

1 INTRODUÇÃO

A criação de búfalos iniciada no Brasil no século XIX, já é difundida em todo o território nacional e seus produtos vêm ocupando lugar de destaque nas prateleiras das casas comerciais.

Os trabalhos desenvolvidos nessa área são o ponto-chave para rebater todas as idéias de que a bubalinocultura está associada a degradação do ecossistema onde está localizada. São importantes também para apontar erros e os verdadeiros culpados, que por implantações e manejos inadequados, tornam negativa a imagem dos búfalos.

Entre bubalinos e bovinos é grande o número de publicações que comparam estas duas espécies em relação a produtividade e comprovam a superioridade dos bubalinos em regiões de clima adverso e solo pobre.

Búfalos criados a pasto ou recebendo dietas com alto teor de matéria seca, apresentam rendimentos superiores em relação aos bovinos, para ganho de peso e produção para derivados lácteos por litro de leite. Tornando-se assim, uma alternativa viável economicamente para pequenos produtores, produção familiar e áreas não ocupadas pela bovinocultura (FONSECA, 1986; MIRANDA,1986; NASCIMENTO e CARVALHO, 1993).

Existem no mundo cerca de 174.027.155 animais, sendo que a maioria destes encontra-se no continente asiático. A Índia possui a maior porção, com aproximadamente 98.000.000 animais e é seguida do Paquistão com 26.300.000 e da China com 22.745.250. Na América do Sul, destaca-se o Brasil com 1.200.700 animais, um contingente maior que o de toda Europa e ocupando a décima primeira posição mundial (FAO..., 2005).

O búfalo é um animal dócil, de fácil manejo e lucrativo, pois em uma mesma criação há várias formas de exploração comercial, sendo consideradas como principais a produção de carne, leite e trabalho, razão pela qual também é descrito como animal de tripla aptidão.

A produção de leite abre um leque de opções na confecção de derivados. Seu produto mais conhecido mundialmente é o queijo *mozzarella*, que possui sabor inigualável e vem absorvendo grande parte da produção de leite no mercado.

Fatores que se relacionam com as características reprodutivas dos búfalos, interferem de maneira negativa na produção, oferta e comercialização dos produtos lácteos. Para tanto há necessidade de um maior número de pesquisas voltadas para esta área, favorecendo o melhoramento genético e a produção anual.

Também fatores relacionados à saúde do animal e ao processamento utilizado nos laticínios, interferem de maneira positiva ou negativa no desenvolvimento das bactérias presentes no leite e seus derivados.

Para tanto há necessidade de um maior número de pesquisas na área microbiológica, que possibilitem o conhecimento da amplitude de atuação dos microrganismos que interferem em parâmetros físicos e químicos e que possam ser avaliados nos produtos lácteos, contribuindo desta maneira, para uma considerável melhora no *shelf life** destes produtos.

* *shelf life*: tempo ou vida de prateleira

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

Avaliar as características microbiológicas de queijos *mozzarella*, provenientes de um mesmo lote, fabricados em dois formatos: Queijo *mozzarella* embalado com água (MECA) e Queijo *mozzarella* embalado sem água (MESA), para verificar se os mesmos encontram-se dentro dos padrões exigidos pelo Ministério da Agricultura, em seu órgão competente a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (RDC N^o 12 de 02.01.2001 da ANVISA/MS).

2.2 Objetivos específicos

Para os dois formatos de queijo *mozzarella* (MECA e MESA), verificar através de análises microbiológicas padronizadas:

1. Coliformes totais em NMP/g.
2. Coliformes fecais (a 45°C) em NMP/g
3. Estafilococos coagulase positiva (SC+) em UFC/g.
4. Estafilococos coagulase negativa (SC -) em UFC/g.
5. Verificar se as amostras analisadas encontram-se satisfatórias para consumo (de acordo com o padrão microbiológico vigente) num período que antecede e sucede o prazo de validade.
6. Verificar através das análises microbiológicas padronizadas estabelecidas acima, o comportamento dos microrganismos em relação aos padrões legais estabelecidos, num período que antecede e sucede o prazo de validade de 30 dias.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Dados gerais

O búfalo doméstico (*Bubalus bubalis*) é originário da Índia e chegou ao Brasil entre 1890 e 1895, na Ilha de Marajó, estado do Pará (TONHATI et al., 1999; MIRANDA, 1986; FONSECA, 1986).

A espécie *Bubalus bubalis* subdivide-se em três variedades: fulvus, bubalis e kerebau (MIRANDA, 1986), sendo que apenas duas dessas variedades possuem raças representativas no Brasil, a variedade bubalis, conhecida como búfalos de rio (representada pelas raças Murrah, Mediterrâneo e Jafarabadi) e a variedade kerebau, conhecida como búfalos de pântano (representada pela raça Carabao ou Rosilho). Devido a algumas peculiaridades, como sua excelente aclimação as mais diversas condições ambientais, este animal encontra-se atualmente distribuído ao longo de todo o território nacional.

Segundo OLIVEIRA et al. (2001) a população bubalina brasileira está distribuída cerca de 50% na Região Norte, 15% na Região Sudeste, 14% no Nordeste, 12% no Centro Oeste e 9% na Região Sul.

Em sua grande maioria os criadores mantêm seus rebanhos em regime de criação extensiva, onde são explorados, principalmente, para a produção de carne e leite. Nestas condições, a produtividade leiteira não alcança os níveis de produção encontrados em alguns países como Índia e Itália, no entanto, a fabricação de queijos e outros produtos tem experimentado um crescente aumento em função de sua grande aceitação no mercado (TONHATI et al., 1999).

Observando as estimativas da FAO (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*), nota-se aumento do número de bubalinos no mundo de aproximadamente 98%, passando de 88.505.407 em 1961, para 174.027.155 cabeças em 2005 (gráfico 1). No Brasil o crescimento foi de aproximadamente 18 vezes este percentual no mesmo período, passando de 63.000 para 1.200.700 cabeças (gráfico 2). Os maiores acréscimos estão entre meados de 1980 a 1990, coincidindo com um período onde houve grande quantidade de publicações que comprovavam por meio de dados científicos a produtividade e lucratividade da bubalinocultura e até em alguns aspectos a sua superioridade em relação a bovinocultura.

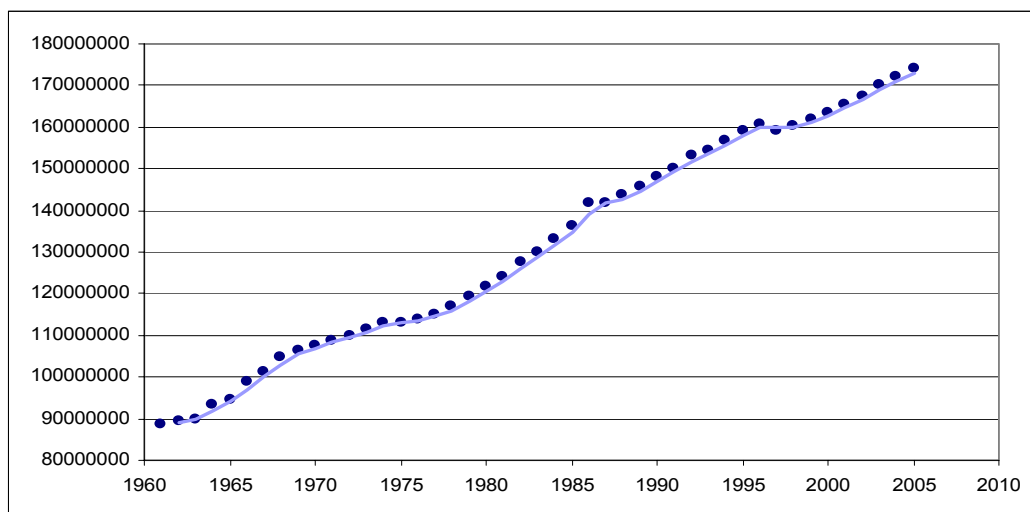


GRÁFICO 1. ESTIMATIVA DA POPULAÇÃO DE BÚFALOS NO MUNDO (1961 A 2005), DE ACORDO COM DADOS DA FAO... (2005).
 Fonte: A AUTORA (2006).

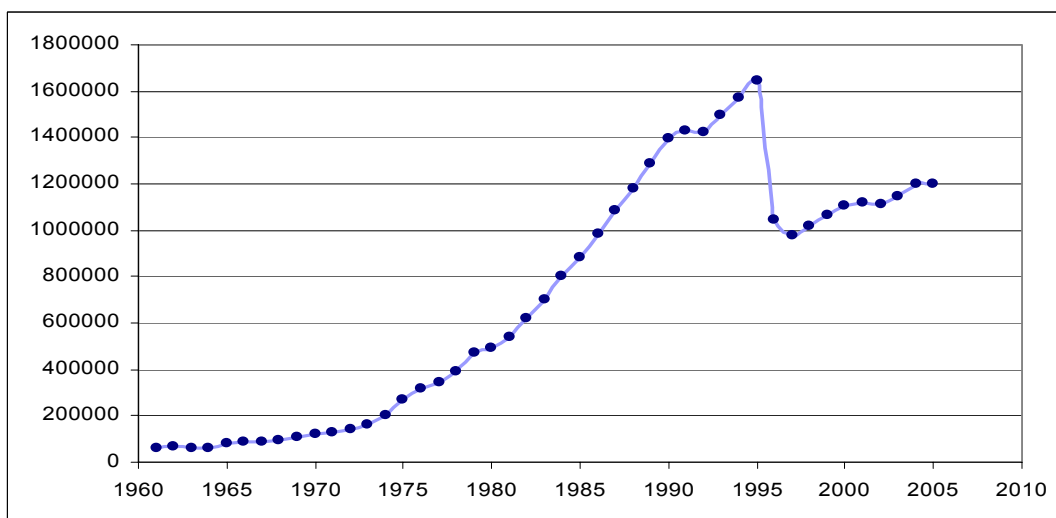


GRÁFICO 2. ESTIMATIVA DA POPULAÇÃO DE BÚFALOS NO BRASIL (1961 A 2005), DE ACORDO COM DADOS DA FAO... (2005).
 Fonte: A AUTORA (2006).

A expansão da bubalinocultura no Brasil segue tendências de mercado. A partir da década de 90, os consumidores passaram a exigir produtos de melhor qualidade nutricional e sanitária, por conseguinte, o governo passou a tomar medidas mais rigorosas em relação ao modo de preparação dos alimentos. Além do aspecto da preservação de áreas destinadas a reservas naturais ter se tornado um item fundamental na política de qualidade de vida. Por essas razões acredita-se que o aumento desacelerado do número de animais no território nacional deva-se ao fato da necessidade de adequação e ajuste de mercado, que engloba desde a criação até o processamento dos produtos.

Quanto ao mercado da produção leiteira, GOMES (1996) relata que entre 1945 e 1991 foi um período em que houve o tabelamento do preço do leite. Esse tabelamento, praticado muitas vezes com objetivos de facilitar os ajustes na economia, trouxe conseqüências desastrosas para a pecuária leiteira nacional. A partir do início dos anos 90, diversas decisões governamentais foram tomadas objetivando abrir a economia brasileira para o mercado internacional. A principal conseqüência desse comportamento é a necessidade de aumentos de produtividade e de melhoria de qualidade, de modo a tornar o produto brasileiro competitivo em relação ao de outros países.

Em 1997 o Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO), realizou uma análise em queijos tipo minas frescal, coletados em pontos de venda de 5 capitais do país (Minas Gerais, Pará, Rio Grande do Sul, São Paulo e Rio de Janeiro), com base na legislação vigente na época, a Portaria nº 451 do Ministério da Saúde /Secretaria de Vigilância Sanitária - SVS/MS (BRASIL, 1997a), verificando uma tendência generalizada de não conformidade nos produtos, pois nenhuma das 13 marcas analisadas teve todas as amostras consideradas próprias para consumo ou em condições higiênicas satisfatórias. Todos os fabricantes que entraram em contato com o INMETRO enviaram laudos microbiológicos, de laboratórios públicos ou privados, nos quais os seus produtos, coletados dentro da fábrica, estão de acordo com os parâmetros da Portaria 001/87 da Secretaria de Vigilância Sanitária, do Ministério da Saúde.

Ficou caracterizado que o principal problema relacionado à segurança alimentar dos queijos tipo Minas era decorrente de uso de embalagens impróprias, armazenamento e transporte inadequados, mais do que propriamente falta de condições de higiene durante o processo produtivo (INMETRO..., 1997).

Esta pesquisa obteve tamanha repercussão por parte da imprensa, que culminou posteriormente na criação do Programa Nacional de Qualidade do Leite (PNQL) no ano de 1988, quando também foi realizada uma nova pesquisa, feita com o apoio do Ministério da Agricultura e do Abastecimento, onde foram encontrados problemas de refrigeração em torno de 40% nos pontos de venda nos Estados do Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul e São Paulo e 60% em Minas Gerais (INMETRO..., 1999).

Paralelamente, o setor alimentício passou a contar com legislações mais efetivas sobre a rotulagem de alimentos embalados, que tornaram obrigatórios a rotulagem nutricional e a declaração do prazo de validade do produto fechado e aberto. Complementando o quadro de melhorias, as indústrias de embalagens começaram a disponibilizar materiais mais resistentes para o acondicionamento dos produtos novos e insumos que surgiram, como fermentos capazes de proteger os queijos após seu processamento. Em 2002, o Ministério da Agricultura instituiu a Instrução Normativa n.º 51 (BRASIL 2002), para regulamentar a produção, a identidade e a qualidade do leite e seu transporte no país (INMETRO..., 2005).

A carne bubalina já é reconhecida como um produto diferenciado dentro da cadeia pecuária brasileira, por apresentar todas as características qualitativas similares à carne bovina, sendo do ponto de vista nutricional, mais magra e com menos 40% de colesterol e 55% de calorias e, mais de 11% de proteínas e 10% de minerais. O leite das búfalas apresenta características particulares que o diferenciam do leite bovino. Entre elas podemos ressaltar: menos água e mais matéria seca (MADELLA-OLIVEIRA et al., 2005).

Segundo TEIXEIRA et al. (2005), a Itália é dos países mais desenvolvidos na produção de leite de búfala e seus derivados, SILVA et al. (2003) relatam que neste país se encontra a maior produção de leite de búfala da Europa e a sua quase totalidade é destinada à elaboração de *mozzarella*.

Segundo TEIXEIRA et al. (2005) o mercado da produção do leite de búfala, tanto interno como externo, está em franca expansão e dentre os produtos destacam-se a *mozzarella* e a *ricotta*, pois são procurados não só por seu sabor característico, mas também por suas qualidades nutricionais. Além disso, os proprietários de laticínios têm oferecido um preço diferenciado pelo leite da búfala, em função do excelente rendimento no seu processamento. E o Brasil apresenta condições propícias para a criação de búfalas leiteiras.

Além da sua maior rusticidade, o que permite a sua criação em regiões alagadas, que são inadequadas para bovinos. Esta espécie tem maior resistência as ectoparasitoses, apresentam menor frequência de mastite, são menos exigentes quanto à qualidade das pastagens e gramíneas, e conseqüentemente apresentam menor custo de produção (AMARAL e ESCRIVÃO, 2005).

As raças mais utilizadas para produção de leite no Brasil são a Murrah e Mediterrâneo, seguidas da Jafarabadi e Carabao, respectivamente.

Devido ao seu maior porte a raça Jafarabadi é mais utilizada para produção de carne.

A maioria dos animais da raça Carabao encontra-se na região norte, onde são muito comumente utilizados na produção de carne e trabalho principalmente.

NASCIMENTO e CARVALHO (1993) relatam que as médias de produção de leite para a raça Carabao são realmente muito baixas, embora a raça apresente médias elevadas de percentagem de gordura.

3.2 O leite de búfala e sua utilização na indústria

3.2.1 Características gerais

O leite de búfala apresenta características muito próprias e que permitem sua fácil identificação sob ponto de vista físico-químico e organoléptico. Seu sabor é peculiar, ligeiramente adocicado e é muito mais branco quando comparado ao leite bovino, pela ausência quase total do caroteno (pró-vitamina A), em sua gordura. Possui acentuadas diferenças em relação ao leite de vaca e estas se manifestam desde o colostro (BENEVIDES, 1998).

A produção de leite dos bubalinos é uma atividade que tem crescido nos últimos anos no Brasil, particularmente nos Estados da região sudeste, onde o leite é destinado, quase na sua totalidade para a produção de queijo tipo “muzzarella”, que tem mercado assegurado e com preços compensatórios (MADELLA-OLIVEIRA et al., 2005).

No Brasil, o consumo do leite de búfala em seu estado natural ainda não é difundido (OLIVIERI, 2004).

A mistura do leite de búfalo com o bovino diminui a demanda do leite bubalino, achata seus preços e desestimula investimentos na atividade (MADELLA-OLIVEIRA et al., 2001).

A grande importância desse alimento está na sua transformação em derivados, uma vez que sua composição peculiar possibilita um alto rendimento industrial (OLIVIERI, 2004).

É na qualidade do leite bubalino que realmente reside a maior vantagem desse produto. É mais concentrado do que o leite bovino possui teores de proteínas, gorduras e minerais que superam consideravelmente os do leite de vaca. Entretanto, é no seu aproveitamento indústria que está na prática, sua grande importância, por proporcionar produtos lácteos de qualidade inimitável ao leite bovino, como, por exemplo, “mozzarella” e iogurte. E mais, seu rendimento industrial é efetivamente extraordinário, chegando, comparativamente, a suplantarem o rendimento do leite bovino em mais de 40% (NADER FILHO et al., 1984; VALE, 1999).

Este leite é cerca de 40-50% mais produtivo na elaboração de derivados que o leite bovino. (TEIXEIRA et al., 2005; AMARAL e ESCRIVÃO, 2005).

São muitos os produtos que podem ser fabricados a partir do leite de búfala, dentre eles podemos destacar leite em pó, iogurte, requeijão, manteiga, doce de leite e vários tipos de queijo como o tipo frescal, a *mozzarella*, provolone, ricota, tipo coalho, tipo Marajó, *Caciocavallo* (semelhante ao casco de cavalo) e o queijo azul (parecido com o gorgonzola ou mesmo o tipo Roquefort (GUERRA et al., 2005; VERRUMA et al., 1993; CUNHA NETO, 2003; YUNES et al., 2000; NASCIMENTO e CARVALHO, 1993; TEIXEIRA et al., 2005; YUNES e BENEDET, 2000; FURTADO, 1981).

Segundo MADALENA (1986) a gordura e a proteína são os componentes do leite de maior valor econômico.

3.2.2 Valores médios para produção, gordura e proteína

3.2.2.1 Valores médios para produção do leite de bubalinos

TONHATI et al. (1999) encontraram médias de 1329 ± 560 Kg de leite/ lactação em 11 rebanhos no Estado de São Paulo entre os anos de 1994 e 1998.

MACEDO et al. (2001) encontraram porcentagem de média ajustada de 4,52 Kg/dia para o leite de búfala.

MESQUITA et al. (2001) verificaram que o valor médio de $4,05 \pm 0,92$ litros/animal/dia na região de Goiânia.

SAMPAIO NETO et al. (2001) relatam médias observadas iguais a $2130,80 \pm 535,60$; com lactações de $301,41 \pm 49,30$ dias e produção de leite no pico da lactação iguais a $9,78 \pm 1,95$ Kg.

SILVA et al. (2003) relatam que na Itália produção média por lactação de fêmeas da raça Mediterrâneo, está entre 1.900 e 2.400 kg.

BASTIANETTO et. al. (2005) encontrou média de 6 litros/dia em lactações de 270 dias, no estado de Minas Gerais.

3.2.2.2 Valores médios para gordura do leite de bubalinos

VERRUMA-BERNARDI et al. (2000) obteve médias percentuais iguais a 7,02; 6,77 e 6,80 para os 3 tipos de processamentos pesquisados do queijo *mozzarella*.

MACEDO et al. (2001) relatam valores médios de 6,59%.

PATIÑO et al. (2002) relatam valores iguais a $7,04 \pm 1,25\%$ para fêmeas Murrah e $7,60 \pm 1,81\%$ para mestiças (Murrah X Mediterrâneo).

FERNANDES (2004) relata valores entre 5,4 e 8,6%.

COELHO et al. (2004) relatam valores médios e coeficientes de variação iguais a 6,81% e 22,60%.

AMARAL (2005) obteve média de 6,85%.

PATIÑO e GUANZIOLI STEFANI (2005) obtiveram médias iguais a $8,80 \pm 0,28\%$ em Corrientes - Argentina.

HURTADO-LUGO et al. (2005) relatam valores que variaram entre 6,65 e 7,36% na Colômbia.

3.2.2.3 Valores médios para proteína do leite de bubalinos

VERRUMA-BERNARDI et al. (2000) obteve médias percentuais iguais a 3,99; 3,95 e 4,00 para os 3 tipos de processamentos pesquisados do queijo *mozzarella*.

MACEDO et al. (2001) obtiveram médias iguais a 4,13%.

PATIÑO et al. (2002) relata percentuais de $3,73 \pm 0,82a$ para fêmeas Murrah e $3,73 \pm 0,88a$ para mestiças (Murrah X Mediterrâneo).

FERNANDES (2004) relata médias entre 3,7 e 4,9%.

COELHO et al. (2004) obtiveram os valores médios e coeficientes de variação iguais a 4,20% e 11,73%.

AMARAL (2005) relata valor médio de 4,19%.

PATIÑO e GUANZIROLI STEFANI (2005) obtiveram médias iguais a $5,20 \pm 0,14\%$.

3.2.3 Comparação do leite bubalino com o de outras espécies

Quando se efetua uma comparação com leite de vaca, percebe-se que o leite de búfala, incontestavelmente, apresenta maiores rendimentos na fabricação de queijos, por apresentar, principalmente, maiores teores de proteínas. E no de manteiga, devido a maior percentagem de gordura presente neste tipo de leite. Isso permite que se aponte o leite bubalino como uma alternativa viável para ser utilizado, por aproveitamento tecnológico, em outros produtos (BENEVIDES, 1998).

Devido ao seu elevado teor de matéria gorda, 1 litro de leite de búfala fornece 30 a 40% a mais de calorias do que de vaca (FONSECA, 1986).

Em relação ao tempo de coagulação, os resultados mostram que o leite bubalino requer menos tempo do que o leite bovino, representando melhor desempenho industrial (FURTADO, 1990).

Na tabela 1 estão os resultados de análises químicas publicadas por alguns autores, com o intuito de demonstrar a superioridade do leite de búfala em relação ao de outras espécies, baseando-se nos seus componentes nutricionais.

TABELA 1. RESULTADOS DAS ANÁLISES QUÍMICAS DO LEITE DE BÚFALA E DE OUTRAS ESPÉCIES ANIMAIS, SEGUNDO VÁRIOS AUTORES.

AUTORES	ESPÉCIE	ÁGUA %	GORDURA %	LACTOSE %	PROTEÍNA %	CINZA %
MOURA e CORSINI (1981)	Búfala	82,05	7,98	5,18	4,00	0,79
	Vaca	87,20	3,80	4,95	3,38	0,70
VERRUMA e SALGADO (1994)	Búfala	83,00	8,16	-	4,50	0,70
	Vaca	88,00	3,68	-	3,70	0,70
FONSECA (1986)	Búfala	82,05	7,98	5,18	4,00	0,79
	Camela	87,61	5,38	3,26	2,98	0,70
	Ovelha	83,00	5,30	4,60	6,30	0,80
	Cabra	85,71	4,78	4,46	4,29	0,76
	Porca	83,44	3,94	2,31	9,29	-
	Vaca	87,20	3,80	4,95	3,38	0,70
	Lhama	86,55	3,15	5,60	3,90	0,80

Fonte: A AUTORA (2006).

