Aprovado pelo decreto nº 30.691, de 29/03/52, alterado pelos decretos nº 1.255, de 25/06/62, nº 1.236, de 02/09/94, nº 1.812, de 08/02/96 e nº 2.244, de 04/06/97. **Diário Oficial da União**, Brasília, 05 jun. 1997. Seção I, p. 11555-11558.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. Portaria nº 146, de 07/03/96. **Diário Oficial da União**, Brasília, 11 mar. 1996. Seção I, p. 3977-3986.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Resolução nº 5 de 13 de novembro de 2000. Oficializar os Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados. **Diário Oficial da União**, 27 nov. 2000. Seção I, p.9.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Manteiga da Terra ou Manteiga de Garrafa; Queijo de Coalho e Queijo de Manteiga. Instrução Normativa Nº 30, de 26 de junho de 2001. **Diário Oficial da União**, 16 jul. 2001, Seção 1, Página 13.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51, de 18/09/2002. **Diário Oficial da União**, Brasília, n. 183, 20 set. 2002. Seção I, p. 13-22.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Instrução Normativa nº 62, de 26/08/2003. **Diário Oficial da União**, Brasília, 18 set. 2003. Seção I, p. 14-51.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas. Instrução Normativa nº16, de 23 de agosto de 2005. **Diário Oficial da União**, 24 ago. 2005. Seção I, p. 7.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos. Instrução Normativa nº 68, de 12/12/2006, **Diário Oficial da União**, 14 dez. 2006. Seção I, p. 8.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Leite em Pó Modificado. Instrução Normativa Nº 27, DE 12 de junho de 2007. **Diário Oficial da União**, 14 jun. 2007, Seção 1, Página 7.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento Técnico para fixação de Identidade e Qualidade de Composto Lácteo. Instrução Normativa Nº 28, de 12 de junho de 2007. **Diário Oficial da União**, 14 jun. 2007, Seção 1, Página 8.

\_\_\_\_\_. Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n. 62, de 29 de dezembro de 2011. **Diário Oficial da União**, 30 dez. 2011. Seção 1, Página 6.

BÜRGER, K. P.; CARVALHO, A. C. F. B.; SAMPAIO, M. O.; BÜRGER, C. P.  
Diagnóstico de situação - noções de estudantes de Medicina Veterinária sobre a atuação na área da saúde Pública. **Revista CES/Medicina Veterinária y Zootecnia**, v. 4, n. 1, p. 10-16, 2009.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Produção, Industrialização e Comercialização. Disponível em:  
<[www.cnpq.embrapa.br/nova/informacoes/estatisticas/producao/producao.php](http://www.cnpq.embrapa.br/nova/informacoes/estatisticas/producao/producao.php)>  
Acesso em: 10 dez. 2013.

GAZOLA, D. T. L. D. **Desenvolvimento dos Programas de Autocontrole e atualização dos Procedimentos Padrões de Higiene Operacional (PPHO) do Laticínio Cordilat**. Trabalho de conclusão de curso, Engenharia Química, Unochapecó. 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DE BIOESTATÍSTICA E GEOGRAFIA. **PPM 2012**: Cenário pouco favorável para os rebanhos. 2013. Disponível em <http://saladeimprensa.ibge.gov.br/noticias?busca=1&id=1&idnoticia=2487&view=noticia>

PINHO M.C., MERCÊS E.S., SIQUEIRA, K.B. Como anda a competitividade do setor lácteo brasileiro? **Panorama do leite**, ano 6, n. 69, p.6-8, 2012.

PFUETZENREITER, M.R.; ZYLBERSZTAJN, A; AVILA-PIRES, F.D. Evolução histórica da medicina veterinária preventiva e saúde pública. *Ciência Rural*, v.34, n.5, p.1661-1668, 2004.

SCALCO, A. R.; SOUZA, R. de C. Qualidade na cadeia de produção de leite: diagnóstico e proposição de melhorias. **Organizações Rurais & Agroindustriais**, v. 8, n. 3, p. 368-377, 2006.