As características de composição do leite de búfala permitem que seja adicionada até cerca de 30% de água no leite bubalino e ainda obter um produto muito semelhante ao leite bovino integral, em valor nutritivo (NASCIMENTO e CARVALHO, 1993).

A Secretaria de Inspeção de Produtos de Origem Animal (SIPA), através da Portaria nº 236, permite a incorporação de até 30% do leite bubalino ao bovino desde que seja incluída esta especificação no rótulo. Entretanto, até o presente momento, não há legislação específica quanto aos critérios de seleção deste tipo de leite (FURTADO, 1990).

3.2.4 Composição do leite bubalino

Físico-quimicamente, a composição do leite de búfala apresenta características próprias, que variam conforme o período da lactação, a raça e a alimentação, entre outros fatores (TEIXEIRA et al., 2005).

Segundo HURTADO-LUGO et al. (2005) existem diferenças altamente significativas entre os meses e os anos para gordura, sólidos não-graxos, sólidos totais, ponto crioscópico, densidade e acidez ($P < 0,01$) e os componentes físico-químicos variam ao longo do ano.

A búfala apresenta uma maior capacidade de alterar a composição (percentual de gordura e proteína) do leite em relação ao volume. Nos rebanhos em que a búfala é ordenhada duas vezes, recebendo suplementação alimentar após cada ordenha, diminui a relação forragem:concentrado da alimentação total ingerida e favorece a produção de leite com maior percentual de gordura em relação as búfalas que são ordenhadas e recebem suplementação somente uma vez ao dia (BASTIANETTO et al., 2005).

PATIÑO et al. (2002) relatam que os componentes que apresentaram maior variabilidade foram acidez titulável, quantidade de gordura e sólidos totais. Sendo que, as porcentagens de gordura e sólidos totais podem variar também nas etapas de lactação, pois há uma tendência na diminuição destas porcentagens a medida em que há um avanço na lactação.

FERNANDES (2004) relata que os teores de gordura e proteína aumentaram ao longo da lactação, enquanto o teor de lactose acompanha a curva de lactação.

3.2.5 Características físicas do leite bubalino

O leite coagula ao alcançar um pH de 4,6 a 4,7 e a acidez real ou titulável representa o poder de combinação com uma base e nos laticínios, pode apresentar-se sob dois aspectos diferentes:- 1) Acidez expressa em ácido láctico - Aquela medida em graus Dornic ($^{\circ}D$), por exemplo, e que não pode ser confundida com o teor de ácido láctico da amostra. 2) A quantidade de solução alcalina titulada que se consome para alcançar a neutralização dos ácidos presentes (PENNA et al., 2001).

O leite ao sair do úbere apresenta-se ligeiramente ácido (acidez natural). Isto se deve, em parte, a alguns de seus componentes, tais como caseína, fosfatos, citratos, CO_2 , entre outros e também a reação interna que ocorre durante a titulação com solução alcalina. Esta acidez ligeira, normalmente compreendida entre 15 a 20 $^{\circ}D$ é denominada acidez titulável inicial ou natural. A medida em que o leite vai envelhecendo, há tendência de aumento da acidez proveniente do desdobramento da lactose em ácidos, dos quais o mais importante é o ácido láctico,

resultante da multiplicação da microbiota bacteriana, comum no leite. A pasteurização, por sua vez, destrói os microrganismos causadores da acidez. Este aumento da acidez é denominado acidez titulável adquirida e serve para avaliar o estado de conservação do leite (PENNA et al., 2001).

O Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), considera normal o leite cuja acidez inicial somada a acidez adquirida esteja compreendida entre 15 e 20° Dornic, (BRASIL, 1952). Entretanto, para este mesmo regulamento, na Instrução Normativa número 51, aceita-se acidez entre 14 a 18°D, para os leites tipo A, B, C ou Cru refrigerado, bem como esses leites após a pasteurização (BRASIL, 2002).

PATIÑO e GUANZIOLI STEFANI (2005) relatam médias de $19,00 \pm 1,41^\circ$ Dornic para acidez e 6,90 para pH no leite.

MACEDO et al. (2001) encontraram no leite de búfala porcentagens médias de acidez iguais a 18,98° Dornic.

3.3 Fabricação da *mozzarella*

O termo *mozzarella* é bastante antigo, foi registrado pela primeira vez em um livro de cozinha de 1570 por um chefe de cozinha da corte papal chamado Scarppi, e cujo produto mais apreciado era o obtido do leite de búfala (MOZZARELLA..., 2006).

A *mozzarella* é um tipo de queijo tradicionalmente feito a partir de leite bubalino integral, com alto teor de gordura, o que lhe confere paladar delicado.

Este queijo fresco de massa filada é originário do sul da Itália, região de Campana (perto de Nápoles, século XVI). Hoje esta região possui o selo de origem da autêntica *mozzarella* e a fabricação deste queijo é feita com a adição do fermento láctico (método tradicional de fabricação) ou ácidos orgânicos (metodologia recente) ao leite de búfala integral. Posteriormente são realizadas as seguintes etapas: adição do coalho e após a formação do coágulo; corte da massa em grãos (3 x 3 cm); drenagem do soro; filagem (massa com pH entre 5,2 e 5,4, com água a 85°C); molde e salga (opcional) da massa em solução a 2% de NaCl (TEIXEIRA et al., 2005).

Este queijo é comercializado moldado em diversos formatos tais como: bolas, nozinhos, tranças ou barras, sendo embaladas em soro ou não (BUFALO..., 2006).

O método da acidificação direta é a técnica de fabricação do queijo “mozzarella” na qual o leite é acidificado antes da coagulação, pela adição direta de ácido alimentício (THESAURUS..., 2006).

VERRUMA-BERNARDI et al. (2000), observaram diferenças significativas entre dois métodos de fabricação do queijo “mozzarella”, o tradicional e o da acidificação direta com ácido cítrico. Houve maior nível de umidade no queijo “mozzarella” elaborado pela acidificação direta e conseqüentemente um maior teor de sólidos totais no processo tradicional. Também, observaram-se diferenças para os resultados de proteína com valores mais baixos para o método da acidificação direta, o que pode ser explicado pela sua maior perda nesse método, devido a fragilidade do coágulo.

As etapas de coagulação e fermentação são as que se diferenciam em ambos os métodos. O tempo de coagulação diminuiu de 45 a 60 minutos no método tradicional para 5 minutos no da acidificação direta. E a etapa de fermentação, que durou 4 horas no método tradicional, não é necessária na acidificação direta (VERRUMA-BERNARDI et al., 2000).

3.3.1 A Tradicional *mozzarella* italiana

Na Itália, onde se emprega o método tradicional, o leite utilizado para ser transformado em *mozzarella* é proveniente de búfalas selecionadas; levado ao laticínio em até 12 horas após a ordenha e armazenado em recipientes que não modifiquem as suas características organolépticas (MOZZARELLA..., 2006).

No laticínio o primeiro passo é filtrar o leite para a retirada de todas as impurezas, A coagulação do leite é precedida da adição do *sieroinnesto*, uma espécie de soro natural (que foi preparado anteriormente), deixando acidificar espontaneamente a temperatura ambiente (MOZZARELLA..., 2006).

A ruptura, maturação e extração da coalhada é feita manualmente usando um *ruotolo di legno* (bastão de madeira com ponta convexa) ou com o *falcete* (foice). Depois da ruptura, a coalhada é deixada acidificar, sendo que, a variabilidade deste processo influencia sobre as características sensoriais do queijo. O processo de filatura tradicional acontece manualmente e influencia na consistência do produto final. A massa madura é colocada em uma tina de madeira onde se adiciona água fervente (que não se incorpora na massa e vai sendo escoada), mexendo sempre,

até se obter uma massa homogênea e lisa. É dado o formato ao queijo, seguido da salga, que geralmente acontece com a imersão do queijo em solução salina (concentração variando de 10 a 18%, dependendo do fabricante), só então se efetua a embalagem, conservação em câmara fria e comercialização (MOZZARELLA..., 2006).

No Brasil para a aplicação do método tradicional deve-se utilizar, nos laticínios credenciados, material de aço inox e/ou polietileno, para manter os padrões de higiene e sanidade.

3.3.2 Composição do queijo *mozzarella*

VERRUMA-BERNARDI et al. (2000) obtiveram as composições descritas na tabela 2 para o queijo *mozzarella* em 3 processamentos elaborados a partir de 2 métodos diferentes (tradicional e da acidificação direta).

TABELA 2. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS QUEIJOS ELABORADOS PELOS MÉTODOS TRADICIONAL E DA ACIDIFICAÇÃO DIRETA*.

MÉTODOS	PARÂMETROS AVALIADOS					
	GORDURA	PROTEÍNA	SÓLIDOS TOTAIS	UMIDADE	CINZAS	CALCIO
TRADICIONAL	26,94 ^a	23,79 ^a	54,29 ^a	45,73 ^a	2,69 ^a	2,46 ^a
ACIDIFICAÇÃO DIRETA	26,82 ^a	21,15 ^b	52,22 ^b	47,66 ^b	2,57 ^a	2,43 ^a

*Média de 9 repetições.

*Médias na mesma coluna seguidas de letras iguais não diferem significativamente (P <0,05).

Fonte: VERRUMA-BERNARDI et al. (2000).

3.4 Problemas e soluções que influenciam na comercialização

3.4.1 Padronização

Existe um padrão para qualquer produto comercializado e procura-se manter este padrão da forma mais homogênea possível. Para o queijo *mozzarella* a metodologia e a forma de fabricação (ou de se aplicar a metodologia), podem interferir diretamente no rendimento, sabor e textura do produto final.

O padrão italiano para a tradicional *mozzarella* é um queijo de massa filada mole, de cor branco-perolado ou branco-porcelâneo, superfície fina e luminosa com crosta fina e solta (menos de 1 mm), forma globosa, estrutura de folhas sobrepostas, consistente na mastigação, proporcionando elasticidade e densidade persistente durante todo o processo de mastigação e como característica principal pode-se citar o seu “frescor”, que realça as notas odoríferas e aromáticas ligadas ao leite e ao método de coagulação (MOZZARELLA..., 2006).

Dentre as formas de fabricação do queijo *mozzarella*, as mais conhecidas são a artesanal e a industrial. No Brasil a diferença primordial está no processo de filatura; que na artesanal acontece de forma manual e na industrial ocorre de forma mecânica com o uso de maquinário apropriado. Por esta razão o produto artesanal fica mais aerado, em camadas que desmancham facilmente, já o não-artesanal apresenta-se levemente compacto, o que proporciona maior firmeza ao produto e também facilita a manipulação do produto após a embalagem.

VERRUMA-BERNARDI et al. (2004) concluíram que o queijo “mozzarella” elaborado pelo método tradicional apresentou cor mais branca, maior firmeza e elasticidade. E o queijo elaborado pela acidificação direta apresentou-se mais macio, com maior umidade e coloração esverdeada.

3.4.2 Matéria-prima

A tradicional *mozzarella* é fabricada com leite de búfala, porém, as dificuldades em se manter a mesma produção em litros de leite ao longo do ano, induzem a fraude do produto.

Segundo CONSALVO (1997), a demanda de “mussarela” de leite de búfala na Itália varia de acordo com as estações. Durante o verão, enquanto a demanda aumenta, a disponibilidade desse produto diminui pela falta de matéria-prima, uma vez que o leite de búfala é produzido em grandes quantidades durante o outono-inverno, quando a demanda é menor. Assim, a fim de preencher o déficit no período de sua maior demanda, muitas fábricas recorrem ao leite de outras espécies, prejudicando dessa forma a qualidade do produto final.

No mercado há um produto elaborado com leite bovino que possui formato semelhante e se faz passar por *mozzarella*. Na realidade trata-se de um tipo de queijo também conhecido na Itália como *Fior di Latte* (Flor de leite), de qualidade bastante inferior em relação a *mozzarella* de búfala (BUFALO..., 2006).

3.4.3 Sazonalidade da matéria-prima

Outro ponto muito importante é relacionado com a obtenção da matéria-prima em diferentes períodos do ano. Isto se deve ao fato de que a búfala é um animal de comportamento reprodutivo poliéstrico estacional (ZICARELLI, 1990).

A estacionalidade reprodutiva dos búfalos de rio determina a concentração de um grande volume de leite com características inadequadas para a fabricação de *mozzarella* nos meses sucessivos ao parto e causa prejuízos a cadeia produtiva de produtos derivados do leite de búfala (BASTIANETTO et al., 2005).

A búfala encontra condições favoráveis para manifestar suas atividades reprodutivas durante os meses do outono e início do inverno. Para fins de cálculo, pode-se utilizar valores em torno de 10 meses para a duração da gestação de búfalas (BARUSELLI et al., 1993).

Segundo BASTIANETTO et al. (2005) uma búfala que inicia sua gestação no princípio do inverno, irá entrar em trabalho de parto no outono do ano seguinte (período médio de gestação de 310 dias), época caracterizada pela baixa quantidade e qualidade das forragens. Diferente da espécie selvagem que originou o búfalo, que, de acordo com ZICARELLI (1997), os búfalos que se desenvolveram em uma zona tropical da Índia, passaram por um processo de seleção natural e o parto na primavera garantia à prole a presença de forragens em áreas tropicais ao norte do Equador. E os indivíduos que nasciam nas épocas mais favoráveis sobreviviam e prevaleceram numericamente, transmitindo para as gerações sucessivas as características reprodutivas.

SAMPAIO NETO et al. (2001) relatam alta porcentagem de partições no período chuvoso (79,3%). A produção total de leite e a produção no pico de lactação foram influenciadas pelos efeitos do ano e ordem de parto. A duração da lactação foi influenciada pelos efeitos do ano e mês de parto. A idade ao primeiro parto foi influenciada pelo efeito do ano de nascimento da búfala. O intervalo de partos foi influenciado pelo mês do parto anterior, além dos efeitos do mês dentro do ano de parto e mês de nascimento da búfala.

No Brasil, MESQUITA et al. (2001) observaram menores produções de leite durante o período seco ou inverno (entre abril e setembro) e maiores produções nas águas ou verão (entre outubro e março).

Segundo CATILLO et al. (2002) resultados diferentes foram encontrados na Itália, onde a primeira fase da lactação ocorre no verão, que é o período de menor produtividade, provavelmente atribuída às elevadas temperaturas que atingem a estação.

3.4.4. Selo de Pureza

Com o objetivo de dificultar ou inibir a adulteração dos produtos fabricados com leite de búfala, tanto a Itália quanto o Brasil, através de suas associações e órgãos governamentais, estabeleceram selos que são incorporados aos rótulos das embalagens e que asseguram a procedência do produto.

A comissão europeia criou uma marca para identificação dos produtos alimentares inseridos no Sistema de Tutela *Denominazione di Origine Protetta* (D.O.P.). Este selo assegura a qualidade de um determinado produto e garante a sua procedência (figura 1).

O consórcio de tutela do queijo *Mozzarella di Bufala Campana* que possui um selo elaborado com a finalidade da valorização de um produto típico e genuíno, obtido por meio de um trabalho tradicional. Trata-se de uma iniciativa intensa de salvaguardar a produção através de técnicas típicas (Figura 2).

Também no Brasil a Associação Brasileira dos Criadores de Búfalos (ABCB), lançaram o Selo de Pureza, que assegura uma autêntica *mozzarella*, fabricada com leite 100% de búfala e segundo os padrões italianos (Figura 3).



FIGURA 1. SELO ITALIANO DO SISTEMA DE TUTELA *DENOMINAZIONE DI ORIGINE PROTETTA* (D.O.P.).

Fonte: MOZZARELLA... (2006).



FIGURA 2. SELO DO CONSORCIO DE TUTELA DA *MOZZARELLA DI BUFALA CAMPANA*.

Fonte: MOZZARELLA... (2006).



FIGURA 3. SELO DE PUREZA DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DE BÚFALO (ABCB).

Fonte: BUFALO... (2006).

3.4.5 Terminologia

Observando os trabalhos sobre queijos feitos com leite de búfala, nota-se as várias formas de escrever e pronunciar o nome do queijo *mozzarella*.

Esse fator tem importância tanto no meio científico quanto no comercial, pela dificuldade em se encontrar trabalhos publicados, com um nome especificamente. Para tanto se faz necessário executar a “busca” através da combinação de vários nomes, o que pode se tornar mais difícil ainda quando o texto não é divulgado pela *internet*.

Isso afeta o consumo, pois uma nomenclatura confusa também pode fazer grande diferença na compra de um produto.

Existem ainda as dificuldades que podem surgir nos processos de importação e exportação e também na busca de ingredientes para reprodução de receitas típicas de um país.

Outro ponto é a forma correta de se pronunciar fonemas de diferentes idiomas, o que é muito importante para a apresentação de seminários no meio científico.

Abaixo são descritos alguns fonemas em italiano e português que podem auxiliar na pronúncia correta dos vários nomes dados ao queijo *mozzarella*:

- **zz**: em italiano tem som de **ts** (ex: pizza), em português tem som de **z**.
- **z**: em italiano tem som de **dz**, em português têm som de **z**.
- **ss**: em italiano em português têm o mesmo som de **s**.
- **I** ou **II**; em italiano em português têm som de **I**, sendo que, na Itália esta pronúncia tem um som mais arredondado.

3.4.6 Legislação

Não há muita diferença entre *mozzarella* (leite bubalino) e mussarela (leite bovino ou mistura de ambos) para o Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Este órgão estabelece os requisitos mínimos para comercialização nacional e internacional, de acordo com a Portaria número 366, de 04 de setembro de 1997.

O Regulamento Técnico para fixação de identidade e qualidade da massa para elaborar queijo *Mozzarella* (“Muzzarella ou Mussarela”), define como massa o produto obtido da coagulação do leite por meio de coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas complementada no não pela ação de bactérias lácticas específicas; como componentes requer leite e/ou leite reconstituído padronizado ou não no seu conteúdo de matéria gorda, coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas e como ingredientes opcionais poderá conter leite em pó, creme, caseinatos, cloreto de cálcio, ácidos cítrico, láctico, acético ou tartárico, cloreto de sódio; a consistência poderá ser semi dura ou semi mole de acordo com o conteúdo de umidade, matéria gorda e grau de maturação, a cor poderá ser de branco a branco amarelado uniforme, com sabor láctico pouco desenvolvido, com odor láctico pouco perceptível, sem crosta, com umidade máxima de 55%, matéria gorda mínima de 35%, obtida de massa acidificada sem filar, com estabilização e maturação no tempo mínimo de 24 horas, com embalagens ou envoltórios bromatologicamente aptos, para conservação e comercialização uma temperatura não superior a 10⁰C (BRASIL, 1997b).

De acordo com a portaria nº 364, de 04 de setembro de 1997, o acondicionamento do Queijo *Mozzarella*, Muzzarella ou Mussarela, pode ser feito em embalagens ou envoltórios bromatologicamente aptos, com o soro remanescente de sua obtenção ou com uma solução salina citratada. Para a conservação e comercialização a temperatura deverá ultrapassar 12⁰C e, no caso de conteúdos de umidade compreendidos entre 55 e 60% m/m, a mesma não excederá aos 8⁰C. O leite a ser utilizado deverá ser higienizado por meios mecânicos adequados e submetido à pasteurização ou tratamento térmico equivalente, para assegurar fosfatase residual negativa (A.O.A.C. 15^o Ed. 1990, 979.13, p. 823) combinado ou não com outros processos físicos e biológicos que garantam a inocuidade do produto (BRASIL 1997c).

3.5 Microbiologia

O exame microbiológico dos alimentos pode fornecer informações concernentes a qualidade da matéria-prima e as condições sanitárias sob as quais houve processamento do alimento, assim como a eficácia do método de preservação. Os processos microbiológicos para o exame de alimentos tiram vantagem de técnicas microscópicas especiais e de métodos culturais. Os meios seletivos e diferenciais são amplamente empregados na enumeração e no isolamento de certos tipos de microrganismos. O tipo de exame realizado é determinado pelo tipo de produto alimentar a ser analisado, assim como pelo objetivo do exame (PELCZAR et al., 1996).

Muitos fatores do meio ambiente estão diretamente envolvidos na absorção dos nutrientes e, por consequência, no próprio metabolismo celular. Os fatores principais que podem ser analisados isoladamente são: a pressão osmótica, o pH, a temperatura, a presença de oxigênio e de luz. (BARBOSA e TORRES, 1998).

Sabe-se que os germes dotados de potencial patogênico chegam a extensões de água através das excreções intestinais do homem e de outros animais. Além disso, certas espécies bacterianas, particularmente a *Escherichia coli* e organismos como ela relacionados e chamados coliformes, os *Streptococcus faecalis* e o *Clostridium perfringens*, são habitantes normais do intestino grosso do homem e dos animais, estando presentes, por isso mesmo, na matéria fecal. Assim, a presença de qualquer uma dessas espécies bacterianas na água torna-se evidência de poluição fecal, de origem humana ou animal. Se tais germes estão presentes na água, o acesso está aberto, também, para os agentes patogênicos encontrados igualmente nas fezes (PELCZAR et al., 1996).

As bactérias de interesse médico são classificadas em 5 grandes grupos com base em suas características fenotípicas: Riquétsias e Clamídias, Micoplasmas, Espiroquetídeos, Micobactérias e Nocárdias e Bactérias Normalmente Coradas pelo Método Gram, sendo estas últimas as que serão abordadas com maior ênfase neste trabalho. Que podem ser Cocos Gram-Positivos, Cocos Gram-Negativos, Bacilos Gram-Positivos e Bacilos Gram-Negativos. Todos podendo ter indivíduos de 2 tipos: Aeróbios ou Facultativos e Anaeróbios (TRABULSI, 1998).

De acordo com INMETRO... (2005) estão descritas no anexo 1 as enfermidades causadas por *Salmonella* spp e *Listeria Monocytogenes*.

3.5.1 Coliformes

O grupo coliforme compreende todas as bactérias anaeróbicas facultativas, gram negativas, não formadoras de esporos, com capacidade de fermentar lactose com produção de ácido e gás de 32 a 35°C, dentro de 48 horas. Pertencem a este grupo bactérias pertencentes aos gêneros *Escherichia*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Hafnia* e *Citrobacter* (HAJDENWURCEL, 1998).

A definição para o grupo coliformes fecais é a mesma de coliformes totais, porém, restringindo-se aos membros capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 horas com temperatura entre 44,5 a 45,5°C, que define os coliformes originários do trato gastrintestinal. Atualmente sabe-se, que o grupo de coliformes fecais inclui pelo menos três gêneros, *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella*, dos quais dois (*Enterobacter* e *Klebsiella*) incluem cepas de origem não fecal. Por esse motivo, a presença de *Escherichia coli*, embora também possa ser introduzida nos alimentos a partir de fontes não fecais, é o melhor indicador de contaminação fecal conhecido até o momento (SILVA et al., 1997).

A *E. coli* apresenta temperatura ótima de crescimento variando entre 35 e 40°C, temperatura máxima de crescimento entre 44 a 46°C. A atividade de água mínima que permite seu crescimento é de 0,95. O pH ótimo para seu crescimento é em torno de 6,0 a 7,0, sendo 4,4 seu mínimo e 9,0 seu máximo (ICMSF, 1998).

O gênero *Escherichia* inclui uma única espécie bacteriana. Constitui um habitante normal do intestino do homem e dos outros animais e só em determinadas situações pode causar infecções. Conhecem-se, no entanto, três estirpes diferentes desta espécie, de acordo com a natureza da infecção que podem provocar: estirpes oportunistas, estirpes enteropatogênicas e estirpes enterotoxigênicas (PINTO, 1996).

3.5.2 Estafilococos

Os estafilococos são cocos Gram-positivos que, por se dividirem em vários planos, tendem a formas cachos semelhantes aos de uva. O gênero *Staphylococcus* compreende várias espécies, sendo três delas de interesse médico: *S. aureus*, *S. epidermidis* e *S. Saprophyticus*. A última espécie foi transferida do gênero *Micrococcus* (TRABULSI, 1998).

São bactérias mesófilas, apresentam temperatura para crescimento entre 7 e 48°C, sendo 37°C a temperatura ótima. Para produção de toxina é entre 10 e 48°C, sendo 40 a 45°C a faixa ótima. O pH de crescimento é de 4,0 a 10,0, sendo o ótimo é entre 6,0 a 7,0; para produção de toxina é de 4,5 a 9,6 (somente para aeróbios), sendo o ótimo entre 7,0 a 8,0. A atividade de água para crescimento é de 0,83 a 0,99 (somente para aeróbios), sendo o ótimo 0,98; para produção de toxina entre 0,87 a 0,99 é o ótimo é 0,98. São tolerante a concentrações de 10 a 20% de cloreto de sódio e nitratos, o que torna os alimentos curados veículos potenciais para contaminação com o *Staphylococcus spp.* (ICMSF, 1998).

O *S. aureus* é o principal representante dos estafilococos coagulase positiva (SC+) e é a espécie mais frequentemente associada às doenças estafilocócicas, quer sejam de origem alimentar ou não. As enterotoxinas estafilocócicas, são um grupo de proteínas de baixo peso molecular, de cadeia única, termoestáveis, pirogênicas, com característica emética e efeitos nas células do sistema imune. A ingestão de toxinas pré formadas em alimentos produz diarreia e vômitos 2 a 8 horas após a ingestão, mas a quantidade de enterotoxina para acarretar a doença depende da susceptibilidade, peso e saúde da pessoa afetada. Os leites crus ou pasteurizados e os queijos têm sido frequentemente implicados como veículos de transmissão de bactérias patogênicas e com surtos de intoxicação estafilocócicas relatados em todo o mundo (FREITAS, 2005).

De maneira geral, alimentos envolvidos em surtos de intoxicação alimentar apresentam uma grande população de *S. aureus*, não exigindo métodos particularmente sensíveis enquanto na enumeração como indicador de contaminação. As principais características utilizadas no isolamento de *S. aureus* são as características seletivas, como habilidade de crescer na presença de 1% de cloreto de sódio, entre 0,01 a 0,05% de terulito de potássio; de 0,2 a 0,5% de cloreto de lítio; entre 0,12 a 1,26% de glicina e 40mg/l de poloximina, além de outras. E as características diferenciais, como a habilidade para reduzir o telurito de potássio, produzindo colônias pretas, a habilidade para hidrolisar a gema de ovo, por ação de lípases e/ou lecitinases, produzindo halos claros em redor das colônias, a capacidade de utilizar manitol e de crescer a temperaturas entre 42 e 43°C em condições seletivas, a atividade de coagulase e de termonuclease, entre outras (SILVA et al., 1997).

3.6 Qualidade do leite e seus derivados

3.6.1 Fatores microbiológicos que afetam a qualidade do leite

Para PINTO (2004) são, felizmente, cada vez mais raros os casos de doenças de origem microbiana transmitidas através da ingestão de alimentos contaminados. Tal fato deve-se a crescente melhoria das condições higienico-sanitárias, a utilização de programas de controle de qualidade microbiológica cada vez mais sistemáticos e eficazes e a existência de processos, cada vez mais seguros, do ponto de vista de saúde pública, utilizados durante o processamento, transporte, armazenamento e distribuição dos alimentos.

Não são raros os casos na indústria de produtos lácteos em que ocorre exatamente o inverso. Pesquisadores têm relatado a má qualidade dos produtos de prateleira em relação às condições higiênico-sanitárias e também pelo alto número de microrganismos prejudiciais a saúde em limites acima tolerado (MORENO et al., 2002; GARDENAL, 2002; LOGUERCIO e ALEIXO, 2001; ARAÚJO et al., 2001a; PIMENTEL et al., 2002; MURICY, 2003; SILVA, 2003; OLIVIERI, 2004; OLIVEIRA, 2005).

A qualidade insatisfatória do leite produzido no Brasil é um problema crônico, de difícil solução, onde fatores de ordem social, econômica, cultural e até mesmo climática, estão envolvidos e que não tem merecido a devida atenção no campo político, apesar do importante papel representado pelo leite na alimentação da população (SILVEIRA et al., 2002).

As doenças de origem alimentar podem ser provocadas por diversos grupos de microrganismos, incluindo bactérias, bolores, protozoários e vírus. As bactérias, pela sua diversidade e patogenicidade, constituem, de longe, o grupo microbiano mais importante e mais vulgarmente associado às doenças transmitidas pelos alimentos. Em menor escala, os bolores podem também ser responsáveis por doenças alimentares, devido a possibilidade de crescimento de determinadas espécies, capazes de produzir toxinas fúngicas, as micotoxinas, na superfície dos alimentos. Dada a menor importância das doenças alimentares provocadas por vírus e protozoários, considera-se não ser relevante, tecer quaisquer considerações (PINTO, 1996).

AMARAL et al. (2004) relatam que a água utilizada nas propriedades também pode ser um fator de risco a qualidade do leite. Os resultados mostraram o isolamento de *Staphylococcus* spp. em 80,0%, 63,3% e 66,7% das amostras de água das fontes, reservatórios e estábulo, respectivamente. Foram isolados *Staphylococcus aureus* nas amostras de água dos 3 pontos amostrados sendo que 100% das amostras isoladas da água utilizada no estábulo foram capazes de produzir enterotoxinas.

O trabalho desenvolvido por ASSUMPÇÃO et al. (2003) demonstra que água de imersão das fôrmas e a salmoura apresentaram contagens de estafilococos produtores de coagulase (SC+) e *S. aureus* inferiores a 1,0 UFC/ml, não se constituindo em importantes fontes de contaminação.

A qualidade do leite cru está intimamente relacionada com o grau de contaminação inicial e com o binômio tempo/temperatura em que o leite permanece desde a ordenha até o processamento. Em geral, quanto maior o número de contaminantes e quanto mais alta for a temperatura na qual o leite permanece (próxima de 30°C), menor será o seu tempo de conservação (MUTUKUMIRA et al., 1996).

Os germes encontrados no leite são discutidos de acordo com suas principais características, ou seja:- tipos bioquímicos, tipos térmicos e capacidade de causar infecção e doenças. As bactérias também podem ser classificadas de acordo com suas temperaturas ótimas de crescimento e com sua resistência térmica, estas podem pertencer a 4 tipos: psicrófilas, mesófilas, termófilas e termodúricas (PELCZAR et al., 1996).

Considerando que alguns germes psicrófilos crescem em temperaturas imediatamente abaixo da congelação e que alguns termófilos se desenvolvem em temperatura acima de 65°C, segue-se que a temperatura de manutenção do leite determinará o tipo microbiano predominante (PELCZAR et al., 1996).

As espécies do gênero *Salmonella*, responsáveis por importantes infecções veiculadas pelos alimentos, possuem uma temperatura mínima de crescimento de 7°C. Refira-se que o tempo médio de refrigeração de *Salmonella* spp. a 10°C é de aproximadamente 10 horas, o que significa que a população destas bactérias pode aumentar 100 vezes em menos de 6 dias. A espécie *Staphylococcus aureus* e algumas estirpes de *Clostridium botulinum* não crescem a temperaturas inferiores a 10°C, mas o *C. botulinum* tipo E pode crescer em temperaturas da ordem dos 4°C (PINTO, 1996).

As leveduras requerem para seu crescimento menos umidade que a maioria das bactérias e mais umidade que a maioria dos bolores. A temperatura ideal varia entre 25 e 30°C, com algumas exceções importantes e o pH preferido é o ácido. As alterações provenientes do desenvolvimento de leveduras manifestam-se de duas formas: uma puramente estética devido a sua presença física com a formação de películas e a outra resultante do seu metabolismo com aumento do pH, aromas peculiares e anormais no produto, etc. (MORENO et al., 2002).

Os bolores são menos exigentes que as leveduras e as bactérias em relação à umidade, pH, temperatura e nutrientes. Em sua maioria desenvolvem-se entre 15 e 30°C. Alguns são psicotróficos, como os gêneros *Penicillium*, *Cladosporium*, *Trichothecium* e *Aspergillus*, e seus esporos sobrevivem e germinam em condições favoráveis. A maioria prefere a atividade de água <0,80 a 0,95, porém, a 25°C, algumas espécies podem crescer em atividade de água <0,75 (xerófilas). Com relação ao pH, a maioria se desenvolve em substratos que representem valores entre 4,0 e 8,0 ainda que algumas espécies tolerem valores mais ácidos ou muito alcalinos. A quantidade de oxigênio disponível é um fator importante no desenvolvimento dos bolores, pois são normalmente aeróbios, razão pela qual seu crescimento nos alimentos limita-se a superfície em contato com o ar. Os mais exigentes em oxigênio desenvolvem-se nas regiões periféricas, quando os menos exigentes, em profundidade (MORENO et al., 2002).

3.6.2 Vida ou tempo de prateleira (*Shelf life*)

A vida de prateleira vem do inglês "*shelf life*", é sempre utilizada para descrever a durabilidade de um produto (BIBLIOTECA..., 2006).

Segundo ELLIS (1996), vida de prateleira pode ser definida como aquele tempo decorrido entre a produção e a embalagem do produto até se tornar inaceitável para o consumo.

Segundo LEWIS e DALE (1996) para se determinar o tempo de prateleira deve-se primeiro identificar quais as características dos ingredientes, as condições de processo e estocagem, depois o monitoramento e controle dos parâmetros do processo, para então se determinar exatamente o final do tempo da vida de prateleira.

Para avaliar a vida de prateleira de bebidas lácteas preparadas com "*fat replacers*", SIVIERI e OLIVEIRA (2002) avaliaram as amostras através de análises químicas (valor de pH, acidez total titulável, teores de sólidos totais e tirosina) e sensoriais (aparência, sabor e consistência) aos 0, 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento a 5°C. Como estimativa da vida de prateleira foi estudada a taxa de incremento ou decréscimo do pH, teor de acidez e teor de tirosina em função do tempo de armazenamento, por regressão linear simples. Metodologia semelhante foi utilizada anteriormente por ELLIS (1996) e de forma satisfatória.

ZACARCHENCO e MASSAGUER-ROIG (2004) realizaram avaliação sensorial, microbiológica e de pós acidificação durante a vida de prateleira de leites fermentados contendo *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium longum* e *Lactobacillus acidophilus*. As amostras foram avaliadas ao longo de 21 dias de estocagem a 4°C, nos datas 1, 7, 14 e 21 quanto a pH, acidez titulável, avaliação sensorial dos atributos de sabor e acidez e determinação de células viáveis de *Streptococcus thermophilus* e *Bifidobacterium longum*.

O *shelf life* de um produto pode ser determinado em condições de tempo e temperatura pré-estabelecidas, mas o fato é que nem sempre estas condições são obedecidas, como revelam as pesquisas citadas no item 3.1 deste trabalho, que mostram resultados obtidos em INMETRO... (1997) e INMETRO... (1999).

As diferenças de temperatura e formas inadequadas de armazenamento podem acarretar em alterações de padrões sensoriais como a cor, sabor, textura e consistência, por favorecer o desenvolvimento de microrganismos como bactérias, bolores e leveduras.

MACÊDO et al. (2000) avaliaram a temperatura de refrigeração nas gôndolas de exposição de derivados lácteos em supermercados da região de Juiz de Fora - MG. Os resultados obtidos chamaram a atenção pela falta de controle de temperatura, que colocam em risco a vida de prateleira e a segurança sanitária dos produtos.

As contagens microbiológicas e teores adequados dos constituintes físico-químicos garantem características sensoriais adequadas, refletindo na maior aceitabilidade pelo consumidor, boa durabilidade do produto e, por fim, maior rendimento industrial (TEIXEIRA et al., 2005).

A alta carga microbiana do leite não está somente associada ao maior risco à saúde pública, mas também a um efeito negativo sobre a qualidade do produto final que chega ao consumidor, que se expressa pela redução no tempo de prateleira, pela presença de sabores indesejáveis e pela diminuição no rendimento industrial, especialmente para a fabricação de queijos. Basicamente o padrão microbiológico do leite pode ser expresso pela Contagem Bacteriana Total - CBT do leite no tanque. Didaticamente podemos apontar que a CBT é uma função da Carga Microbiana Inicial - CMI e da Taxa de Multiplicação Bacteriana - TMB (FONSECA e PEREIRA, 1999).

RIBEIRO et al. (2004) com o objetivo de verificar alguns microrganismos indicadores de contaminação e deterioradores em ricota cremosa durante a vida de prateleira, observaram no controle microbiológico os seguintes resultados:- $<0,3$ NMP/g de coliformes, $<1,0 \times 10^2$ UFC/g de SC+ e contagem total de aeróbios mesófilos entre $2,0 \times 10^2$ e $2,45 \times 10^4$ UFC/g, sendo que as contagens de aeróbios mesófilos diminuíram com o tempo de armazenamento de 20 dias a 7°C .

ROCHA et al. (2006) avaliaram a evolução da contaminação microbiana de queijo minas frescal durante sua vida de prateleira e a padronização e qualidade de sete marcas (A a G) de queijo, adquiridas em supermercados de São Paulo.

As contagens mais elevadas de *Staphylococcus* spp., coliformes e *E. coli* detectadas foram, respectivamente, 7,83 (B), 8,02 (B) e 7,83 log UFC/g (C). Todas as marcas, exceto a F, apresentaram índices de contaminação acima do recomendável. Seis das sete marcas apresentaram-se impróprias para o consumo já aos sete dias de fabricação. As populações de coliformes e de *E. coli* dos queijos preparados no laboratório aumentaram 2,5 ciclos log durante o processamento com leite pasteurizado e 4,5 ciclos log (coliformes) e 5 ciclos log (*E. coli*) em queijo fabricado com leite cru. Os autores concluíram que há necessidade de reavaliações das condições de fabricação, distribuição, comercialização e prazo de validade do queijo minas frescal.

3.6.3 Cuidados para manter a qualidade do leite

Considerando os pontos apresentados, pode-se apontar que as principais estratégias de manejo e higiene ao nível de fazenda para assegurar a produção de um leite de alta qualidade são: adoção de um programa integral de controle de mastite; ordenha de animais com tetos limpos e secos; utilização do *pré-dipping*; limpeza adequada do equipamento e utensílios de ordenha; utilização de um tanque resfriador bem dimensionado de forma a proporcionar um rápido abaixamento da temperatura do leite após a ordenha e manutenção de água de boa qualidade na fazenda (FONSECA e PEREIRA, 1999).

SILVA-NETTO (2004) faz recomendações aos bovinos que podem ser aplicados aos bubalinos:- as vacas em ordenha devem merecer toda a atenção, em caso de mastite; a vaca contaminada deverá ser a última a ser ordenhada; o mesmo deve ser feito com a teta doente. Desta forma evita-se a contaminação de outras vacas e de outras tetas da própria vaca afetada. No caso de mastite, onde acuse duas a três cruzes no teste CMT (*California Mastitis Test*), deve-se isolar o animal e tratar fora da sala de ordenha. A secreção ou pus eliminado deve ter um destino seguro para evitar contaminação.

O termo células somáticas abrange diferentes elementos celulares normalmente presentes no leite, compreendendo células de defesa do organismo e células epiteliais de descamação. As células são medidas em milhares e variam de alguns milhares até vários milhões, dependendo do estado de infecção da glândula mamária do animal (TONHATI et al., 1999).

A elevação da Contagem de Células Somáticas (CCS) é uma resposta da glândula mamária e modulada por mediadores da inflamação, sendo que o principal fator que afeta a CCS, quer seja por quarto mamário, leite individual ou leite total da fazenda, é o *status* de infecção da glândula mamária (AMARAL et al., 2005).

A estacionalidade reprodutiva concentra a produção de grande volume de leite (até 60% da produção total de leite/ano) por búfalas que pariram nos meses de fevereiro a maio. O baixo percentual de caseína no leite, a alta acidez titulável e a alta CCS em algumas fases da lactação causam problemas na coagulação do leite. Os fatores alimentares que aumentam a acidez titulável do leite são: excesso de forragem grosseira sem a observação das características nutricionais e fornecimento de alimentos inapropriados: silagem de baixa qualidade, alimentos mofados, mistura mineral inapropriada (BASTIANETTO et al., 2005).

Os fatores ambientais que causam o aumento da acidez titulável do leite da búfala são: presença de bactérias saprófitas produtoras de ácido láctico através da fermentação da lactose, conservação do leite em refrigerador sujo e resfriamento lento, transporte do leite em latas sujas e/ou com temperaturas inadequadas, percursos longos e/ou demorados e ordenha com pouca ou nenhuma higiene (BASTIANETTO et al., 2005).

A pasteurização é necessária e tem a finalidade de diminuir ao máximo o número de microrganismos, mas alguns deles ainda podem sobreviver ao calor aplicado (LEITE et al., 2002).

A pasteurização, segundo a instrução normativa número 51, de 18 de setembro de 2002 do Ministério da Agricultura, é o tratamento térmico aplicado no leite cru, na faixa de temperatura de 72 a 75°C durante 15 a 20 segundos, em equipamento de pasteurização a placas, seguindo-se resfriamento imediato em aparelhagem a placas até temperatura igual ou inferior a 4°C e ênfase em circuito fechado no menor prazo possível, sob condições que minimizem contaminações (BRASIL, 2002).

OLIVEIRA (2005) que estudou Condições microbiológicas e avaliou a pasteurização em leite de vaca tipo A e B e comercializado no município de Piracicaba, relata que sua pesquisa pode ser indicativa de prováveis falhas do binômio tempo/temperatura durante a pasteurização industrial, matéria-prima excessivamente contaminada e higienização e sanificação deficientes das linhas de produção ou contaminação pós-pasteurização.

LISITA (2005) em seu estudo com queijos minas frescal, relatou que os resultados mostraram que a pasteurização é o único ponto crítico de controle do processo, foi insuficiente para garantir a qualidade microbiológica do leite de acordo com os pontos microbiológicos vigentes, porque o leite cru apresentava péssima qualidade.

Embora na tecnologia de fabricação do queijo “mussarela” haja uma etapa, a filagem, em que se realiza um tratamento térmico na massa, esta etapa não garante a eliminação dos patógenos eventualmente presentes no leite cru (FURTADO, 1994).

Durante o processo de filagem, bactérias, enzimas, etc., são protegidas pela caseína e pelos glóbulos de gordura, sendo que os glóbulos de gordura possuem uma notável capacidade de isolamento térmico. Segundo o autor, existe comprovação científica que se adicionar, no momento da coalhada, bactérias *Escherichia coli*, estas sobreviveram bem ao processo de filagem, no interior da massa. Se o leite não é devidamente pasteurizado antes da coagulação, a microbiota patogena presente no leite tem tempo e temperatura propícios para multiplicar-se. A temperatura de pasteurização de 72°C durante 15 segundos é ideal para a *mozzarella* (DEL PRADO, 1998).

SILVA et al. (1999) trabalhando com leite bubalino cru para fabricação de “mussarela”, obteve um produto com carga microbiana remanescente de coliformes totais e fecais superior aos limites estabelecidos pela legislação em vigor.

Com a tecnologia desenvolvida atualmente, ainda não é impossível a obtenção de um leite isento de microrganismos, o que se pode fazer então, é tomar o máximo de cuidado para que a carga microbiana seja a menor possível quando este chega a indústria para ser processado.

Microbiologicamente a qualidade do leite de búfala está intimamente relacionada aos hábitos do animal e ao manejo da ordenha. Um fator de relevância é o comportamento do animal de imergir em coleções de água a procura de conforto térmico. Tal hábito dificulta a higienização do úbere da búfala (TEIXEIRA et al., 2005).

3.6.4 Microrganismos que afetam a qualidade do leite

Dentre as bactérias que podem crescer em queijos destacam-se, principalmente, os coliformes totais e fecais, o *Staphylococcus aureus* e a *Salmonella* spp., sendo a presença e o número destes microrganismos indicadores da qualidade do produto. Sob o ponto de vista econômico a contaminação por fungos e leveduras é bastante prejudicial, uma vez que altera as características organolépticas dos queijos, inviabilizando sua comercialização (SALVADOR et al., 2001).

A RDC de 02 de janeiro de 2001 estabelece limites de tolerância para Estafilococos coagulase positiva por grama, *Salmonella* sp. por 25 gramas, *Listeria monocytogenes* por 25 gramas e Coliformes a 45°C por grama (BRASIL, 2001).

MURICY (2003) verificou que a bactéria mais isolada nas amostras de leite de cabras foi o estafilococos coagulase negativo.

VOLTOLINI et al. (2001) observaram que os patógenos isolados com maior frequência no leite de vacas holandesas foram estafilococos coagulase positivo (49%) e estafilococos coagulase negativo (19%).

CARVALHO (2003) que estudaram a fabricação do queijo minas frescal (leite de vaca), relatam que quanto ao estafilococos coagulase positivo as amostras com adição de cultura lática apresentaram maior percentagem de resultados acima do limite máximo estabelecido pela legislação (12,9%) em relação as amostras da acidificação direta (9,7%).

OLIVEIRA (2005) em estudo realizado com leite de vaca tipo A e B, não encontrou amostras contaminadas com *Salmonella* spp. Resultado semelhante foi encontrado por CARVALHO (2003).

LEITE et al. (2002) relatam que além da *Salmonella* spp., também não encontraram estafilococos coagulase positiva.

CARVALHO (2003) concluíram que nas amostras analisadas, estavam em desacordo com os limites máximos permitidos para coliformes termotolerantes (45°C) eram em média 64,5% para o processamento de acidificação direta, 29% para o método tradicional com adição de cultura láctica e 9,7% para processamento com ultrafiltração. O maior número de amostras em desacordo com a legislação (71%) evidenciou a suscetibilidade do processamento acidificação direta em relação à contaminação por patógenos.

ARAÚJO et al. (2001b) desenvolveram um trabalho com queijo minas frescal na região metropolitana de Salvador e concluíram que consideráveis perdas são causadas por produtos deteriorados por intermédio de crescimento de fungos indesejáveis. Nas amostras analisadas foram encontrados exemplares de queijo minas em condições impróprias para o consumo, já que o número de bolores e leveduras foram significativos e comuns, podendo então, vir a provocar problemas de saúde pública, sendo um risco a saúde humana.

SOUSA et al. (2002) num estudo sobre avaliação microbiológica do doce de leite e do requeijão feitos com leite de búfala relataram que em nenhuma das 18 amostras de doce de leite analisadas foi detectada a presença de coliformes totais, fecais e *Salmonella*. A presença de bolores e leveduras e bactérias aeróbias mesófilas foi detectada em 22,2% e 27,8% das amostras, respectivamente. A contagem de bolores e leveduras variou de $<1,5 \times 10^2$ a $7,4 \times 10^3$ e a de bactérias aeróbias mesófilas em todas as amostras foi $< 3 \times 10^2$.