SIQUEIRA, K.B. et al. O mercado lácteo brasileiro no contexto mundial. **Circular Técnica**, n. 104, 2010.

ZOCCAL R. **O leite de que o Brasil precisa**. 2009. Disponível em: <http://www.embrapa.br/imprensa/artigos/2009/o-leite-de-que-o-brasil-precisa/>

# CÓPIA DO PROJETO

31/01/13

PRPPG/UFPel - Cadastro de Projeto



Universidade Federal de Pelotas  
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação  
Departamento de Pesquisa



## CADASTRO DE PROJETO DE PESQUISA

### Dados do Projeto

O código do projeto será enviado por e-mail para o Coordenador, após aprovação pelo COCEPE

anexo: proj06462.doc

Título do Projeto  
**Qualidade microbiológica do queijo mussarela em peça e fatiado**

Data de cadastro  
**31/01/2013**

Unidade  
**Faculdade de Veterinária**

Departamento  
**Departamento de Veterinária Preventiva**

### Objetivos

**Verificar a qualidade microbiológica do queijo mussarela comercializado na região sul do Rio grande do Sul, de acordo com os padrões estabelecidos pela ANVISA, e observar se existem diferenças entre as amostras de queijo fatiadas e em peça, quanto à avaliação microbiológica.**

Subárea de conhecimento  
**5.05.05.00-9 (CNPq)**

Grupo de Pesquisa do Coordenador  
**Inspecção de Produtos de Origem Animal**

Prazo de execução  
**12 meses**

Início  
**01/03/2013**

Término  
**02/03/2014**

Fonte financiadora  
**Recursos próprios**

Valor liberado  
**R\$ 0,00**

### Coordenador do Projeto

STIAPE	Nome	E-mail	HS
7421676	Claudio Dias Timm	timmm@ufpel.tche.br	2

### Colaboradores

Nome	Instituição	HS
Helenice de Lima Gonzalez	UFPel	2
Natacha Deboni Cereser	UFPel	2

### Alunos envolvidos

Unidade	Nome	Curso	HS
FV	Mariana Fontanetti Marinheiro	Residência em Medicina Veterinária	8

Envolve experimentação com modelos animais? **NÃO** - Registro no CEEA:

Envolve experimentos utilizando vírus, microorganismos patogênicos, ou organismos geneticamente modificados? **NÃO**  
Possui Certificado de Qualidade em Biossegurança ou em processo de qualificação? **NÃO**

### Resumo:

Serão analisadas 40 amostras de queijo mussarela, sendo 20 delas de queijo fatiado e 20 em pedaços, comercializado em redes varejistas da cidade de Pelotas, RS. Serão realizadas contagens de coliformes termolábiles e Staphylococcus coagulase positiva e pesquisas da presença de Salmonella e Listeria monocytogenes.

### IMPRIMA ESTA PÁGINA!

- \* **Colha as assinaturas abaixo e entregue este cadastro no Departamento de Pesquisa da PRPPG**
- \* **Não é necessário entregar a cópia impressa do projeto, pois este já se encontra anexado**
- \* **NÃO É NECESSÁRIO ANEXAR AS ATAS DE DEPARTAMENTO E CONSELHO DEPARTAMENTAL**

O Coordenador deste projeto declara, formalmente, que:

- tem pleno conhecimento dos trâmites a serem seguidos para cadastro junto ao Departamento de Pesquisa da Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação (PRPPG) e o registro no COCEPE;
- se responsabiliza pelo encaminhamento do projeto em seu Departamento e no Conselho Superior da unidade para sua aprovação;
- assume inteira responsabilidade pela veracidade das informações contidas na presente solicitação e pelos danos pessoais, materiais e ambientais, decorrentes da execução do projeto e aplicação de seus resultados.