A contagem de células somáticas também interfere no processamento do queijo, e pode ser um bom indicativo da qualidade do leite. Por isso recomenda-se que a contagem total de bactérias no leite destinado à fabricação de *mozzarella* deve estar entre $5,0 \times 10^3$ a $5,0 \times 10^5$ UFC/ml (TEIXEIRA et al., 2005).

As contagens microbiológicas e teores adequados dos constituintes físico-químicos garantem características sensoriais adequadas, refletindo na maior aceitabilidade pelo consumidor, boa durabilidade do produto e por fim, maior rendimento industrial (TEIXEIRA et al., 2005).

TERRAMOCHIA et al. (2001) verificou que a presença de até $2,0 \times 10^5$ células somáticas/ml no leite de búfala não interfere no processo de coagulação, e leites com mais de $4,0 \times 10^5$ células somáticas/ml não coagulam bem.

COELHO et al. (2004) analisaram o leite de búfalas de 19 rebanhos (6.564 amostras), encontraram média de 137 mil células/ml e 378,15% para CCS.

KAPRONEZAI (2004) desenvolveu um trabalho com o objetivo de fazer análises microbiológicas em leite de fêmeas bubalinas. Descreve que 75,6% das amostras não apresentou crescimento de microrganismos; 11,8% apresentou isolamento de *Staphylococcus spp.*; 7,3% isolamento de *Corynebacterium spp.*; 3,1% *Streptococcus spp* e 1,2% crescimento de microrganismos associados. A contagem total de células somáticas das amostras avaliadas apresentou mediana de 2300 células/ml de leite. Concluiu que a espécie bubalina apresenta baixos índices de mastite; nas amostras com isolamento de microrganismos, o número de UFC/ml é pequeno. Existe um número de animais que apresenta resultado positivo no exame microbiológico do leite, sem, contudo apresentar sinais de processo inflamatório.

Segundo AMARAL et al. (2005) como a CCS do leite de búfalas apresentam valores diminutos quando comparados com o leite de bovinos, sendo uma peculiaridade do leite desta espécie, os padrões hoje utilizados para avaliar a qualidade do leite, baseado na CCS do leite de vacas, não podem ser aplicados ao leite bubalino. Devem-se realizar mais pesquisas a fim de estabelecer os parâmetros aceitáveis da CCS no leite de búfalas e a dinâmica das infecções sub-clínicas que podem estar influenciando na elevação da CCS. E apesar do maior valor nutritivo e rendimento industrial do leite de búfalas quando comparados com o leite de vacas e do crescimento de sua exploração no país, pouco se tem feito para regulamentação de normas de padrão de identidade e qualidade do leite bubalino, o que dificulta a realização de medidas de controle e fiscalização aliada à falta de padrões a serem seguidos.

Segundo LORENZETTI (2006) na indústria de laticínios, onde grandes volumes de leite ficam armazenados a temperatura de refrigeração entre 1 e 6°C por longos períodos, as bactérias psicrotróficas encontram condições ótimas para o seu desenvolvimento, e podem provocar mudanças indesejáveis no leite e nos seus derivados. A presença desses microrganismos indica a baixa qualidade do leite e condições sanitárias insatisfatórias no processamento. Ao submeter o leite de ambas as regiões (região metropolitana de Curitiba - PR e na região do Alto Vale de Santa Catarina - SC) a tempos e temperaturas de estocagem diferentes obteve-se

resultados que demonstraram que mesmo sob temperatura de refrigeração os microrganismos psicotróficos continuam a desenvolver-se, sugerindo que um tempo mínimo de estocagem deve ser perseguido como meta. Constatou-se ainda que contagens iniciais altas de microrganismos psicotróficos no momento da chegada do leite na indústria beneficiadora, podem resultar em sérios problemas nos produtos lácteos produzidos neste laticínio.

PICOLI et al. (2006) com o objetivo de acompanhar a produção de queijo fresco de leite de cabra, avaliando a qualidade higiênica do processamento pela quantificação de coliformes, *S. aureus* e mesófilos totais, observaram em três diferentes lotes de queijo e nas coletas realizadas nas prateleiras das casas comerciais durante o período de validade, que apesar da pasteurização ter diminuído consideravelmente as populações microbianas presentes no leite cru, a falta de sanificação adequada de um equipamento que entrava em contato com o leite cru e que dá acesso ao tanque de coagulação, houve recontaminação da matéria-prima. Ao final do processamento, o queijo encontrava-se dentro dos padrões exigidos pela legislação, contudo a elevada contagem de mesófilos totais sugere que sejam melhoradas as medidas de sanitização durante o processamento, a fim de garantir a qualidade higiênica e uma maior vida de prateleira ao queijo produzido.

BRUM (2004) realizou em seu estudo uma abordagem referente à segurança alimentar e como o sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle - APPCC pode ser utilizado para garantir a segurança dos produtos lácteos. Com os resultados obtidos foi possível constatar que as boas práticas de fabricação não estão totalmente implantadas, detectando-se diversas não conformidades a serem eliminadas. Constatou-se que, a implementação do sistema de Análise de Riscos e Pontos Críticos de Controle, pode contribuir significativamente para a elaboração de produtos lácteos com mais qualidade e segurança alimentar.

3.6.5 Efeitos dos microrganismos sobre a qualidade do leite

Mantido sob condições permissivas ao crescimento bacteriano, o leite bruto de boa qualidade sanitária desenvolverá um sabor azedo nítido. Esta modificação é devida principalmente, ao *Streptococcus lactis* e certos lactobacilos. A principal alteração reside na fermentação da lactose a ácido láctico ou fermentação normal (PELCZAR et al., 1996).

Para queijos, os coliformes estão diretamente correlacionados com o estufamento devido a produção de gases e acidificação do produto, o que pode ocasionar na alteração do sabor (JAY, 1994).

Praticamente todo alimento, quer de origem vegetal quer de origem animal, que não tenham sido objetos de processamento, podem veicular a *E. coli*, desde que, em algum momento tenham sido sujeitos a poluição fecal. Um dos casos mais alarmantes de infecção alimentar por *E. coli* ocorreu nos Estados Unidos, nos anos 80, por ingestão de queijo *Camembert* contaminado. Os principais e mais freqüentes sintomas caracterizam-se pelo aparecimento de diarréias, febre e náuseas que, normalmente, aparecem 6 a 36 horas após a ingestão do alimento contaminado (PINTO, 1996).

Entende-se por infecção alimentar de origem bacteriana, a doença produzida por bactérias capazes de crescerem no interior do trato gastrointestinal e de onde são capazes de invadir os tecidos ou os fluídos orgânicos do hospedeiro, ou de produzir toxinas (enterotoxinas). As infecções manifestam-se pela invasão das mucosas ou pela produção de enterotoxinas (toxinas que atuam no intestino), de cuja interação se criam condições patológicas que resultam em doença. Os principais gêneros e espécies bacterianas envolvidos neste mecanismo são os seguintes: *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *Vibrio*, *Brucella*, *Clostridium*, *Campylobacter*, *Listeria* (PINTO, 1996).

Entre 30 de Junho e 2 de Julho de 1998, três hospitais notificaram nove casos suspeitos de intoxicação alimentar ao serviço de epidemiologia e prevenção (*Servizio di Epidemiologia e Prevenzione* - SEP) da autoridade de saúde local no distrito de Nápoles - Itália (*Azienda Sanitaria Locale*, ASL NA 4). O SEP iniciou imediatamente a investigação do surto. Todos os casos se apresentaram com diarréia, 6 com dor abdominal, 5 com vômitos, 4 com febre e um com cefaléias.

O período de incubação durou entre 9 e 27 horas (média de 17). O único alimento ingerido por todos os doentes foi bolo “*tiramissù*”, preparado com queijo mascarpone e ovos. Na investigação laboratorial, foi detectada a *Salmonella enteritidis*. Na investigação ambiental o SEP confirmou que o queijo mascarpone havia sido adquirido no mesmo dia em que o bolo foi preparado (PANICO et al., 1999).

Entende-se por intoxicação alimentar de origem bacteriana, o estado patológico provocado pela ingestão de alimentos contaminados por toxinas (exotoxinas), produzidas por microrganismos, como resultado do seu crescimento nos alimentos. São três as espécies bacterianas associadas às intoxicações alimentares, que passamos a descrever: *Clostridium botulinum*, *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus* (PINTO, 1996).

O grupo coliforme é freqüentemente pesquisado em alimentos, sendo o queijo um dos principais veículos de toxinfecção alimentar, pois a presença desses microrganismos está associada às praticas de higiene e manipulação inadequadas (RAIBNITZ, 1998).

Os bolores tornam o alimento inaceitável para o consumo quando ficam visíveis, devido ao crescimento do micélio constituído por uma massa de hifas que pode apresentar diferentes aspectos: seco, pulverulento, úmido, gelatinoso, compacto ou não, aparência cotonosa, incolor ou colorido com tonalidades de vermelho, amarelo, castanho, verde, cinza ou preto (MORENO et al., 2002).

Quanto às intoxicações alimentares de origem fúngica, sabe-se que algumas espécies de bolores produzem determinados metabólicos tóxicos, designados por micotoxinas. As micotoxinas são metabólicos simples, de baixo peso molecular, sendo a maioria suficientemente termo-estável, resistindo a determinados tratamentos térmicos ou processos de desidratação, que são suficientes para destruir o micélio vegetativo dos fungos que as produziam. Outra característica das micotoxinas é a sua capacidade de circular na cadeia alimentar sem serem destruídas. Isto significa que alimentos de origem animal (carne e leite) podem estar contaminados por micotoxinas se o animal tiver sido alimentado por rações previamente contaminadas. Três gêneros de bolores assumem particular importância na produção de micotoxinas: *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* (PINTO, 1996).

3.7 Padrões microbiológicos para o queijo *mozzarella*

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), através da Resolução RDC número 12, de 02 de Janeiro de 2001, estabeleceu padrões microbiológicos para diversos alimentos (BRASIL, 2001).

Os limites de tolerância adotados para o queijo *mozzarella* são apresentados no Quadro 1.

QUADRO 1. PADRÕES MICROBIOLÓGICOS PARA QUEIJO *MOZZARELLA* DE ACORDO COM A RDC N^o 12, de 02.01.2001.

MICROORGANISMOS	LIMITE DE TOLERÂNCIA
Coliformes a 45 ^o C	5x10 ³ NMP/g
Estafilocos coagulase positiva	1x10 ³ UFC/g
<i>Salmonella sp.</i>	Ausência em 25g
<i>Listeria monocytogenes</i>	Ausência em 25g

Fonte: A AUTORA (2006).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Base física laboratorial

As análises microbiológicas deste trabalho foram realizadas no Laboratório de Microbiologia e Ornitopatologia (LABMOR), Departamento de Ciências Veterinárias, Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

Todas as amostras de queijo foram coletas em uma fábrica de laticínios do Estado do Paraná, cujos produtos possuem o selo do Serviço de Inspeção do Paraná para Produtos de Origem Animal (S.I.P./ P.O.A.).

O queijo analisado foi o tipo *mozzarella*, fabricado com leite de búfala, sob dois formatos: embalado com água (MECA) e embalado sem água (MESA).

As amostras foram fabricadas no mesmo dia, a partir de um mesmo lote de leite e sob as mesmas condições higiênico-sanitárias.

A descrição do processamento encontra-se no Anexo 2.

4.2 Amostragem

No dia 8 de outubro de 2005 foi preparado um lote com 48 amostras do queijo *mozzarella*, sendo 24 amostras de cada formato e pesando 250 gramas (no mínimo) cada unidade.

Todo o lote foi transportado e acondicionado em caixa de isopor contendo gelo picado e levado ao local de armazenamento e processamento segundo SILVA et al. (1997).

A Figura 4 mostra os dois formatos (MECA e MESA) de queijo, 24 horas após a retirada da embalagem. Destaque para a crosta fina que envolvia o queijo MECA.

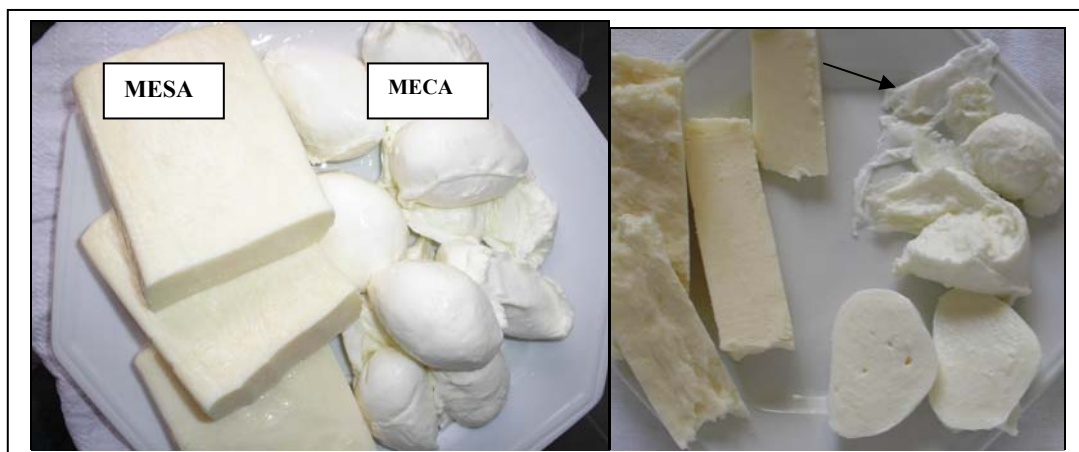


FIGURA 4. DOIS FORMATOS (MECA E MESA) DO QUEIJO *MOZZARELLA*, DESEMBALADOS 24 HRS APÓS O INÍCIO DAS ANÁLISES.

Fonte: A AUTORA (2006).

O armazenamento foi realizado em refrigerador doméstico 230 litros (exclusivo para as amostras deste experimento), com termostato colocado na posição central (médio). A temperatura interna do refrigerador era medida com termômetro de máxima e mínima.

Os refrigeradores domésticos tendem a atingir temperaturas menores nas bandejas superiores em relação as inferiores. Portanto, o termômetro foi fixado a uma das bandejas e estas foram rotacionadas a cada 24 horas, quando também se realizava a anotação de temperatura.

4.3. Datas de análise

As datas de análise são descritas nas Tabelas 3 e 4.

TABELA 3. DATAS DAS ANÁLISES PARA COLIFORMES TOTAIS E FECAIS NOS QUEIJOS *MOZZARELLA* EMBALADOS COM E SEM ÁGUA (MECA E MESA).

DATA	DESCRIÇÃO	DIA	QUANTIDADE DE MECA	QUANTIDADE DE MESA
08/10/2005	Fabricação dos queijos	1	-	-
12/10/2005	Primeira análise	5	3	3
17/10/2005	Segunda análise	10	3	3
27/10/2005	Terceira análise	20	3	3
31/10/2005	Quarta análise	24	3	3
07/11/2005	Quinta análise	31	3	3
17/11/2005	Sexta análise	41	3	3
30/11/2005	Sétima análise	54	3	3
16/11/2005	Oitava análise	70	3	3
TOTAL	OITO ANÁLISES	70	24	24

Fonte: A AUTORA (2006).

TABELA 4. DATAS DAS ANÁLISES PARA ESTAFILOCOCOS NOS QUEIJOS *MOZZARELLA* EMBALADOS COM E SEM ÁGUA (MECA E MESA).

DATA	DESCRIÇÃO	DIA	QUANTIDADE DE MECA	QUANTIDADE DE MESA
08/10/2005	Fabricação dos queijos	1	-	-
12/10/2005	Primeira análise	5	3	3
17/10/2005	Segunda análise	10	3	3
24/10/2005	Terceira análise	17	3	3
31/10/2005	Quarta análise	24	3	3
07/11/2005	Quinta análise	31	3	3
17/11/2005	Sexta análise	41	3	3
30/11/2005	Sétima análise	54	3	3
TOTAL	SETE ANÁLISES	54	21	21

Fonte: A AUTORA (2006).

Na data de cada análise, 3 unidades de cada formato de queijo foram retiradas aleatoriamente do refrigerador e foram submetidas as análises microbiológicas.

4.4 Preparo das amostras

Realizada em câmara de fluxo laminar, onde houve o procedimento para as etapas descritas abaixo.

4.4.1 Preparo das amostras de MECA

Um algodão embebido em solução de álcool 70% foi passado sobre a região de abertura da embalagem de polietileno. Com uma tesoura estéril foi recortada transversalmente uma das pontas da embalagem. Com a ajuda de um vasilhame, foi desprezada toda a água contida na embalagem, tomando-se o cuidado para que o queijo não tocasse a borda de abertura. Com uma segunda tesoura estéril, foi utilizada para retirar porções de diferentes partes do queijo (unidade analítica da amostra) foram retiradas até pesar 25g (permitidos erros de até 0,05g superior ao valor estabelecido).

4.4.2 Preparo das amostras MESA

Um algodão embebido em solução de álcool 70% foi passado sobre a região de abertura da embalagem de polietileno. Com uma tesoura estéril foi feito o corte de abertura, tomando o cuidado para não tocar na amostra contida no interior da embalagem. Com uma segunda tesoura estéril, porções de diferentes partes do queijo foram retiradas até pesar 25g (permitidos erros de até 0,05g superior ao valor estabelecido).

4.4.3 Pesagem

Realizada com auxílio de balança analítica digital (duas casas decimais), onde para cada amostra pesada, a badeja da balança foi coberta com papel alumínio estéril, efetuando-se a tara na seqüência a pesagem e anotação dos valores em planilha.

4.5 Diluições

Em câmara de fluxo laminar, cada amostra pesada foi transferida para um copo de liquidificador de alumínio estéril onde foi adicionado 225 mL de água peptonada a 0,1% estéril - H₂O_p (Oxoid).

O copo foi acoplado a um motor de liquidificador e o conteúdo sofreu agitação durante 4 segundos.

A mistura foi então derramada em um frasco de vidro estéril, totalizando 6 amostras por data de análise e sendo este primeiro processo a diluição 10⁻¹.

Foi retirado 1,0 ml da diluição 10⁻¹ de cada amostra e adicionado em 1 tubo contendo 9 mL de H₂O_p (Oxoid) para 10⁻².

Foi retirado 1,0 ml da diluição 10⁻² de cada amostra e adicionado em 1 tubo contendo 9 mL de H₂O_p (Oxoid) para 10⁻³ e a partir desta, sucessivas diluições decimais conforme VANDERZANT e SPLITTSTOESSER (1992).

As diluições por análise são demonstradas na Tabela 5, a composição da H₂O_p (Oxoid) é demonstrada no Anexo 2 e a descrição do processo de diluição é melhor observado na Tabela 6 e na Figura 5.

TABELA 5. NÚMERO DE DILUIÇÕES (EM H₂O_p) POR DATA, PARA REALIZAÇÃO DAS ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DOS GRUPOS COLIFORMES E ESTAFILOCOCOS EM QUEIJOS *MOZZARELLA* EMBALADOS COM E SEM ÁGUA (MECA E MESA).

ANÁLISE*	DILUIÇÃO DE MECA EM H ₂ O _p	DILUIÇÃO DE MESA EM H ₂ O _p
Primeira análise	10 ⁻¹ a 10 ⁻⁴	10 ⁻¹ a 10 ⁻⁴
Segunda análise	10 ⁻¹ a 10 ⁻⁴	10 ⁻¹ a 10 ⁻⁶
Terceira análise	10 ⁻¹ a 10 ⁻⁵	10 ⁻¹ a 10 ⁻⁶
Quarta análise	10 ⁻¹ a 10 ⁻⁵	10 ⁻¹ a 10 ⁻⁶
Quinta análise	10 ⁻¹ a 10 ⁻⁵	10 ⁻¹ a 10 ⁻⁶
Sexta análise	10 ⁻¹ a 10 ⁻⁶	10 ⁻¹ a 10 ⁻⁶
Sétima análise	10 ⁻¹ a 10 ⁻⁶	10 ⁻¹ a 10 ⁻⁶
Oitava análise	10 ⁻¹ a 10 ⁻⁴	10 ⁻¹ a 10 ⁻⁶

* Para estafilococos considera-se até a sétima análise microbiológica.

Fonte: A AUTORA (2006).

TABELA 6. PROCESSO DE DILUIÇÃO PARA ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DOS GRUPOS COLIFORMES E ESTAFILOCOCOS EM QUEIJO *MOZZARELLA* EMBALADOS COM E SEM ÁGUA (MECA E MESA).

DILUIÇÃO	DESCRIÇÃO
10^{-1}	225 ml de H_2O_p + 25g de mozzarella
10^{-2}	9 ml de H_2O_p + 1 ml da solução 10^{-1}
10^{-3}	9 ml de H_2O_p + 1 ml da solução 10^{-2}
10^{-4}	9 ml de H_2O_p + 1 ml da solução 10^{-3}
10^{-5}	9 ml de H_2O_p + 1 ml da solução 10^{-4}
10^{-6}	9 ml de H_2O_p + 1 ml da solução 10^{-5}
10^{-7}	9 ml de H_2O_p + 1 ml da solução 10^{-6}

Fonte: A AUTORA (2006).

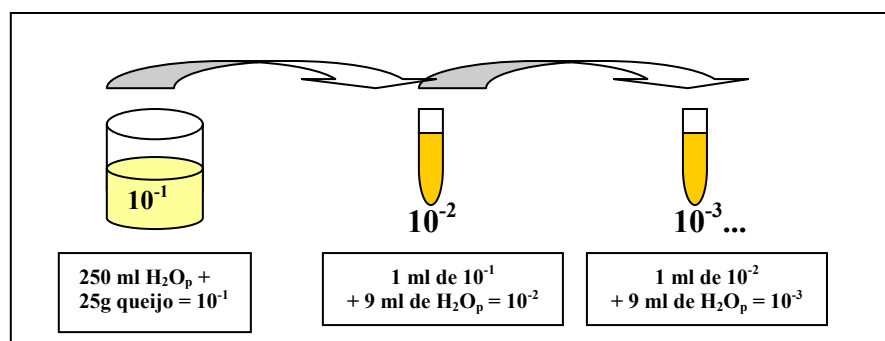


FIGURA 5. PROCEDIMENTO PARA DILUIÇÃO ATÉ 10^{-3} .

Fonte: A AUTORA (2006).

4.6 Teste presuntivo para o grupo coliformes

Com o auxílio de uma pipeta foi inoculada para cada diluição obtida, uma série de 3 tubos de LST (Oxoid) contendo tubos de Durham estéreis.

Foi adicionado 1,0 ml da diluição por tubo, cujo conteúdo era 10,0 mL de LST. Totalizando 3 tubos/diluição, que depois foram incubados em estufa a $35^{\circ}C$ por 48 horas.

Após este período foi verificado se havia crescimento com produção de gás. Em caso positivo, os tubos com produção de gás nos tubos de Durham seguiram para a próxima etapa. Os tubos negativos foram descontaminados em autoclave a $121^{\circ}C$ por 30 minutos (SILVA et al., 1997).

4.7 Contagem de coliformes totais

Para cada um dos tubos LST (Oxoid) com produção de gás transferiu-se uma alçada bem carregada de cada cultura para tubos de Caldo Verde Brilhante Bile – VB (Oxoid) com tubos de Durham estéreis. Estes tubos foram incubados em estufa a 35°C por 24 horas. Após este período foi verificado se havia produção de gás. Em caso positivo, os tubos com produção de gás nos tubos de Durham foram anotados em planilha para determinação do NMP/g, sendo que para os casos negativos foi necessário reincubar por mais 24 horas para novamente verificar a produção de gás nos tubos de Durham. Posteriormente para os tubos positivos, foi determinado o NMP/g através do Quadro 2 (Anexo 3), apropriado para as diluições inoculadas (SILVA et al. 1997).

A aplicação desta técnica pode ser observada na figura 6 e as cepas-padrão utilizadas para testar o meio de cultura VB (Oxoid), estão demonstradas na tabela 17 (Anexo 3).

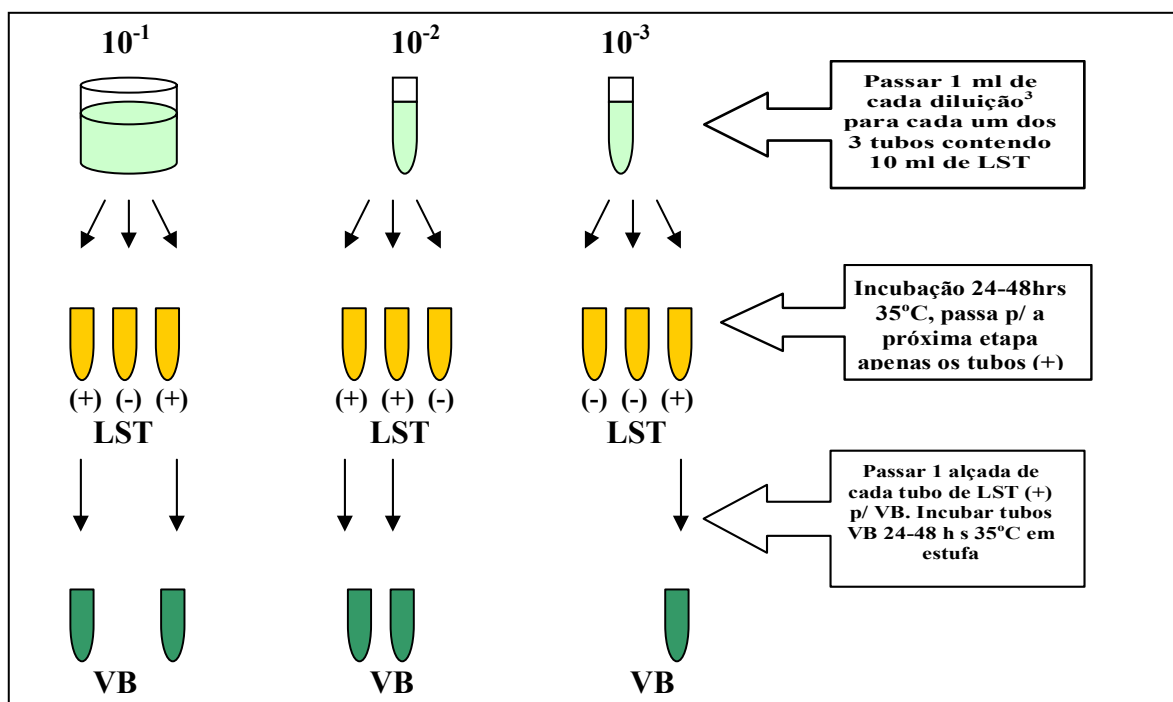


FIGURA 6. EXEMPLO DE PROCEDIMENTO PARA CONTAGEM DE COLIFORMES TOTAIS EM QUEIJO MOZZARELLA EMBALADO COM E SEM ÁGUA*.

*Neste exemplo a combinação de tubos para NMP/g de coliformes totais é de 2-2-1.

Fonte: A AUTORA (2006).

4.8 Contagem de coliformes fecais

Para os tubos LST (Oxoid) com produção de gás foi transferida uma alçada bem carregada de cada cultura para tubos de Caldo *E. coli* – EC (Oxoid). Estes tubos foram incubados em banho-maria a 45°C por 24 horas para verificar a produção de gás. Em caso positivo, foi determinado o Número Mais Provável (NMP)/g através do Quadro 2 (Anexo 3) apropriado para as diluições inoculadas (SILVA et al. 1997). O esquema desta técnica pode ser observado na Figura 7 e as cepas-padrão utilizadas para testar o meio de cultura EC (Oxoid), estão demonstradas na Tabela 17 (Anexo 3).

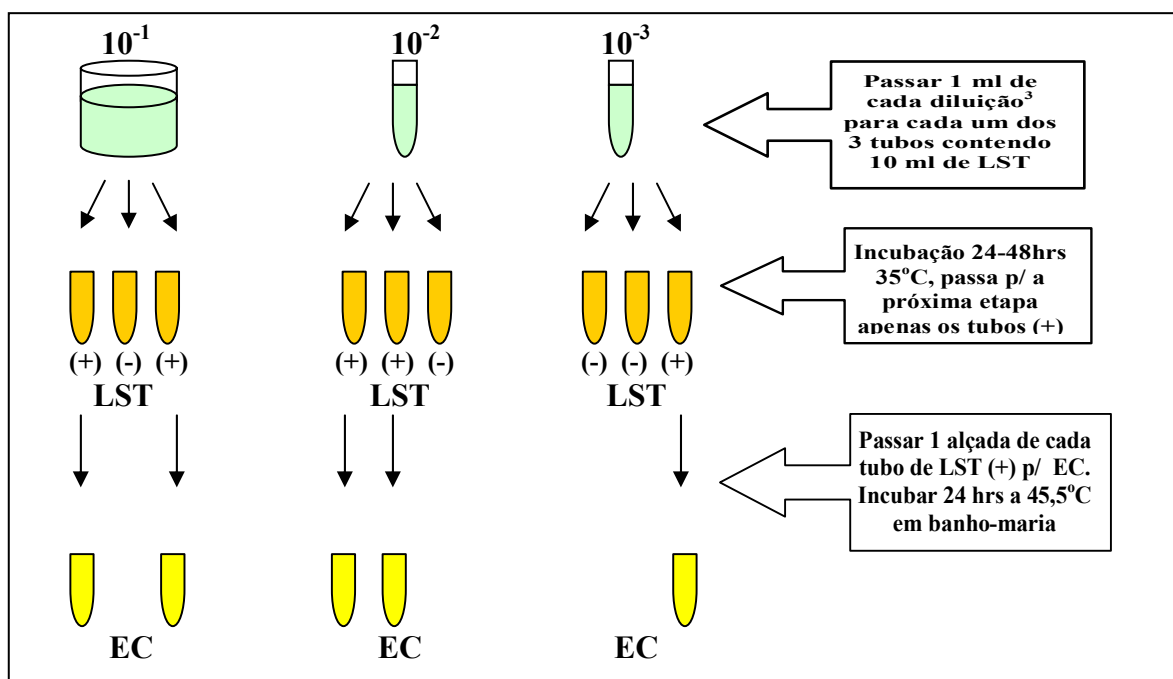


FIGURA 6. EXEMPLO DE PROCEDIMENTO PARA CONTAGEM DE COLIFORMES FECAIS EM QUEIJO MOZZARELLA EMBALADO COM E SEM ÁGUA.

*Neste exemplo a combinação de tubos para NMP/g de coliformes a 45°C é de 2-2-1.

Fonte: A AUTORA (2006).

4.9 Contagem de estafilococos coagulase positiva (SC+) e negativa (SC -) por plaqueamento direto

4.9.1 Inoculação e incubação

Foram inoculadas em 3 placas previamente preparadas e secas, 0,1 ml de cada diluição por amostra em Ágar Baird-Parker – BP (Oxoid) suplementadas com emulsão de gema de ovo a 20% em solução fisiológica e solução de telurito de potássio a 1% em água, conforme recomendação do fabricante. As placas foram espalhadas com alça de Drigalski até completa absorção da maior para as de menor diluição. Estas foram incubadas a $35\pm 1^\circ\text{C}$ por 48 horas.

A aplicação desta técnica pode ser observada na figura 8 e as cepas-padrão utilizadas para testar o meio de cultura BP (Oxoid), estão demonstradas na Tabela 17 (Anexo 3).

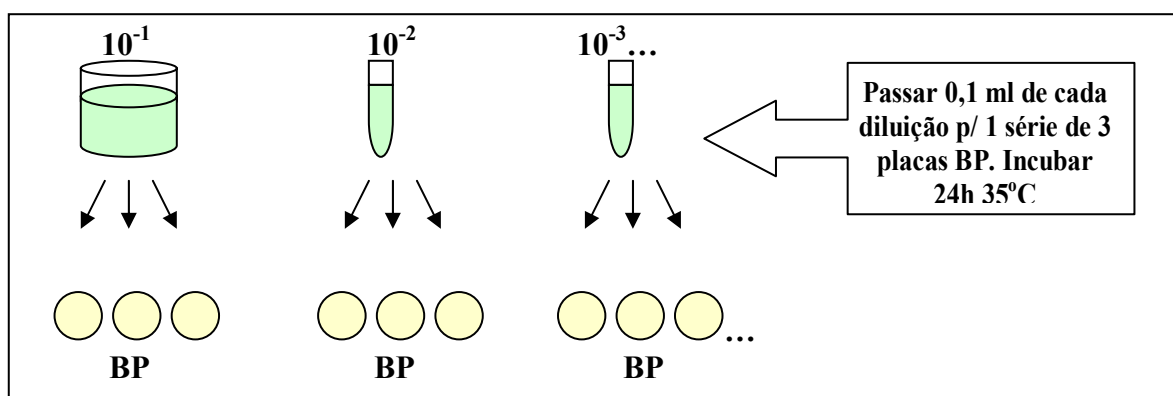


FIGURA 8. EXEMPLO DE PROCEDIMENTO PARA CONTAGEM ESTAFILOCOCOS COAGULASE-POSITIVA E NEGATIVA POR PLAQUEAMENTO DIRETO EM QUEIJO *MOZZARELLA* EMBALADO COM E SEM ÁGUA (MECA E MESA).

Fonte: A AUTORA (2006).

4.9.2 Contagem de colônias presuntivas

Após a incubação as placas foram observadas em microscópio estereoscópico, onde foi realizada a observação do crescimento de colônias típicas e contagem de colônias típicas e atípicas.

Foram consideradas como colônias típicas àquelas que se apresentavam pretas, brilhantes, convexas e com uma borda branca (1 a 1,5 mm de diâmetro após 24 horas e 1,5 a 2,0 mm após 48 horas) apresentando ao seu redor uma zona clara ou parcialmente opaca. Eventualmente foram observadas a presença de placas com colônias atípicas que são cinzentas, sem um ou ambos os halos típicos (ABRAHÃO, 2005).

Os resultados foram expressos em Unidades Formadoras de Colônias por grama (UFC/g).

4.9.3 Teste da coagulase

A confirmação das colônias típicas (estafilococos coagulase positiva) através da análise microbiológica não pôde ser realizada no Laboratório de Microbiologia e Ornitopatologia da UFPR. As placas selecionadas foram encaminhadas num prazo máximo de 24 horas para o Laboratório de Microbiologia de Alimentos e da Água - *Labor Food*, credenciado pelo número 002/2001, sujeito a fiscalização do S.I.P./P.O.A. e que utiliza a mesma metodologia segundo SILVA et al. (1997).

Foram selecionadas cinco colônias típicas, para teste de coagulase, e quando ocorreu a presença de menos de cinco, foram selecionadas todas. Nos casos em que a placa apresentou colônias suspeitas de mais de um tipo, típicas e atípicas, selecionou-se cinco de cada tipo, ou um número proporcional a distribuição dos diferentes tipos na placas. Cada colônia foi transferida para um tubo de Caldo Infusão Cérebro-Coração – BHI (Oxoid) (ABRAHÃO, 2005).

Foi transferido 0,2 ml de cada cultura obtida em BHI (Oxoid), para um tubo de 10x100mm. Foi adicionado aos 0,2 ml de cultura 0,5 ml de Coagulase Plasma - EDTA (plasma de coelho com EDTA) misturando com movimentos de rotação, sem agitar os tubos para não interferir na coagulação. Os tubos foram incubados a 35°C e foi observada a formação de coágulo a cada hora pelo período de 6 horas. Reações positivas de nível 3 ou 4 são consideradas confirmativas da presença de *S. aureus* (ABRAHÃO, 2005).

4.9.4 Cálculo dos resultados

O cálculo do número de UFC/g de estafilococos coagulase positiva foi determinado em função do número de colônias típicas contadas, diluição inoculada e porcentagem de colônias confirmadas na prova de plasm-coagulase (ABRAHÃO, 2005).

O cálculo do número de UFC/g de estafilococos coagulase negativa foi determinado em função do número de colônias atípicas contadas e diluição inoculada.

Os meios de cultura utilizados nas análises microbiológicas estão descritos no anexo 2.

4.10 Análise estatística

Para MECA e MESA foram aplicadas 8 análises para o grupo coliforme e 7 análises para o grupo estafilococos. Sendo assim a análise estatística foi classificada como Fatorial 2 x 8 para coliformes e 2 x 7 para estafilococos. Nas avaliações das análises estatísticas foram utilizados os seguintes programas:

Statistic 6.0: para a obtenção dos resultados estatísticos não paramétricos;

Prism 3.0: para os gráficos de NMP/g de coliformes totais e coliformes a 45°C e UFC/g de estafilococos coagulase negativa.

Excel: para a cálculo e apresentação de tabelas de médias aritméticas e desvios padrões e gráficos de porcentagem.

4.10.1 Análise não-paramétrica

Os métodos não-paramétricos foram desenvolvidos para experimentos que limitam a inferência, por meio de estatística paramétrica ou quando a variável de interesse não é mensurável. Também pode ser aplicado quando o pesquisador desconhece os parâmetros da variável de interesse (ESTATÍSTICA NÃO-PARAMÉTRICA, 1999).

A maior aplicabilidade deste método é quando não há certeza da normalidade entre os dados ou quando se desconhece o tipo de distribuição. Outro fator limitante é o tamanho da amostra, pois amostras pequenas dificultam a aceitação do tipo de distribuição em questão (ESTATÍSTICA NÃO-PARAMÉTRICA, 1999).

4.10.2. Teste de Kolmogorov-Smirnov

Este teste foi introduzido por A. Kolmogorov e N. V. Smirnov, dois matemáticos russos da década de 1930. O objetivo deste teste é decidir se uma amostra aleatória provém de uma população com função de distribuição $f(x)$, ele é uma alternativa para o teste qui-quadrado (ESTATÍSTICA NÃO-PARAMÉTRICA, 1999).

A grande vantagem deste teste sobre o teste qui-quadrado é que ele pode ser aplicado, sem restrições, para pequenas amostras. Além disso, ele trata dos dados individualmente, não perdendo informações devido a agrupamentos, como ocorre no teste qui-quadrado. Na maioria dos casos o teste de Kolmogorov-Smirnov é mais poderoso que o teste qui-quadrado, principalmente no caso de pequenas amostras (ESTATÍSTICA NÃO-PARAMÉTRICA, 1999).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Resultados

As 48 amostras dos 2 formatos do queijo *mozzarella* foram coletadas em um laticínio sujeito a inspeção do S.I.P./ P.O.A.

A Tabela 7 apresenta os resultados de análises microbiológicas das amostras de queijo *mozzarella* em NMP/g para coliformes totais e fecais para os dois formatos (MECA e MESA) de queijo *mozzarella*.

TABELA 7. RESULTADOS EM NMP/g DE COLIFORMES TOTAIS (CT) E FECAIS (CF) PARA 2 FORMATOS (MECA E MESA)* DO QUEIJO *MOZZARELLA*.

ANÁLISE	DIAS DA ANÁLISE	AMOSTRA	CT MECA	CF MECA	CT MESA	CF MESA
1	5	1	23	0	≥ 2400	≥ 2400
		2	≥ 2400	43	≥ 2400	≥ 2400
		3	23	23	≥ 2400	≥ 2400
2	10	1	≥ 2400	9	4600	4600
		2	240	240	≥ 2400	≥ 2400
		3	23	4	≥ 240000	7500
3	20	1	1100	0	1100	460
		2	≥ 240000	0	280	280
		3	≥ 24000	0	460	240
4	24	1	≥ 240000	1100	≥ 24000	≥ 2400
		2	750	0	240	240
		3	1500	0	≥ 2400	≥ 2400
5	31	1	≥ 2400	0	4600	4600
		2	15000	0	240	240
		3	1100	0	750	750
6	41	1	750	0	1100	280
		2	4600	0	1100	750
		3	75	0	1100	2100
7	54	1	≥ 24000	200	≥ 240000	460
		2	≥ 24000	0	11000	≥ 2400
		3	≥ 24000	0	11000	11000
8	70	1	2100	0	240	240
		2	2100	0	75	75
		3	≥ 21000	0	460	460

* MECA: *mozzarella* embalada com água; MESA: *mozzarella* embalada sem água.

Fonte: A AUTORA (2006).

A Tabela 8 apresenta os resultados das médias e desvios padrões (desconsiderando os sinais \geq) de análises microbiológicas para coliformes totais e realizadas em amostras de 2 formatos (MECA e MESA) do queijo *mozzarella*.

TABELA 8. MÉDIAS E DESVIOS PADRÕES DAS ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS (NMP/g) DE COLIFORMES TOTAIS PARA 2 FORMATOS (MECA E MESA)* DO QUEIJO *MOZZARELLA*.

DIAS	MÉDIAS E DESVIOS PADRÕES DE CT (NMP/g) PARA MECA	MÉDIAS E DESVIOS PADRÕES DE CT (NMP/g) PARA MESA
5	815,33 ± 1372,36	2400,00 ± 0,00
10	887,67 ± 1314,21	82333,33 ± 136547,77
20	88366,67 ± 131816,55	613,33 ± 430,97
24	80750,00 ± 137915,06	8880,00 ± 13138,77
31	6166,67 ± 7677,46	1863,33 ± 2383,70
41	1808,33 ± 2441,10	1100,00 ± 0,00
54	72000,00 ± 0,00	87333,33 ± 132213,21
70	7770,00 ± 11496,42	258,33 ± 193,15

* MECA: *mozzarella* embalada com água; MESA: *mozzarella* embalada sem água.
Fonte: A AUTORA (2006).

Os Gráficos 3 e 4 apresentam os resultados das médias e desvios padrões (Tabela 7) em NMP/g de coliformes totais, para 2 formatos (MECA e MESA) do queijo *mozzarella*, no período de 70 dias.

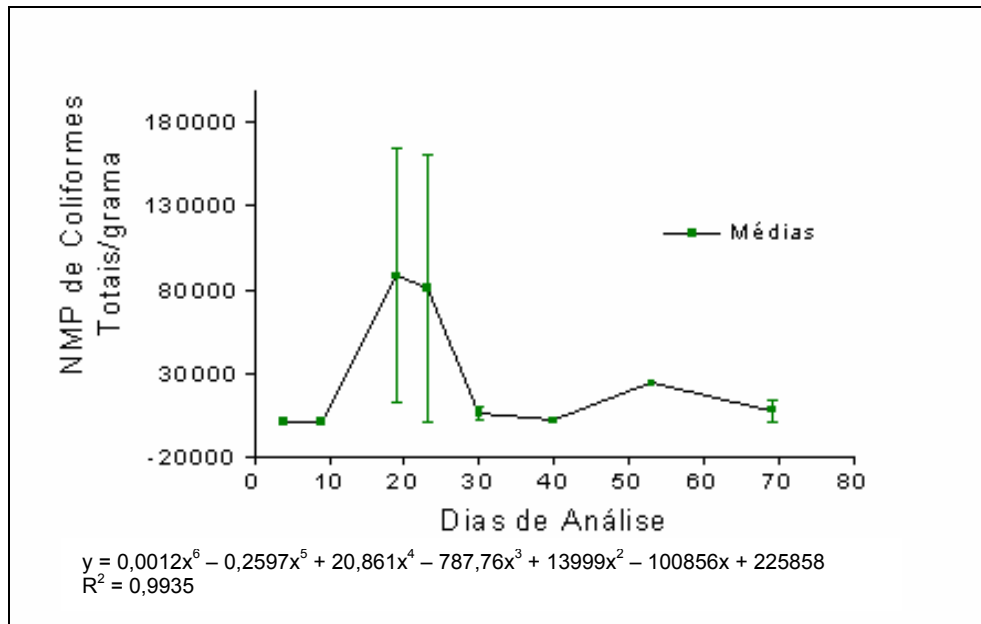


GRAFICO 3. COLIFORMES TOTAIS (NMP/g) EM QUEIJO *MOZZARELLA* EMBALADO COM ÁGUA (MECA) NUM PERÍODO DE 70 DIAS.

Fonte: A AUTORA (2006).

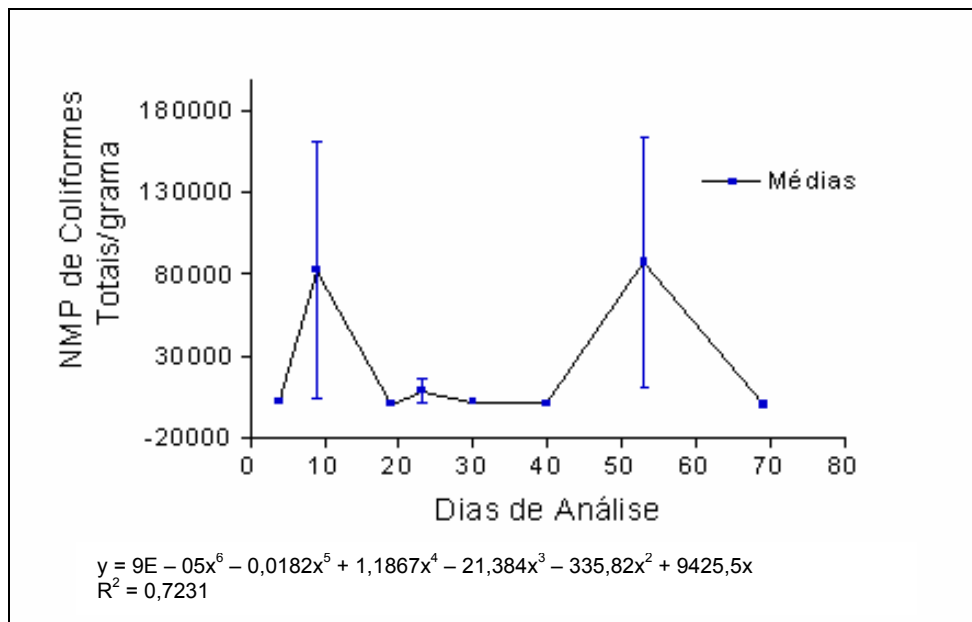


GRAFICO 4. COLIFORMES TOTAIS (NMP/g) EM QUEIJO *MOZZARELLA* EMBALADO SEM ÁGUA (MESA) NUM PERÍODO DE 70 DIAS.

Fonte: A AUTORA (2006).

As Tabelas 9 e 10 apresentam a estatística não-paramétrica das variáveis queijo e tempo, realizadas por meio do Teste de Kolmogorov-Smirnov ($P < 0,05$), para os comportamentos microbiológicos de coliformes totais nos dois formatos (MECA e MESA) do queijo *mozzarella*, num período de 70 dias.

TABELA 9. ANÁLISE NÃO-PARAMÉTRICA DO NMP/g DE COLIFORMES TOTAIS NOS DOIS FORMATOS (MECA E MESA)* DO QUEIJO *MOZZARELLA* PARA A VARIÁVEL QUEIJO, NO PERÍODO DE 70 DIAS ($P < 0,05$).