200.17.161.80/prppg/projetos/confirma.php?proj\_id=6462&a=1

1/2

31/01/13

PRPPG/UFPel - Cadastro de Projeto

\_\_\_\_\_  
Coordenador do Projeto

CIENTE:

\_\_\_\_\_  
Chefe do Departamento

\_\_\_\_\_  
Diretor do Conselho Departamental

**PRPPG – Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação**

**Qualidade microbiológica do queijo mussarela em peça e fatiado**

Equipe: Mariana Fontanetti Marinheiro, Helenice de Lima Gonzalez e Cláudio Dias  
Timm

Mariana Fontanetti Marinheiro

Pelotas, 17 de dezembro de 2012

## 1. Caracterização do Problema

Segundo o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), entende-se por queijo o produto obtido da separação parcial do soro do leite, coagulado por ação física, enzimática, bacteriana, ácidos orgânicos isolados ou combinados, todos aptos ao consumo, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e/ou especiarias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes (BRASIL, 1996).

O queijo mussarela é amplamente utilizado na culinária, no preparo de pratos quente e sanduíches, por conta de suas propriedades de fatiamento e facilidade de derretimento (ETGES, 2011). É o tipo de queijo com a maior produção no país (28,4%), seguido pelo prato (19,9%) e o requeijão culinário (18,7%), atingindo cerca de 200.000 toneladas no ano de 2009 (LIMA & POMBO, 2010). Segundo Silva (2005), esse alto consumo de mussarela é explicado em parte por ser um tradicional ingrediente de pizzas.

O método de fabricação do queijo envolve vários processos, são eles: a pasteurização do leite, coagulação, corte do coágulo, dessoragem, enformagem, salga, maturação (quando necessário) e embalagem. A mussarela, em particular, também passa pela filagem. Há uma grande manipulação do produto, e ele entra em contato com diferentes equipamentos e superfícies, o que aumenta o risco de contaminação microbiológica (PINTO et al., 2009).

O queijo é um alimento rico em nutrientes, o que favorece a proliferação de micro-organismos, que podem levar a alterações nas características organolépticas do produto, até toxinfecções alimentares nos consumidores. Os coliformes, por exemplo, são micro-organismos indicadores, ou seja, quando detectados no alimento fornecem informações sobre uma higiene inadequada no processamento e provável presença de micro-organismos patogênicos (PIETROWSKI et al, 2008). Além disso, o sabor do queijo é alterado, devido à produção de compostos pela bactéria, como o ácido acético (SANTOS-KOELLN et al, 2009).

O *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* são micro-organismos causadores de DTA's (doenças transmitidas pelo alimento) que podem ser encontrados nos queijos. Podem causar nos consumidores desde leves

distúrbios gastrointestinais, como diarreia e vômitos, até síndromes graves, abortos e morte (PINTO, 1996).

A Resolução nº 12 de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabelece padrões microbiológicos para diversos alimentos. Para os queijos de média umidade, no qual está incluída a mussarela, exige-se a ausência de *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* em 25g, e valores máximos de  $10^3$  UFC/g para *Staphylococcus* coagulase positiva, e  $5 \times 10^3$  UFC/g para coliformes a 45°C.

## 2. Objetivos e Metas

O objetivo deste trabalho é verificar a qualidade microbiológica do queijo mussarela comercializado na região de acordo com os padrões estabelecidos pela ANVISA, e observar se existe diferença entre as amostras de queijo fatiadas e em peça.

## 3. Metodologia

Serão analisadas 40 amostras de queijo mussarela, sendo 20 delas de queijo fatiado e 20 em pedaço, produzidas por indústrias sob inspeção federal ou estadual, comercializadas em redes varejistas da cidade de Pelotas, RS. As amostras escolhidas serão as que possuírem data de fabricação o mais recente quanto for possível, visando minimizar os efeitos que uma conservação inadequada no local de comércio possa gerar. O transporte até o laboratório de inspeção de produtos de origem animal (LIPOA- UFPel) será realizado em caixa isotérmica refrigerada.

As seguintes análises serão realizadas: contagem de Coliformes Termolátentes (45°C), *Salmonella* spp., *Staphylococcus* coagulase positiva e *Listeria monocytogenes*, conforme a Instrução Normativa 62 de 26 de agosto de 2003 do MAPA, que estabelece os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água.



Para a análise presuntiva de coliformes termotolerantes deve-se pesar assepticamente 25 gramas de cada amostra, que serão colocadas em saco plástico estéril com 225 mL de solução salina 0,85%, em seguida procede-se a homogeneização em Stomacher, obtendo assim a diluição 10<sup>-1</sup>. Desta faz-se outras duas diluições utilizando 1 mL da diluição em 9 mL de solução salina 0,85%, tendo assim as diluições 10<sup>-2</sup> e 10<sup>-3</sup>. De cada uma das diluições, pipeta-se 1 mL em cada um dos três tubos de Lauril Sulfato de Sódio (Isofar®, Duque de Caxias, Rio de Janeiro) totalizando 9 tubos, que são incubados a 36±1°C por 48 horas. A presença de coliformes é indicada pela formação de gás no tubo de Durham. Nos tubos positivos procede-se a prova confirmativa para coliformes termotolerantes, que consiste na inoculação em caldo *Escherichia coli* (Acumedia®, Lansing, Michigan), e incubação a 45±0,2°C por 48 horas. O resultado é expresso em número mais provável por grama (NMP/g) de acordo com a combinação do número de tubos positivos em cada diluição na Tabela de NMP.

Para a análise de *Staphylococcus* coagulase positiva, utiliza-se as diluições 10<sup>-1</sup> e 10<sup>-2</sup> obtidas anteriormente. Será semeado em três placas de Agar Baird-parker (Himedia®, Ghatkopar West, Mumbai) (0,3 mL, 0,3 mL e 0,4 mL, respectivamente) da diluição 10<sup>-1</sup> e duas placas na diluição 10<sup>-2</sup> (0,1 mL em cada), que serão incubadas a 36±1°C por 48 horas. Em seguida realiza-se a contagem de colônias típicas e atípicas, sendo selecionadas as placas que contenham entre 20 e 200 colônias. Cinco colônias de cada tipo serão inoculadas em caldo Brain Heart Infusion (BHI) (Himedia®, Ghatkopar West, Mumbai), que em seguida é incubado a 36±1°C por 24 horas. A partir dessas amostras faz-se a prova da coagulase. O resultado final é expresso em Unidades formadoras de colônia (UFC)/g.

Para análise de *Salmonella* spp. pesa-se 25g da amostra, que são adicionadas em 225 mL de água peptonada tamponada (APT) 1% (Himedia®, Ghatkopar West, Mumbai), incubadas a 36±1°C por 24 horas. O enriquecimento seletivo será realizado em caldo Rappaport Vassiliadis (Acumedia®, Lansing, Michigan) e em Tetracionato (Acumedia®, Lansing, Michigan), incubados a 41±0,5°C por 24 horas. Em seguida, semeia-se as amostras em Agar verde brilhante (Acumedia®, Lansing, Michigan) e XLD (Himedia®, Ghatkopar West, Mumbai), que são incubados a 36±1°C por 24 horas. Nas placas que apresentarem colônias características, realizam-se os testes bioquímicos com Agar TSI (Acumedia®,

Lansing, Michigan), LIA (Acumedia®, Lansing, Michigan) e ureia (Vetec®, São Paulo, SP). Para a confirmação efetua-se a sorologia.

Para pesquisa de *Listeria monocytogenes*, 25g da amostra serão diluídas em 225 mL de caldo UVM (Acumedia®, Lansing, Michigan), que será incubado a 36±1°C por 24 horas. Em seguida, inocula-se 0,1 mL em 10 mL de caldo Fraser (Acumedia®, Lansing, Michigan), que é incubado a 36±1°C por 24 a 48 horas. Realiza-se a semeadura em Agar Palcan (Acumedia®, Lansing, Michigan) e Agar Oxford (Acumedia®, Lansing, Michigan), que são incubadas a 36±1°C por 24 a 48 horas. Nas placas com crescimento de colônias típicas, realizam-se os testes bioquímicos.

### 3. 4. Resultados e Impactos Esperados

Ao final das análises, poderemos verificar se foram encontrados produtos fora dos limites estabelecidos pela legislação, e assim teremos um indicativo da qualidade microbiológica do queijo mussarela comercializado na região.