VARIÁVEL	p-NÍVEL	MÉDIAS E DESVIOS PADRÕES DE CT (NMP/g) PARA MECA	MÉDIAS E DESVIOS PADRÕES DE CT (NMP/g) PARA MESA
COLIFORMES TOTAIS	$P > 0,05$	26320,58 ± 66460,91	23056,46 ± 67028,74

* MECA: *mozzarella* embalada com água; MESA: *mozzarella* embalada sem água.
Fonte: A AUTORA (2006).

TABELA 10. ANÁLISE NÃO-PARAMÉTRICA DO NMP/g DE COLIFORMES TOTAIS NOS DOIS FORMATOS (MECA E MESA)* DO QUEIJO *MOZZARELLA* PARA A VARIÁVEL TEMPO, NO PERÍODO DE 70 DIAS ($P < 0,05$).

VARIÁVEL	p-NÍVEL	MÉDIAS E DESVIOS PADRÕES DE CT (NMP/g) PARA MECA	MÉDIAS E DESVIOS PADRÕES DE CT (NMP/g) PARA MESA
COLIFORMES TOTAIS	$P > 0,05$	41610,50 ± 97205,08	1607,67 ± 1227,48

* MECA: *mozzarella* embalada com água; MESA: *mozzarella* embalada sem água.
Fonte: A AUTORA (2006).

A Tabela 11 apresenta os resultados das médias e desvios padrões (desconsiderando os sinais \geq) de análises microbiológicas para coliformes fecais (a 45°C), realizadas em 2 formatos (MECA e MESA) do queijo *mozzarella*, em relação ao padrão microbiológico vigente (RDC N^o 12 DE 02.01.2001 da ANVISA/MS), num período de 70 dias.

TABELA 11. MÉDIAS E DESVIOS PADRÕES DAS ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS (NMP/g) DE COLIFORMES FECAIS (COLIFORMES A 45°C) PARA 2 FORMATOS (MECA E MESA)* DO QUEIJO MOZZARELLA.

DIAS	MÉDIAS E DESVIOS PADRÕES DE CF (NMP/g) DE MECA	MÉDIAS E DESVIOS PADRÕES DE CF (NMP/g) DE MESA
5	22,00 ± 21,52	2400,00 ± 0,00
10	84,33 ± 134,83	4833,33 ± 2557,99
20	0,00 ± 0,00	326,67 ± 117,19
24	366,67 ± 635,09	1680,00 ± 1247,08
31	0,00 ± 0,00	1863,33 ± 2383,70
41	0,00 ± 0,00	1043,33 ± 944,79
54	66,67 ± 115,47	4620,00 ± 5609,74
70	0,00 ± 0,00	258,33 ± 193,15

* MECA: *mozzarella* embalada com água; MESA: *mozzarella* embalada sem água.
Fonte: A AUTORA (2006).

Os Gráficos 5 e 6 apresentam os resultados das médias e desvios padrões (Tabela 11) em NMP/g, de coliformes fecais (a 45°C), para 2 formatos (MECA e MESA) do queijo *mozzarella*, no período de 70 dias.

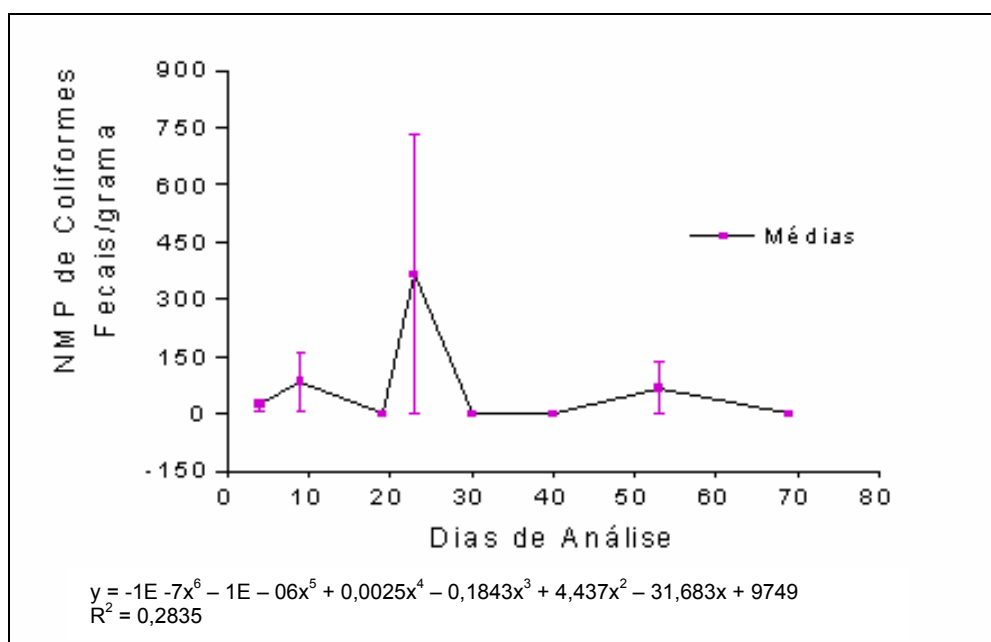


GRÁFICO 5. COLIFORMES FECAIS (COLIFORMES A 45°C) EM NMP/g NO QUEIJO MOZZARELLA EMBALADO COM ÁGUA (MECA) NUM PERÍODO DE 70 DIAS.

Fonte: A AUTORA (2006).

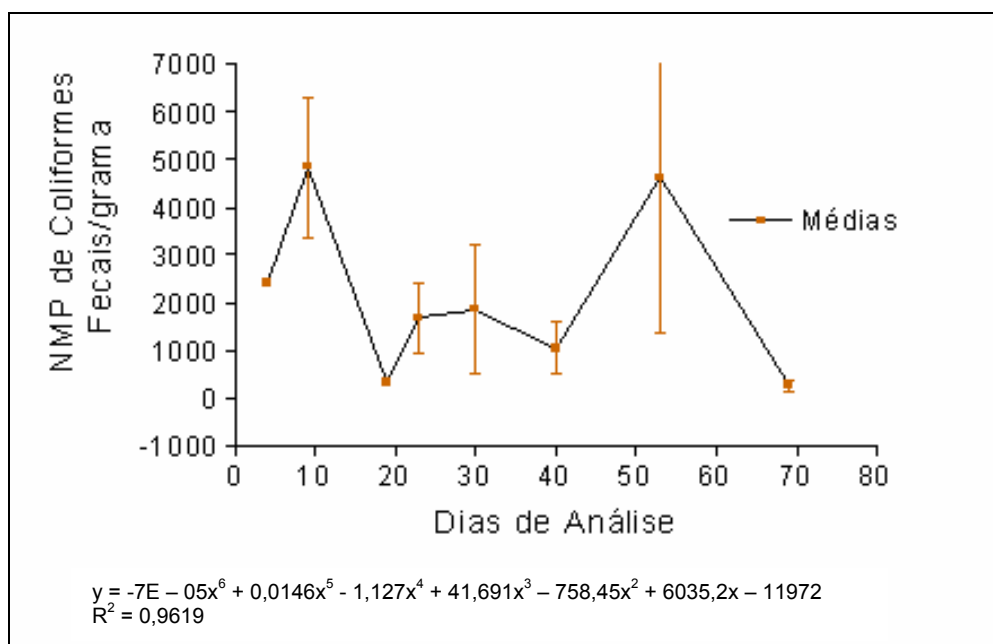


GRAFICO 6. COLIFORMES FECAIS (COLIFORMES A 45°C) EM NMP/g NO QUEIJO *MOZZARELLA* EMBALADO SEM ÁGUA (MESA) NUM PERÍODO DE 70 DIAS.

Fonte: A AUTORA (2006).

As Tabelas 12 e 13 apresentam a estatística não-paramétrica das variáveis queijo e tempo, realizadas por meio do Teste de Kolmogorov-Smirnov ($P < 0,05$), para os comportamentos microbiológicos de coliformes fecais (coliformes a 45°C) nos dois formatos (MECA e MESA) do queijo *mozzarella*, em relação ao padrão microbiológico vigente (RDC N^o 12 DE 02.01.2001 da ANVISA/MS), num período de 70 dias.

TABELA 12. ANÁLISE NÃO-PARAMÉTRICA DO NMP/g DE COLIFORMES FECAIS (COLIFORMES A 45°C) NOS DOIS FORMATOS (MECA E MESA)* DO QUEIJO *MOZZARELLA* PARA A VARIÁVEL QUEIJO, NO PERÍODO DE 70 DIAS ($P < 0,05$).

VARIÁVEL	p-NÍVEL	MÉDIAS E DESVIOS PADRÕES DE CF (NMP/g) PARA MECA	MÉDIAS E DESVIOS PADRÕES DE CF (NMP/g) PARA MESA
COLIFORMES FECAIS	$P < 0,05$	$67,46 \pm 228,50$	$2128,12 \pm 2618,98$

* MECA: *mozzarella* embalada com água; MESA: *mozzarella* embalada sem água.

Fonte: A AUTORA (2006).

TABELA 13. ANÁLISE NÃO-PARAMÉTRICA DO NMP/g DE COLIFORMES FECALIS (COLIFORMES A 45°C) NOS DOIS FORMATOS (MECA E MESA)* DO QUEIJO *MOZZARELLA* PARA A VARIÁVEL TEMPO, NO PERÍODO DE 70 DIAS (P < 0,05).

VARIÁVEL	p-NÍVEL	MÉDIAS E DESVIOS PADRÕES DE CF (NMP/g) PARA MECA	MÉDIAS E DESVIOS PADRÕES DE CF (NMP/g) PARA MESA
COLIFORMES FECALIS	P > 0,05	2458,83 ± 3064,39	1211,00 ± 1302,55

* MECA: *mozzarella* embalada com água; MESA: *mozzarella* embalada sem água.
Fonte: A AUTORA (2006).

Para as contagens de estafilococos coagulase negativa realizadas, os resultados estão na tabela 14, que apresenta os resultados das médias e desvios padrões das análises microbiológicas em UFC/g do queijo *mozzarella* nos 2 formatos (MECA e MESA), num período de 54 dias.

TABELA 14. MÉDIAS E DESVIOS PADRÕES DAS ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS (UFC/g) DE ESTAFILOCOCOS COAGULASE NEGATIVA PARA DOIS FORMATOS (MECA E MESA)* DO QUEIJO *MOZZARELLA*.

DIAS	MÉDIAS E DESVIOS PADRÕES DE MECA	MÉDIAS E DESVIOS PADRÕES DE MESA
5	380,00 ± 541,98	71075,00 ± 41203,83
10	557,78 ± 1380,55	268500,00 ± 151923,41
17	1165,33 ± 1388,95	230111,11 ± 116187,42
24	694,00 ± 994,42	233230,77 ± 110905,48
31	7728,18 ± 16205,02	188705,88 ± 138911,63
41	351,25 ± 753,76	338400,00 ± 501499,15
54	605,45 ± 1176,45	266666,67 ± 169383,31

* MECA: *mozzarella* embalada com água; MESA: *mozzarella* embalada sem água.
Fonte: A AUTORA (2006).

Os Gráficos 7 e 8 apresentam os resultados das médias e desvios padrões (Tabela 11) em UFC/g de estafilococos coagulase negativa, para 2 formatos (MECA e MESA) do queijo *mozzarella*, no período de 54 dias.

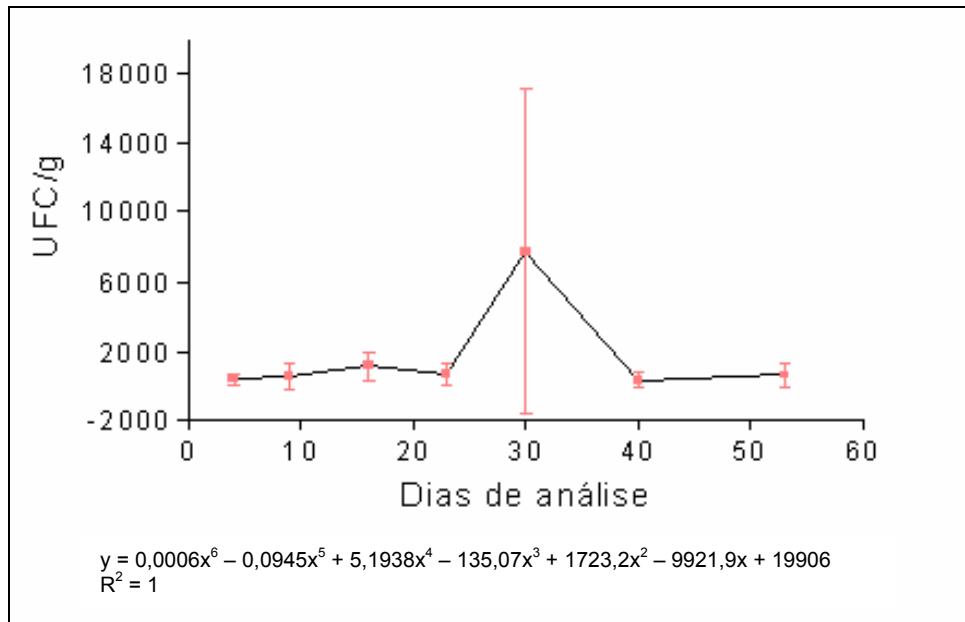


GRAFICO 7. ESTAFILOCOCOS COAGULASE NEGATIVA (UFC/g) EM QUEIJO MOZZARELLA EMBALADO COM ÁGUA (MECA) NUM PERÍODO DE 54 DIAS.

Fonte: A AUTORA (2006).

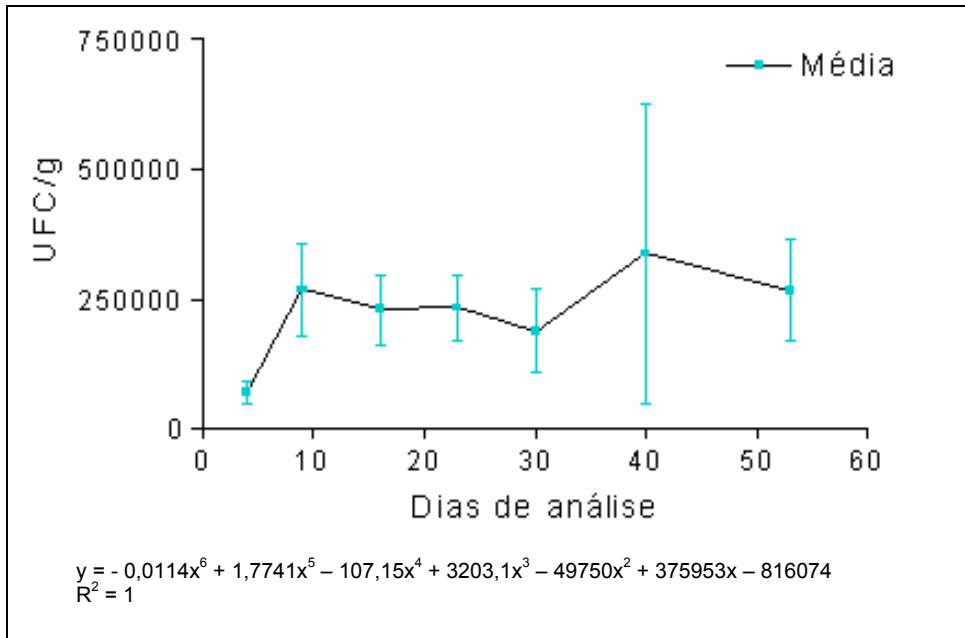


GRAFICO 8. ESTAFILOCOCOS COAGULASE NEGATIVA (UFC/g) EM QUEIJO MOZZARELLA EMBALADO SEM ÁGUA (MESA) NUM PERÍODO DE 54 DIAS.

Fonte: A AUTORA (2006).

As Tabelas 15 e 16 apresentam a estatística não-paramétrica das variáveis queijo e tempo, realizadas por meio do Teste de Kolmogorov-Smirnov ($P < 0,05$), para os comportamentos microbiológicos para estafilocos coagulase-negativa, nos dois formatos (MECA e MESA) do queijo *mozzarella*, num período de 54 dias.

TABELA 15. ANÁLISE NÃO-PARAMÉTRICA DA UFC/g DE ESTAFILOCOCOS COAGULASE NEGATIVA NOS DOIS FORMATOS (MECA E MESA)* DO QUEIJO *MOZZARELLA* PARA A VARIÁVEL QUEIJO, NO PERÍODO DE 54 DIAS ($P < 0,05$).

VARIÁVEL	p-NÍVEL	MÉDIAS E DESVIOS PADRÕES DE ST - (NMP/g) PARA MECA	MÉDIAS E DESVIOS PADRÕES DE ST - (NMP/g) PARA MESA
ESTAFILOCOCOS COAGULASE-NEGATIVA	$P < 0,05$	1625,37 ± 6355,70	241952,20 ± 235484,20

* MECA: *mozzarella* embalada com água; MESA: *mozzarella* embalada sem água.

Fonte: A AUTORA (2006).

TABELA 16. ANÁLISE NÃO-PARAMÉTRICA DA UFC/g DE ESTAFILOCOCOS COAGULASE NEGATIVA NOS DOIS FORMATOS (MECA E MESA)* DO QUEIJO *MOZZARELLA* PARA A VARIÁVEL TEMPO, NO PERÍODO DE 54 DIAS ($P < 0,05$).

VARIÁVEL	p-NÍVEL	MÉDIAS E DESVIOS PADRÕES DE ST - (NMP/g) PARA MECA	MÉDIAS E DESVIOS PADRÕES DE ST - (NMP/g) PARA MESA
ESTAFILOCOCOS COAGULASE NEGATIVA	$P > 0,10$	92936,21 ± 155633,50	18053,75 ± 36596,76

* MECA: *mozzarella* embalada com água; MESA: *mozzarella* embalada sem água.

Fonte: A AUTORA (2006).

O Gráfico 9 apresenta os resultados percentuais médios para as unidades amostrais analisadas individualmente. O Gráfico 10 apresenta os resultados percentuais para as amostras analisadas em triplicata. Ambos para 2 formatos (MECA e MESA) do queijo *mozzarella* e considerando um período de 70 dias para coliformes a 45°C e 54 dias para estafilocos coagulase positiva, de acordo com o padrão microbiológico vigente (RDC N^o 12 de 02.01.2001 da ANVISA/MS).

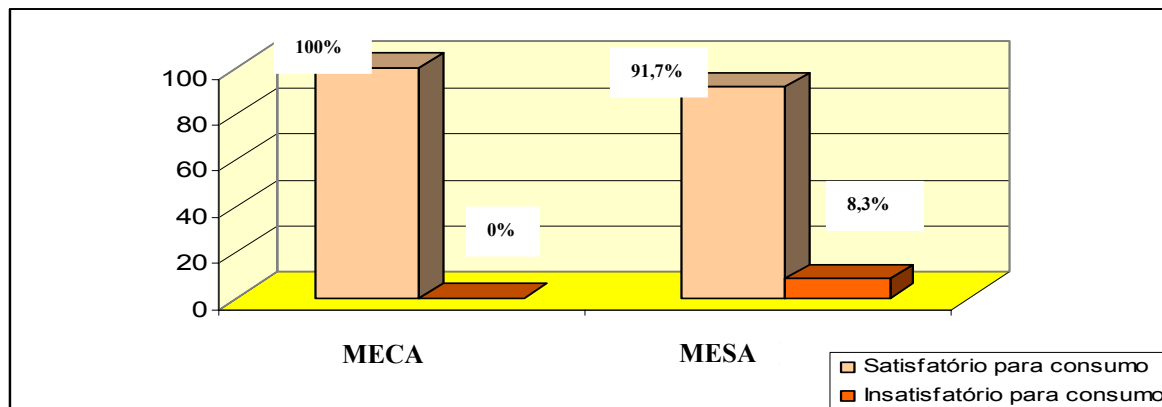


GRÁFICO 9. RESULTADO DO ÍNDICE DE SATISFAÇÃO PARA CONSUMO DE 48 AMOSTRAS ANALISADAS INDIVIDUALMENTE, PARA O QUEIJO *MOZZARELLA* FABRICADO SOB 2 FORMATOS (MECA E MESA)*, DE ACORDO COM ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS REALIZADAS NUM PERÍODO DE 54 DIAS PARA *ESTAFILOCOCCUS COAGULANS* POSITIVA E 70 DIAS PARA COLIFORMES A 45°C.

* MECA: *mozzarella* embalada com água; MESA: *mozzarella* embalada sem água.

Fonte: A AUTORA (2006).

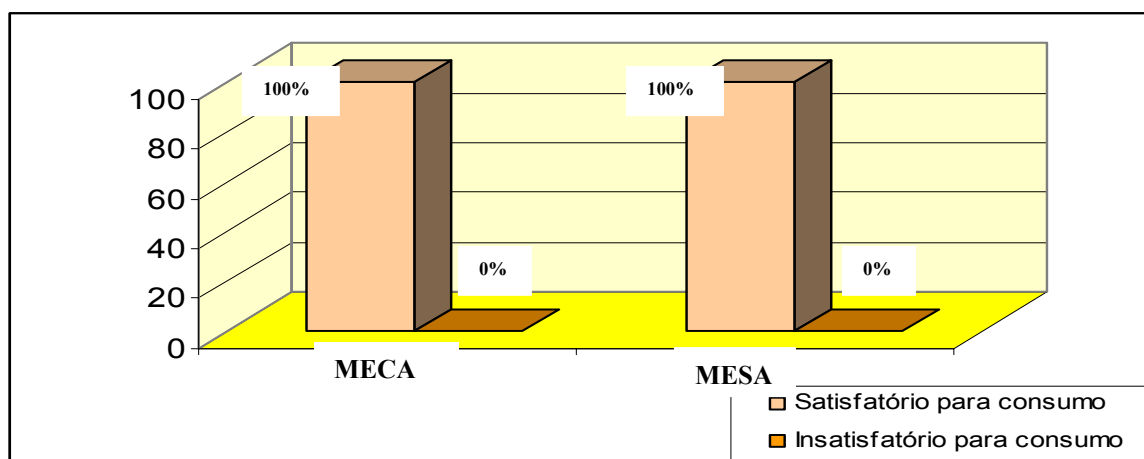


GRÁFICO 10. RESULTADO MÉDIO DO ÍNDICE DE SATISFAÇÃO PARA CONSUMO DE 48 AMOSTRAS ANALISADAS EM TRIPLICATA, PARA O QUEIJO *MOZZARELLA* FABRICADO SOB 2 FORMATOS (MECA E MESA)*, DE ACORDO COM ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS REALIZADAS NUM PERÍODO DE 54 DIAS PARA *ESTAFILOCOCCUS COAGULANS* POSITIVA E 70 DIAS PARA COLIFORMES A 45°C.

* MECA: *mozzarella* embalada com água; MESA: *mozzarella* embalada sem água.

Fonte: A AUTORA (2006).

5.2 Discussão

O nome *mozzarella*, escrito em italiano, foi considerado o mais adequado para ser utilizado neste trabalho, visto que, no Brasil não existe uma diferenciação legalizada entre a *mozzarella* (queijo fabricado com leite bubalino) e a mussarela (queijo fabricado com leite bovino) e também porque ainda não existe uma tradução “oficial” em português. Demais formas de se escrever o mesmo termo foram mantidas entre aspas e de acordo com seu respectivo autor.