Esperamos observar uma frequência maior de produtos fora do limite aceitável nas amostras de queijo fatiado em comparação com o queijo em pedaço, devido á uma maior manipulação e aumento da superfície do produto no caso do fatiamento, o que pode aumentar o risco de contaminação.

### 3. 5. Cronograma do Projeto

Atividade	Jan/2013	Fev/2013	Mar/2013	Abr/2013	Mai/2013	Jun/2013	Jul/2013
Revisão bibliográfica	X	X	X	X	X	X	X
Coleta de amostras e análises		X	X	X	X	X	X
Tabulação de resultados		X	X	X	X	X	X
Redação do artigo científico							
Submissão do artigo							
Apresentação final							

Atividade	Ago/2013	Set/2013	Out/2013	Nov/2013	Dez/2013	Jan/2014	Fev/2014
Revisão bibliográfica	X	X	X	X	X	X	
Coleta de amostras e análises	X	X	X	X			
Tabulação de resultados	X	X	X	X			
Redação do artigo científico					X		
Submissão do artigo						X	
Apresentação final							X

### 3. 6. Outros Projetos e Financiamentos

O financiamento do projeto será por meio de recursos próprios.

### 3. 7. Referências Bibliográficas

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

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 146 de 07 de março de 1996. Diário Oficial da União, Brasília, 11 de março de 1996. Disponível em:

<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>. Acessado em 23 de outubro de 2012;

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. Diário Oficial da União, 18 set. 2003. Seção 1, p. 14.

ETGES, J.C. Qualidade microbiológica e físico-química de queijo mussarela fatiado à granel e embalado à vácuo. 2011. p. 58, Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Faculdade de Santa Maria- RS. 2011;

LIMA FILHO, R. R.; POMBO, G. Aumenta o consumo de queijo no Brasil. Carta Leite, Ed. 105, 2010.

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. Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial, v.2, n.2, p.25-31. 2008.

PINTO, A.F.M.A. Doenças de origem microbiana transmitidas pelos alimentos. Millenium, v. 4, p.91-100, 1996.

PINTO, M. S. et al. Segurança alimentar do queijo minas artesanal do Serro, Minas Gerais, em função da adoção de boas práticas de fabricação. Revista Pesquisa Agropecuária Tropical, v. 39, n. 4, p. 342 – 347, 2009.

SANTOS-KOELL, F.T. et al. Avaliação microbiológica do queijo tipo mussarela e queijo colonial comercializado na região oeste do Paraná. Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial, v. 3, n. 2, p. 66-74, 2009.

SILVA, F. T. Queijo mussarela: Agregando Valor a Pequena Produção. Embrapa Informação Tecnológica, 1 ed., Brasília – DF, 2005.

## COMPROVANTE DA SUBMISSÃO DO ARTIGO

### Semina: Ciências Agrárias

[CAPA](#)   [SOBRE](#)   [PÁGINA DO USUÁRIO](#)   [PESQUISA](#)   [ATUAL](#)   [ANTERIORES](#)   [DIRETRIZES AOS AUTORES](#)  
[DIRETRIZES PARA AUTORES](#)   [PORTAL](#)   [UEL](#)

[Capa](#) > [Usuário](#) > [Autor](#) > **Submissões Ativas**

#### Submissões Ativas

**ATIVO**   **ARQUIVO**

ID	MM-DD ENVIADO	SECÃO	AUTORES	TÍTULO	SITUAÇÃO
16406	09-18	COM	Marinheiro, Ghizzi, Cerese, de Lima,...	<a href="#">QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE QUEIJO MUSSARELA EM PEÇA E...</a>	<a href="#">EM AVALIAÇÃO</a>

1 a 1 de 1 itens

Iniciar nova submissão

[CLIQUE AQUI](#) para iniciar os cinco passos do processo de submissão.

**Semina: Ciências Agrárias**  
Londrina - PR  
ISSN 1676-546X  
E-ISSN 1679-0359  
[semina.aqrarias@uel.br](mailto:semina.aqrarias@uel.br)