A exemplo da *ricotta*, escrita originalmente em italiano com dois **tt** que passou a ser escrita *ricota* em português com apenas um **t**, igualmente o termo *mozzarella*, escrito em italiano com dois **zz** e dois **ll** possa ser escrito em português como *mozarela* com um **z** e um **l**, pois sofre pouca alteração no primeiro fonema citado e praticamente nenhuma alteração no segundo fonema citado.

Apenas o formato MECA pode ser considerado como a “Tradicional *Mozzarella* de Búfala”, por ser produzido de acordo com os padrões italianos segundo MOZZARELLA... (2006), com alterações apenas nos materiais e utensílios utilizados e em contato direto com o queijo, visto que também devem satisfazer as condições de fiscalização do S.I.P./ P.O.A.

O queijo MESA é fabricado com leite integral de búfala e seu formato favorece a venda em grande escala, principalmente para casas comerciais, pela facilidade com que se faz o seu armazenamento, mas não é produzido segundo os padrões italianos descritos em VALLE (1989) e MOZZARELLA... (2006). Sua fabricação e embalagem se assemelham em muito com as do queijo mussarela, fabricado principalmente com leite bovino segundo a metodologia descrita em ANDREATTA (2006).

As etapas do processo de fabricação (no anexo 4) não puderam ser descritas com exatidão para as temperaturas e tempos, por razão de preservar a identidade da receita do fabricante e seu diferencial em relação a outras marcas.

A dificuldade que se têm no armazenamento de MECA, deve-se ao fato de ser um queijo fresco com estrutura de folhas sobrepostas (MOZZARELA..., 2006), portanto, um queijo delicado que é acondicionado geralmente com água (ou salmoura, dependendo do fabricante) e caso sua embalagem seja manipulada diariamente (condição encontrada na maioria das casas comerciais), poderá romper ou mesmo afetar a estrutura do queijo.

Segundo BRASIL (2001), os padrões microbiológicos para o queijo *mozzarella* são descritos no quadro 1 e considerando quatro grupos de bactérias: coliformes a 45^oC, estafilocos coagulase positiva, *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*.

Considerando os objetivos estabelecidos nos experimento e os resultados encontrados LEITE et al. (2002), CARVALHO (2003), OLIVIERI (2004), ABRAHÃO (2005), OLIVEIRA (2005), que realizaram análises microbiológicas para *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. em suas pesquisas, obtendo valores nulos ou poucos casos em que foram confirmadas as presenças destes microrganismos e por não ser esta uma pesquisa cujo objetivo principal seja aprovar ou reprovar um produto de prateleira, houve a decisão de não realizar análises microbiológicas para *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*, muito embora deva ser dada grande importância a estes dois grupos de bactérias, devido aos riscos causados a saúde humana.

Apesar de não haver na legislação padrão microbiológico para coliformes totais no queijo *mozzarella*, é importante observar como estes microrganismos se comportaram em relação ao NMP/g nas amostras utilizadas no experimento.

Em MECA observa-se aumento do número de coliformes totais entre o 20^o e o 24^o dias e novamente um aumento no 54^o dia. Em MESA os maiores picos acontecem no 10^o e 54^o dias (Gráficos 3 e 4).

Considerando as médias, os elevados desvios padrões (tabela 8) e os resultados das tabelas 9 e 10 (que verificaram se o NMP/g de coliformes totais em relação as variáveis queijo e tempo era significativo); observa-se que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) para as variáveis queijo (tabela 9) e tempo (tabela 10) em relação ao número de coliformes totais.

Para as 48 amostras dos queijos *mozzarella* utilizadas no experimento e mantidas sobre refrigeração entre 1 a 3°C, não há diferença significativa ($p > 0,05$) no NMP/g de coliformes totais entre os dois formatos (MECA E MESA) do queijo *mozzarella* utilizado no experimento. (tabela 9) e isto persiste em todos os dias de análise ($P > 0,05$; Tabela 10).

Segundo HAJDENWURCEL (1998) e SILVA et al. (1997) os coliformes totais pertencem a um grupo de bactérias que podem ter ou não origem fecal.

Apesar do excelente ajuste da linha de tendência em MECA ($R^2 = 0,9935$) e MESA ($R^2 = 0,7231$) não deve-se considerar seu grau de confiabilidade, pois a polinomial de razão 6, sugere valores abaixo de zero para ambos, o que seria impossível para este grupo de microrganismos.

Conforme BRASIL (2001), para coliformes a 45°C, a RDC N° 12 de 02.01.2001 da ANVISA/MS, estabelece que o número de microrganismos tolerado é 5×10^3 .

Considerando o prazo de validade do fabricante de 30 dias, apenas 1 amostra em MESA, no 10° dia, apresentou resultado fora do tolerado, o que reprovava a unidade amostral (Tabela 7), contudo, efetuando-se a média aritmética das amostras analisadas na data em questão, o lote estaria dentro dos padrões estabelecidos. Também uma segunda amostra de MESA (fora do prazo de validade), no 54° dia, estava fora dos padrões estabelecidos (tabela 7), o que também reprovava apenas a unidade amostral, ainda sim, efetuando-se a média aritmética das amostras na data, o lote seria considerado dentro dos padrões estabelecidos.

Observa-se a aumento do número de coliformes a 45°C entre o 10°, 24° e 54° dias para MECA e no 10°, entre 24 e 31° dias e no 54° dia para MESA.

Considerando as médias, os altos desvios padrões da tabela 11 e os resultados calculados nas tabelas 12 e 13 (que verificaram se o NMP/g de coliformes a 45°C nas amostras analisadas do queijo *mozzarella* em relação as variáveis queijo e tempo era significativo); observa-se que houve diferença significativa ($P < 0,05$) para a variável queijo e não houve diferença significativa ($P > 0,05$) para a variável tempo.

Para as 48 amostras dos queijos *mozzarella* utilizadas no experimento e mantidas sobre refrigeração entre 1 e 3°C, existe diferença significativa ($P < 0,05$) no NMP/g de coliformes fecais (coliformes a 45°C) entre os dois formatos (MECA e MESA) do queijo *mozzarella* utilizados no experimento (Tabela 12) e que esta diferença permanece significativa em todos os dias de análise ($P > 0,05$; Tabela 13).

Os resultados sugerem maior contaminação por coliformes a 45°C nas amostras MESA (Tabelas 7, 11 e 12).

Além da baixa confiabilidade ($R^2 = 0,2835$) para o ajuste da curva polinomial de razão 6 aos dados em MECA, esta sugere valores calculados abaixo de zero entre o 31º e o 54º dias aproximadamente, o que seria impossível para este coliformes a 45°C (Gráfico 5).

Para as análises realizadas, não foi detectada a presença visual de estafilococos coagulase positiva nas 48 amostras. Também não foi detectada a presença destes microrganismos através do teste da coagulase realizada em laboratório. Desta forma, 100% das amostras foram consideradas satisfatórias para consumo, em relação ao padrão microbiológico vigente (RDC N° 12 DE 02.01.2001 da ANVISA/MS) durante e após o prazo de validade de 30 dias (período de 54 dias).

Na análise dos resultados de estafilococos coagulase negativa (Gráficos 7, 8; Tabelas 14, 15 e 16). Observa-se que de acordo com os resultados das Tabelas 14 e 15, existe diferença significativa ($P < 0,05$) em estafilococos coagulase negativa para a variável queijo e não houve diferença significativa ($P > 0,05$) para a variável tempo.

Para as 48 amostras dos queijos *mozzarella* utilizadas no experimento e mantidas sobre refrigeração entre 1 e 3°C, existe diferença significativa ($P < 0,05$) no UFC/g de estafilococos coagulase negativa entre os dois formatos (MECA e MESA) do queijo *mozzarella* utilizados no experimento ($P < 0,05$; Tabela 14) e que esta diferença permanece significativa em todos os dias de análise ($P > 0,05$; Tabela 15).

Das amostras de MECA, 24 (100%) foram consideradas próprias para consumo nos períodos que antecedem e sucedem o prazo de validade de 30 dias (70 dias para coliformes a 45°C e 54 dias para estafilococos coagulase negativa). Em MESA, 22 (aproximadamente 91,7%) foram consideradas satisfatórias para consumo no mesmo período e apenas 2 (aproximadamente 8,3%) foram consideradas insatisfatórias para consumo, sendo 1 no período que antecede e outra no período que sucede o prazo de validade de 30 dias (Gráfico 9).

Considerando os resultados percentuais para as amostras analisadas em triplicata, ambos os formatos (MECA e MESA) do queijo mozzarella foram considerados próprios para consumo em 100% nos períodos que antecedem e sucedem o prazo de validade, de acordo com o padrão microbiológico vigente - RDC N^o 12 de 02.01.2001 da ANVISA/MS (70 dias para coliformes a 45°C e 54 dias para estafilococos coagulase positiva – Gráfico 10).

A Figura 9 apresenta as diferenças visuais dos resultados do número de UFC/g de estafilococos coagulase negativa, obtidas na segunda análise (dia 17 de outubro de 2005).

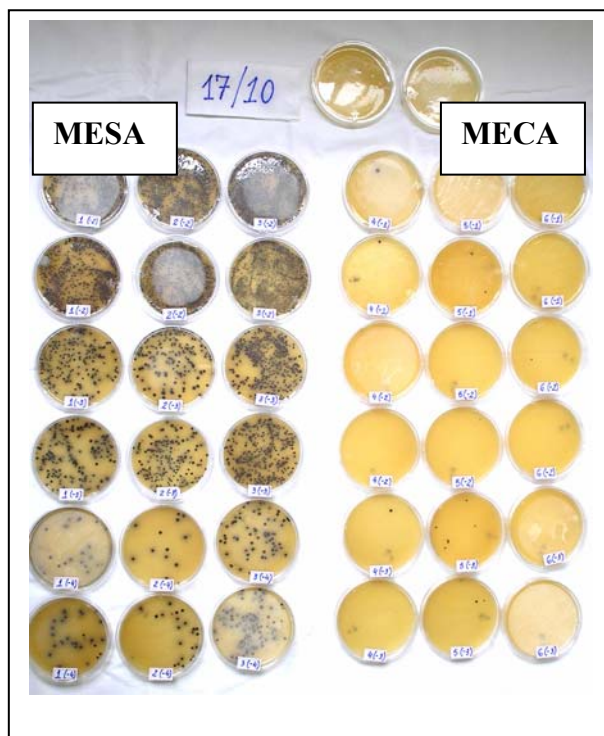


FIGURA 9. COLÔNIAS DE ESTAFILOCOCOS COAGULASE NEGATIVA EM 2 FORMATOS (MECA e MESA) DE QUEIJO MOZZARELLA.

Fonte: A AUTORA (2006).

De acordo com suas características seletivas, o gênero *Staphylococcus* possui como habilidade a capacidade de crescer na presença de cloreto de sódio (SILVA et al., 1997), além disso, são inativados rapidamente pelo calor, mas são resistentes a secagem (HURST e HUGHES, 1983), o que poderia justificar o menor número de UFC/g para estes microrganismos em MECA, pois de acordo com o processamento descrito no Anexo 4, MECA não recebe adição de cloreto de sódio, diferente de MESA que recebe e é estocado sem água.

Outro fator importante é a temperatura de manutenção, durante a fabricação de MECA e MESA, diferentes temperaturas foram aplicadas de acordo com as etapas. Durante a experimentação a temperatura de manutenção oscilou entre 1 e 3°C. Também a “*mozzatura*”, este processo de filagem artesanal e molde dos queijos, permite que MECA torne-se um produto mais aerado que MESA (Anexo 4).

Segundo BARBOSA e TORRES (1998) a presença de oxigênio é um dos fatores que interfere na absorção de nutrientes e no metabolismo celular. Para HAJDENWURCEL (1998) faz parte do grupo coliformes as bactérias anaeróbicas facultativas capazes de fermentar lactose com produção de ácido e gás a 32 a 35°C dentro de 48 horas. Segundo ICMSF (1998) para o grupo de coliformes fecais, cuja temperatura ótima é entre 44 a 46°C, com produção de gás em 24 horas. Os estafilococos são bactérias mesófilas apresentando temperatura para crescimento entre 7 e 48°C, sendo 37°C a temperatura ótima, para produção de toxina é entre 10 e 48°C, sendo 40 a 45°C a faixa ótima.

O maior número de coliformes fecais e também de estafilococos coagulase negativa de MESA em relação a MECA, pode ser justificado também pela maior temperatura de filatura aplicada em MECA (Anexo 4), sendo que, segundo FURTADO (1994) e DEL PRADO (1998), esta etapa não substitui a pasteurização e que as bactérias *Escherichia coli* podem sobreviver a este processo.

Segundo TEIXEIRA et al. (2005) a contagem inicial de células somáticas também interfere no processamento do queijo, e pode ser um bom indicativo da qualidade do leite. Por isso recomenda-se que a contagem total de bactérias no leite destinado à fabricação de *mozzarella* deve estar entre $5,0 \times 10^3$ a $5,0 \times 10^5$ UFC/ml. Também TERRAMOCHIA (2001) verificou que a presença de até $2,0 \times 10^5$ células somáticas/ml no leite de búfala não interfere no processo de coagulação, e leites com mais de $4,0 \times 10^5$ células somáticas/ml não coagulam bem.

Segundo AMARAL et al. (2005) como a CCS do leite de búfalas apresentam valores diminutos quando comparados com o leite de bovinos, sendo uma peculiaridade do leite desta espécie, os padrões hoje utilizados para avaliar a qualidade do leite, baseado na CCS do leite de vacas, não podem ser aplicados ao leite bubalino.

Para TEIXEIRA et al., 2005 esta alta CCS pode estar relacionada com o hábito que os búfalos possuem de se chafurdar na água para conseguir regular a sua temperatura com o ambiente e dificultando a higiene do úbere.

Considerando “zero” a data de fabricação de um produto, neste experimento as análises foram realizadas nos dias 4, 9, 19, 23, 30, 40, 53 e 69 para coliformes fecais e 4, 9, 16, 23, 30, 40 e 53 para estafilococos coagulase negativa. SIVIERI e OLIVEIRA (2002) avaliaram suas amostras nas datas 0, 7, 14, 21 e 28 e ZACARCHENCO e MASSAGUER-ROIG (2004) avaliaram suas amostras nos dias 1, 7, 14 e 21.

O intervalo entre as análises microbiológicas não interferiu na análise de regressão, visto que os programas utilizados consideram a diferença entre os períodos, porém, a oscilação no NMP/g para o grupo coliformes (CT e CF) e UFC/g para estafilococos coagulase negativa, o que não elimina a possibilidade de haver oscilações destes números nas datas não analisadas.

Apesar da baixa temperatura favorecer na maioria das vezes a qualidade do leite, esta prática se realizada de forma não controlada pode trazer prejuízos, a exemplo de FURTADO (1999) que introduziu o armazenamento refrigerado no leite cru antes do seu processamento e relatou que a prática sanou problemas de alterações do sabor e desenvolvimento de acidez neste produto, devido a ação de bactérias mesofílicas, mas trouxe a tona outro problema: a seleção de microrganismos psicotróficos.

Também LORENZETTI (2006) relata que na indústria de laticínios, grandes volumes de leite ficam armazenados em temperatura de refrigeração entre 1 e 6°C por longos períodos e as bactérias psicotróficas encontram condições ótimas para o seu desenvolvimento, podendo provocar mudanças indesejáveis no leite e nos seus derivados.

Nas condições de armazenamento e temperatura as quais foram submetidas as amostras deste experimento e de acordo com a legislação BRASIL (2001), descrita no item 3.7, estas amostras poderiam ser consumidas mesmo no período que sucede o prazo de validade, porém, de acordo com sendo a *mozzarella* um queijo de massa fresca, como destacado por MOZZARELLA... (2006) como sua característica principal no item 3.4.1, sem que haja adição de aditivos específicos, o aumento da vida de prateleira afetaria suas características sensoriais de maneira negativa ao longo do período.

Segundo PINTO (1996) outros grupos que agem nos alimentos além das bactérias são os bolores, as leveduras, os protozoários e vírus.

Como as leveduras têm preferência por pH mais ácido e os bolores podem se desenvolver em pH variando de 4,0 a 8,0 (MORENO et al., 2002). Sabendo-se que na utilização do alimento as bactérias convertem lactato a ácido lático, o que diminui o pH do meio.

Também pelo fato de nos trabalhos realizados por ELLIS (1996); SIVIERI e OLIVEIRA (2002) e ZACARCHENCO e MASSAGUER-ROIG (2004) em que houve a medição do pH como parâmetro para avaliação da vida de prateleira dos produtos; e levando-se em consideração o exposto no item 8 deste trabalho, a respeito da observação de bolores e leveduras a partir do 54^o dia; as alterações provenientes do desenvolvimento de leveduras devido a sua presença física tornam MECA e MECA como produto inaceitável (mesmo dentro dos padrões microbiológicos vigentes) por alterações no aspecto visual e pela presença de aromas peculiares e anormais no produto (MORENO et al., 2002).

Também a temperatura utilizada no armazenamento e transporte podem interferir no desenvolvimento dos microrganismos. A temperatura de armazenamento deste experimento foi entre 1 e 3°C. SIVIERI e OLIVEIRA (2002) avaliaram suas amostras com temperatura de armazenamento igual a 5°C e ZACARCHENCO e MASSAGUER-ROIG (2004) avaliaram suas amostras com temperatura de estocagem igual a 4°C.

A legislação recomenda para conservação e comercialização uma temperatura não superior a 10⁰C (BRASIL, 1997c) e de acordo com a portaria nº 364, de 04 de setembro de 1997, para o acondicionamento do Queijo *Mozzarella*, *Muzzarella* ou *Mussarela*, a conservação e comercialização a temperatura não deverá ultrapassar 12⁰C e, no caso de conteúdos de umidade compreendidos entre 55 e 60% m/m, a mesma não excederá aos 8⁰C.

Os resultados obtidos em INMETRO... (1997), INMETRO... (1999) e MACÊDO et al. (2000) sugerem que as condições reais as quais estão submetidos estes produtos de prateleira estão muito aquém do esperado, expressando-se pela redução na vida de prateleira e pela presença de sabores indesejáveis.

Há de se considerar também a competição existente entre microrganismos de diferentes grupos. O crescimento do número de um determinado grupo pode delimitar o desenvolvimento de outro grupo e vice-versa. Tal fato poderia justificar a oscilação do número de bactérias dos grupos coliformes e estafilococos ao longo do tempo (Gráficos 3, 4, 5, 6, 7 e 8) e sua competição com outros microrganismos, o que também não elimina a possibilidade de outros fatores como a temperatura e o pH estarem agindo nestas oscilações e haver incremento ou decréscimo do número de microrganismos nas datas não analisadas.

6 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos pode-se concluir que:- o lote contendo 48 amostras analisadas em triplicata com 2 formatos (MECA e MESA) do queijo *mozzarella* estava em conformidade com os padrões vigentes pela legislação (RDC N^o 12 de 02.01.2001 da ANVISA/MS) de acordo com os valores médios calculados para todas as datas de análise.

Para os dois formatos (MECA e MESA) de queijo *mozzarella*, foi verificado através de análises microbiológicas padronizadas:

1. Para coliformes totais não houve diferença significativa ($P > 0,05$) para as variáveis queijo e tempo em relação ao NMP/g.

2. Para coliformes fecais houve diferença significativa ($P < 0,05$) para a variável queijo e não houve diferença significativa ($P > 0,05$) para a variável tempo, em relação ao NMP/g.

3. Não foi encontrado nas análises visuais e microbiológicas resultado confirmativo para estafilococos coagulase positiva.

4. Para estafilococos coagulase negativa houve diferença significativa ($P < 0,05$) para a variável queijo e não houve diferença significativa ($P > 0,05$) para a variável tempo.

5. Pode-se considerar que 100% das amostras estavam satisfatórias para consumo no período que antecede e sucede o prazo de validade de 30 dias, efetuando-se a média aritmética para as análises realizadas em triplicata e de acordo com a RDC N^o 12 de 02.01.2001 da ANVISA/MS.

7. Houve acréscimo e decréscimo no NMP/g para coliformes totais e fecais (coliformes a 45^oC) e UFC/g de estafilococos coagulase negativa em quase todas as datas de análise, que não seguiram um padrão constante, porém, mesmo havendo oscilação entre os valores médios e desvios padrões das amostras analisadas em triplicata, estas permaneceram dentro dos padrões microbiológicos estabelecidos pela RDC N^o 12 de 02.01.2001 da ANVISA/MS, para as datas de análise e no período que antecede e sucede o prazo de validade de 30 dias.

8. Após o 54^o dia as amostras foram consideradas inadequadas para consumo, devido ao aparecimento visual de bolores e/ou leveduras (descrito no item 8) e alterações no aroma.

7 PERSPECTIVAS FUTURAS

Durante a realização do experimento, foi levantada a hipótese de que a água da embalagem poderia estar contribuindo de alguma forma para menores valores de UFC/g. Por essa razão, no 43^o dia de experimentação foi preparada uma placa com meio de cultura onde foram semeadas culturas de SC+ e SC - (das cepas-padrão e as cultivadas no experimento) em cada metade da placa.

Em seguida 2 pedaços de papel filtro foram embebidos na água de MECA e colocados em cada cultura semeadas. Após um período de incubação de 24 horas a 35^oC, foram avaliados os resultados.

O meio contendo SC- repeliu os microrganismos em presença do papel filtro com água de MECA.

Foi observado um halo transparente seguido por uma região de cor avermelhada ao redor do papel filtro, num meio que se apresentava opaco anteriormente.

A mesma situação não foi detectada no meio contendo SC+. Na presença do papel filtro, o meio não sofreu alterações visíveis.

No 44^o dia, 6 amostras foram enviadas ao laboratório Labor Food, sujeito a fiscalização do S.I.P./ P.O.A., que relatou pH de 6,2 para todas as amostras.

Da mesma forma que a água pode ser um veículo de contaminação segundo os relatos de AMARAL et al. (2004) e ASSUMPÇÃO et al (2003), a mesma, dependendo da procedência, poderá auxiliar no controle dos microrganismos.

Foi observado aparecimento visual de bolores e/ou leveduras de coloração rosa a partir do 54^o dia nas embalagens de MECA e superficialmente em MESA.

Segundo MORENO et al. (2002), as alterações provenientes do desenvolvimento de leveduras manifestam-se de duas formas: uma puramente estética devido a sua presença física com a formação de películas e a outra resultante do seu metabolismo com aumento do pH, aromas peculiares e anormais no produto, etc.

Os bolores tornam o alimento inaceitável para o consumo quando ficam visíveis, devido ao crescimento do micélio constituído por uma massa de hifas que pode apresentar diferentes aspectos: seco, pulverulento, úmido, gelatinoso, compacto ou não, aparência cotonosa, incolor ou colorido com tonalidades de vermelho, amarelo, castanho, verde, cinza ou preto (MORENO et al., 2002).

Para se obter dados mais conclusivos a respeito deste assunto, haveria a necessidade da realização de análises da água e também sobre bolores e leveduras.

8 REFERÊNCIAS

ABRAHÃO, P. R. da S. **Ocorrência de *Listeria monocytogenes* e de outros microrganismos em gelados comestíveis fabricados e comercializados na região metropolitana de Curitiba, Paraná.** Curitiba, PR, 2005. 123 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia, Parasitologia e Patologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná).

AMARAL, L. A. do; ROMANO, A. P. M.; NADER FILHO, A.; ROSSI JÚNIOR, O. D. Qualidade da água em Propriedades Leiteiras Como Fator de Risco à Qualidade do Leite e a Saúde da Glândula Mamária. 2004. **Arq. Inst. Biol.**, Jaboticabal, SP, v. 71, n. 4, p. 417-421, out./dez., 2004

AMARAL, F. R. **Fatores que interferem na contagem de células somáticas e constituintes do leite de búfalas.** Belo Horizonte, MG, 2005. 46 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva), Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais.

AMARAL, F. R.; et al. Qualidade do leite de búfalas: composição. **Rev Bras Reprod Anim**, Belo Horizonte, MG, v. 29, n. 2, p.106-1010, abril/jun. 2005. Disponível em www.cbra.org.br.

AMARAL, F. R.; ESCRIVÃO, S. C. Aspectos Relacionados à Búfala Leiteira. **Rev Bras Reprod Anim**, Belo Horizonte, MG, v. 29, n. 2, p. 11–117, abril/jun. 2005. Disponível <http://www.cbra.org.br>

ANDREATTA, E **Avaliação da Qualidade de Queijos Minas Frescal e Tipo Mussarela Produzidos com Leite Contendo Diferentes Níveis de Células Somáticas.** Pirassununga, SP, 2006. 110 f. Tese (Doutorado em Qualidade e Produtividade Animal), Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

B.CEPPA, Curitiba, v. 20, n. 2, jul./dez. 2002 352

AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Staphylococcus aureus In Foods.* In: HELRICH, K. (Ed.). **Official methods of analysis of AOAC International.** 15th ed. Arlington, VA, 1990.

ARAÚJO, W. N.; SILVA, M. H. ; MARTINEZ, T.C.N. ; BANAS, S.L.B. ; SILVEIRA, V. F Determinação do número de bolores e leveduras no queijo Minas comercializado na Região metropolitana de Salvador – Bahia. **Ver. Bras. Saúde Prod. An.**, v. 2, n. 1, p. 10-14, 2001. Disponível em <http://www.rbspa.ufba.br>.

ASSUMPCAO, E. G.; PICCOLI-VALLE, R. H.; HIRSCH, D.; ABREU, L. R. Fontes de Contaminação por *Staphylococcus aureus* na Linha de Processamento de Queijo Prato. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, vol. 55, n. 3, p. 366-370, jun. 2003, Disponível em <http://www.scielo.br>.

BARBOSA, H. R.; TORRES, B. B. Nutrição. *In*: BARBOSA, H. R.; TORRES, B. B. ed. **Microbiologia Básica**. São Paulo: Atheneu, 1998. p. 89-101.

BASTIANETTO, E.; ESCRIVÃO, S. C.; OLIVEIRA, D. A. A. de. Influência das características reprodutivas da búfala na produção, composição e qualidade do leite. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, Belo Horizonte, MG, v. 29, n. 1, p. 49-52, jan./mar. 2005. Disponível em www.cbra.org.br.

BENEVIDES, C. M. de J. Leite de búfala – Qualidades Tecnológicas. **Rev. Higiene Alimentar**. n. 54, março. 1998. Disponível em <http://www.bichoonline.com.br>.

BIBLIOTECA. **Biblioteca Digital da UNESP**. Disponível em: <http://www.biblioteca.unesp.br/bibliotecadigital/document/?view=1935>, Acesso em 10 agosto de 2006.

BRASIL, Ministério da Saúde. Decreto n. 30691/ANVISA/DIPOA de 29 de março de 1952. Regulamento da Inspeção Industrial a sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), Aprova o novo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal, Título VIII, Inspeção Industrial e Sanitária do Leite e Derivados, Capítulo I: Leite em natureza, artigo 476(3), Disponível em: <http://www.mp.rn.gov.br/legislacao/federal/DECRETO30691-1952.pdf>

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n. 451/ANVISA de 19 de setembro de 1997a. Aprova o **Regulamento Técnico Princípios Gerais para o Estabelecimento de Critérios e Padrões Microbiológicos para Alimentos e seus Anexos I, II e III**. Revogado por: Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Disponível em <http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php>

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Portaria n. 366, de 04 de setembro de 1997b. Aprova o **Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Massa para elaborar Queijo Mozzarella (Muzzarella ou Mussarella)**. Disponível em http://www.agais.com/normas/leite/queijo_mussarela_massa.htm.

BRASIL, Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Portaria n. 364 de 04 de setembro de 1997c. Aprova o **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijo Mozzarella (Muzzarella ou Mussarella)**. Disponível em http://www.agais.com/normas/leite/queijo_mussarela.htm.

BRASIL, Ministério da Saúde. Resolução RDC n. 12/ ANVISA de 02 de janeiro de 2001. Aprova o **Regulamento Técnico Sobre Padrões Microbiológicos Para Alimentos**. Revoga a Portaria n. 451, de 19 de setembro de 1997. Disponível em: <http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=8135>.

BRASIL, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 51 de 18 de setembro de 2002. Aprova o **Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do Leite tipo B, do Leite tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel**. Item 3.1.3. Requisitos Físico-Químicos, Microbiológicos, Contagem de Células Somáticas e Resíduos Químicos Disponível em: <http://www.ufpel.edu.br/faem/dcta/microbial/artleite.pdf>

BRUM, J. V. F. **Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle em Indústria de Laticínios de Curitiba-PR**. Curitiba, PR, 2004. 129 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná

BUFALO. **Associação Brasileira dos Criadores de Búfalo**. Disponível em <http://www.bufalo.com.br>. Acesso em 02 de setembro de 2005.

CARVALHO, J. D. G. **Avaliação da Qualidade de Queijos Tipo Minas Frescal Elaborados por Diferentes Processos Tecnológicos e Comercializados em Campinas-SP**, Campinas, SP, 2003. n de folhas. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Disponível em <http://libdigi.unicamp.br>.

CATILLO, G.; MACCIOTTAA, N. P. P.; CARRETTA, A.; CAPPIO-BORLINO, A. *Effects of age and calving season on lactation curves of milk production traits in Italian Water buffaloes*. **J Dairy Sci**, v. 85, p. 1298-1306, 2002.

COELHO, K. O.; MACHADO, P. F.; COLDEBELLA, A.; CASSOLI, L. D.; CORASSINI, C. H. Determinação do perfil físico-químico de amostras de leite de búfalas, por meio de analisadores automatizados. **Ciênc. An. Bras.** v. 5, n. 3, p. 167-170, jul./set. 2004.

CONSALVO, F. *Marketig aspects of mozzarella cheese in Italy*. In: **World Buffalo Congress**, 5., *Proceedings...* Caserta, 1997. p. 157-166.

CUNHA NETO, O. C. **Avaliação do logurte Natural Produzido Com Leite de Búfala Contendo Diferentes Níveis de Gordura**. Pirassununga, SP, 2003. 71 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo. Disponível em <http://www.teses.usp.br>.

DEL PRATO, O. S. **Trattato di Tecnologia Casearia**. Bologna: [s.n.], 1998. 1070 p.

ELLIS, M. J. **Shelf life evaluation of foods**. London: Black Academic and Professional, 1996. 321 p.

ESTATÍSTICA NÃO PARAMÉTRICA. **Introdução a Estatística Não-Paramétrica**, Material Impresso do Curso de Especialização em Estatística Aplicada da Universidade Estadual de Maringá, 1999.

FAO. **Food and Agriculture Organization**. Faostat agriculture data (Agricultural production – live animals – livestock). Disponível em <http://www.fao.org>. Acesso em: 30 de dezembro de 2005.

FERNANDES, S. A. de A. **Levantamento Exploratório da Produção, Composição e Perfil de Ácidos Graxos do Leite de Búfalas em 5 Fazendas do Estado de São Paulo**, Piracicaba, SP, 2004. 84 f. Tese (Doutorado em Agronomia), Área de Concentração: Ciência Animal e Pastagens, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo. Disponível em <http://www.teses.usp.br>.

FONSECA, W. **O Búfalo: Sinônimo de Carne, Leite, Manteiga e Trabalho**, 4. ed. São Paulo: Ícone, coleção Brasil agrícola, 1986. p. 47–48.

FONSECA, L. F. L. da; PEREIRA, C. C. Importância, fatores determinantes e métodos de controle da qualidade microbiológica do leite. **Revista Raça Jersey**. n. 24, mar/abr. 1999. Disponível em <http://www.bichoonline.com.br>. Acesso em 02 de Setembro de 2005.

FREITAS, E. I. **Detecção de Genes de Enterotoxinas de *Staphylococcus spp.* Isolados de Queijo Minas Frescal**. Rio de Janeiro, RJ, 2005, 106 f. Dissertação (Mestre em Vigilância Sanitária) Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária do Instituto Nacional do Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, INCQC/ FIOCRUZ.

FURTADO, M. M. Leite de búfalo: Estudo da Fabricação do Queijo Azul. *In*: RAMOS, A. A.; VILLARES J. B.; MOURA, J. C. **Os Búfalos**, São Paulo: Edições FEALQ (Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz), 185p, 1981.

FURTADO, M. M. **Leite de búfala**: Características e Fabricação de Queijos. EPAMIG (Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais), Inst. de Laticínios Cândido Tostes. Juiz de Fora, MG, 1990.

FURTADO, M. M.; NETO, J. P. M. **Tecnologia de Queijos - Manual Técnico Para Produção Industrial de Queijos**. 1.ed. São Paulo: Dipemar, 1994. 118p. cap 18.

GARDENAL, I. Fresco, Mas Impróprio Para o Consumo. **Jornal da Unicamp**. p. 2, ago. 2002. Disponível em: <http://www.unicamp.br>.

GOMES, S.T. Desenvolvimento da pecuária leiteira em face das políticas governamentais. *In*: GOMES, S. T. **A economia do leite**. Coronel Pacheco, MG: EMBRAPA-CNPGL, 1996. p. 69-80.

GUERRA, R. B.; NEVES, E. C. A.; PENA, R. S. Caracterização e processamento de leite bubalino em pó em secador por nebulização. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 25, n. 3, p. 443-447. Set. 2005. Disponível em <http://www.scielo.br>.

HAJDENWURCEL, J. R. **Atlas de microbiologia de alimentos**, São Paulo: Fonte de Comunicações e Editora, 1^a ed. 1998, 66 f.

HURST, A.; HUGHES, A. The protective effect of some food ingredients on *Staphylococcus aureus*. **Journal of Applied Bacteriology**, v.55, n.1, p.81-88, Aug. 1983.

HURTADO-LUGO, N. A.; CÉRON MUÑOZ, M. F.; LOPERA, M. I.; BERNAL, A.; CIFUENTES, T. Determinación de Parámetros Físico-Químicos de Leche Bufalina en un Sistema de Producción Orgánica. **Livestock Research for Rural Development**, v. 17, Art. 1, 2005. Disponível em <http://www.cipav.org.co>.

ICMSF. INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Microrganismos de los alimentos: Características de los patógenos microbianos.** Zaragoza: Acribia, 1998. v.1, 431p.

INMETRO. INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. **Queijo Minas tipo Frescal**, mar. 1997. Disponível em <http://www.inmetro.gov.br>.

INMETRO. INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. **Leite Tipo "B", Tipo "C", UHT e Queijo Minas Frescal e Prato**, fev. 1998. Disponível em <http://www.inmetro.gov.br>. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/leitequeijo.asp>. Acesso em 10 de maio de 2006.

INMETRO. INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. **Queijo Minas Frescal e Padrão**, 2005. Disponível em: http://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/queijo_minas.asp. Acesso em 20 de julho de 2006.

IEA. INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA. **Produtos Lácteos: Algumas Considerações Nutricionais e Econômicas.** São Paulo, SP. Disponível em <http://www.iea.sp.gov.br>. Acesso 29 de maio de 2006.

JAY, J. M. **Microbiologia Moderna de los Alimentos.** 3 ed. Zaragoza: Acribia, 1994. 580p.

KAPRONEZAI, J. **Estudo de Provas Microbiológicas e Celulares em Amostras de Leite Provenientes de Fêmeas Bubalinas (*Bubalus bubalis*) no Estado de São Paulo.** São Paulo, SP, 2004. 82 f. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses), Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária e Saúde Animal, Departamento de Epidemiologia Animal e Aplicada às Zoonoses, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo. Disponível em <http://www.teses.usp.br>.

LEITE, C. C.; GUIMARÃES, A. G.; ASSIS, P. N.; SILVA, M. D.; ANDRADE, C. S. O. Qualidade bacteriológica do leite integral (tipo C) comercializado em Salvador-Bahia. **Rev. Bras. Saúde Prod. An.** v. 3, n. 1, p. 21-25, 2002. Disponível em <http://www.rbspa.ufba.br>.

LEWIS, M.; DALE, R. H. *Chilled Yogurt and Other Dairy Desserts.* In: MAN, C. M. D.; JONES, A. A. **Shelf Life Evaluation of Foods.** New York: **Blackie Academic and Professional**, 1996, 321 f.

LISITA, M. O. **Evolução da População Bacteriana na Linha de Produção do Queijo Minas Frescal em uma Indústria de Laticínios,** Piracicaba, SP, 61 p. 2005. Dissertação (Mestrado em Ciências), Área de Concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo.

LOGUERCIO, A. P.; ALEIXO, J. A. G. Microbiologia de Queijo Tipo Minas Frescal Produzido Artesanalmente. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 31, n. 6, p.1063-1067. nov/dec. 2001. Disponível em <http://www.scielo.br>.

LOREZETTI, D. K. **Influência do Tempo e da Temperatura no Desenvolvimento de Microrganismos Psicotróficos no Leite Cru de Dois Estados da Região Sul**. Curitiba, PR, 2006, 67 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná.

MACEDO, M. P.; WECHSLER, F. S.; RAMOS, A. de A.; AMARAL, J. B. do; SOUZA, J. C. de; RESENDE, F. D. de; OLIVEIRA, J. V. de. Composição Físico-Química e Produção do Leite de Búfalas da Raça Mediterrâneo no Oeste do Estado de São Paulo, São Paulo, SP, **Rev. Bras. Zootec.**, Viçosa, SP, v. 30, n. 3, p. 1084-1088, 2001. Disponível em: <http://www.scielo.br>.

MACÊDO, J. A. B. de; AMORIM, J. M.; LIMA, D. C.; SILVA, P. M. da; VAZ, U. P. Avaliação da Temperatura de Refrigeração nas Gôndolas de Exposição de Derivados Lácteos em Supermercados da Região de Juiz de Fora-MG. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 55 n. 315, p.41-47, jul/ago. 2000.

MADALENA, F. E. Valores Econômicos para a Seleção de Gordura e Proteína do Leite. **Rev. bras. zootec.**, v. 29, n. 3, p. 678-684, 2000. Disponível em <http://www.scielo.br>.

MADELLA-OLIVEIRA, A. de F.; QUIRINO, C. R.; ADONA, P. R.; PACHECO, A. Aspectos da comercialização de carne e leite de bubalinos na região Norte Fluminense. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, Belo Horizonte, MG, v. 29, n. 1, p. 53-54, jan/mar. 2005. Disponível em: <http://www.cbpa.org.br>.

MESQUITA, A. J.; TANEZINI, C. A.; PONTES, I. S.; ROCHA, J. M.; SOUZA, J. T.; D'ALESSANDR, W. T. **Qualidade Físico-Química e Microbiológica do Leite Cru Bubalino**. Goiânia, GO, 2001. 77 p. Universidade Federal de Goiás/CEGRAF.

MIRANDA, W. C. **Criação de Búfalos no Brasil**. São Paulo: Editora dos Criadores, 1986. p. 15 – 39.

MORENO, I.; VIALTA, A.; VALLE, J. L. E. do. Microrganismos Responsáveis pelas Principais Deteriorações do Requeijão e Outros Tipos de Queijos Fundidos (Artigo de revisão). **Revista Fazer Melhor**, v. 19, p.72-75, set/out. 2002.

MOURA, J. C.; CORSINI, J. M. **Bubalinocultura**. Campinas: Fundação Cargill, 1981. p. 3.

MOZZARELLA. **Mozzarella di Bufala Campana**. Disponível em <http://www.mozzarelladibufala.org>. Acesso 7 de Janeiro de 2006.

MURICY, R. F.; **Ocorrência de Mastite Subclínica em Caprinos e Qualidade Higiênico-Sanitária do Leite Produzido em Propriedades Associadas à Cooperativa Languiru**, Teutônia. RS, 2003, 83 f. Dissertação (Mestrado).

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**, Ames, v. 59, n. 9, p. 984-987, Sept. 1996.

NADER FILHO, A.; SCHOKEN-ITURRINO, R. P.; ROSSI JUNIOR et al. Influência do teor de proteínas totais na acidez e pH do leite de búfala. **Rev. ILCT**, 39(231):25. 1984

NASCIMENTO, C.; CARVALHO, L. O. M. **Criação de Búfalos: Alimentação, Manejo, Melhoramento e Instalações**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1993. 403 p.

OLIVEIRA, R. P. de S. **Condições Microbiológicas e Avaliação da Pasteurização em Amostras de Leite Comercializados no Município de Piracicaba-SP**, 2005, 81 f. Dissertação (Mestre em Ciências), Área de Concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo. Disponível em:

OLIVIERI, D. A. **Avaliação da qualidade microbiológica de amostras de mercado de queijo mussarela, elaborado a partir de leite de búfala (*Bubalus bubalis*)**. Piracicaba, 2004. 61 f. Dissertação (Mestrado), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo.

PANICO, M. G.; PRIMIANO, F.; NAPPI, F.; ATTENA, F. **Um Surto de Intoxicação Alimentar por *Salmonella enteritidis* com Origem em Queijo Produzido para Comércio**. Indexed in MedLine as: Euro Surveill, 1999;v. 4, n. 4, p. 47-48. Disponível em: <http://www.eurosurveillance.org/em/v04n04/0404-423.asp>

PATIÑO, E. M.; MÉNDEZ, F. I.; FAISAL, E. L.; CEDRÉS, J. F.; GÓMEZ, LAURA G.; GUANZIROLI STEFANI, M. C. Composición de Leche de Búfalas de Raza Murrah y Mestizas Murrah x Mediterráneo, **Facultad de Cs. Veterinarias** - UNNE. Corrientes, Argentina. 2002. Disponível em <http://www.unne.edu.ar>.

PATIÑO, E. M.; GUANZIROLI STEFANI, M. C. *Composición de Leche de Búfala (*Bubalus bubalis*) de Raza Jafarabadi en Corrientes, Argentina*. **Revista Electrónica de Veterinaria REDVET**. v. 6, n. 5, 2005. Disponível em: <http://www.veterinaria.org>.

PELCZAR, M. J.; CHANG, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia: Conceitos e Aplicações**, v. II, 2ª ed. São Paulo: Makron Books, 1996.

PENNA, C. F. de A. M.; FONSECA, L. M. da; SOUZA, M. R. de; CERQUEIRA, M. M. O. P.; LEITE, M. de O.; RODRIGUES, R. **Determinação da acidez do leite**. (atualização do artigo publicado nos Cadernos Técnicos da EV/UFMG. n. 13, p. 63-72, 1995). Universidade Federal de Minas Gerais. 2001. Disponível em <http://www.vet.ufmg.br>.

PICOLI, S. U.; BESSA, M. C.; CASTAGNA, S. M. F.; GOTTARDI, C. P. T.; SCHMIDT, V.; CARDOSO, M. Quantificação De Coliformes, *Staphylococcus aureus* e Mesófilos Presentes em Diferentes Etapas da Produção de Queijo Frescal de Leite de Cabra em Laticínios. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 26, n. 1, p. 64-69, jan/mar. 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br>.

PIMENTEL, E.; DIAS, F.; RIBEIRO-CUNHA, R. S.; GLÓRIA, M. B. A. Avaliação da Rotulagem e da Qualidade Físico-Química e Microbiológica de Queijo Ralado. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, set/dez. 2002, v. 22, n. 3, p. 289-294. ISSN 0101-2001. Disponível em www.scielo.br.

PINTO, A., F., M., A. Doenças de Origem Microbiana Transmitidas pelos Alimentos. IPV/ **Revista Millenium**, n. 4, p. 91-100, out. 1996. Disponível em: http://www.ipv.pt/millenium/Millenium_4.htm

PINTO, A. de F. M. A. **Doenças de Origem Microbiana Transmitidas Pelos Alimentos**. 2004 Disponível em: http://www.ipv.pt/millenium/ect4_1.htm.

RAIBNITZ, M. G. R.; TAVARES, L. B. B.; GARCIA, J. A. *Presencia de Coliformes Fecales, Escherichia coli y Staphylococcus aureus coagulasa y DNAsa positivas em Queso*. **Revista Argentina de Microbiologia**, v. 30, n. 1, p. 8-12, 1998.

RIBEIRO, A. C.; MARQUES, S. C.; SODRÉ, A. de F.; ABREU, L. R.; PICOLI, R. H. Controle Microbiológico da Vida de Prateleira de Ricota Cremosa, Lavras, MG, **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 29, n. 1, p. 113-117, jan/fev. 2005. Disponível em: <http://www.editora.ufla.br>.

ROCHA, J. S.; BURITI, F. C. A.; SAAD, S. M. I. Condições de Processamento e Comercialização de Queijo-de-Minas Frescal. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 58, n. 2, p. 263-272, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br>

SALVADOR, M.; CAMASSOLA, M.; MOSCHEN, E.; ZANROSSO, A. V.; Avaliação da Qualidade Microbiológica de Queijo Prato e Parmesão Ralado, Curitiba, PR, **B.CEPPA**, v. 19, n. 1, p. 6574, jan./jun. 2001

SAMPAIO NETO, J. C. et al. Avaliação dos Desempenhos Produtivo e Reprodutivo de um Rebanho Bubalino no Estado do Ceará. **Rev. Bras. Zootec.**, mar/abril. 2001, v. 30, n. 2, p. 368-373. Disponível em <http://www.scielo.br>.

SILVA, N. e ALMSTALDEN, V. C., **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**, ed. Livraria Valéra, São Paulo, SP, 1997, 280p.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos e análises microbiológicas de alimentos**. São Paulo: Varela, 1997. 310p.

SILVA, M. S. T. da; LOURENÇO Jr., J. B. de L.; GOLÇALVES, I. A.; MIRANDA, H dos A.; ERCHEN, R.; FONSECA, R. F. S. R. da; MELO, J. A. de; COSTA, J. M. **Programa de incentivo a criação de búfalos por pequenos produtores – PRONAF**. Belém, PA: CPATU, 2003. Disponível em <http://www.cpatu.embrapa>.

SILVA, E. O. T. R., PANETTA, J. C., ISHIZUKA, M. M. Efeito microbiocida da fase de filagem, durante a fabricação de "Mozzarella" elaborada com leite cru de búfala. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.13, n.59, p.28-34, jan./fev.1999

SILVA NETTO, F. G. da. **Práticas para a Melhoria da Qualidade do leite**. 2004. Disponível em <http://www.cpafro.embrapa.br>. Acesso 10 de outubro de 2005.

SILVEIRA, I. A. da; CARVALHO, E. P. de; TEIXEIRA, D. **Influência de microrganismos psicotróficos sobre a qualidade do leite refrigerado**, 2002, Disponível em <http://www.laticinio.net> . Acesso 10 de outubro de 2005.

SILVIERI, K.; OLIVEIRA, N. de; *Avaliação da Vida-de-Prateleira de Bebidas Lácteas Preparadas com "Fat Replacers" (Litesse e Dairy-Lo)*. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 22, n. 1 p. 24-31, jan/abr. 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br>.

SOUSA, C.; NEVES, E. C. A.; CARNEIRO, C. A. A.; FARIAS, J. B. de; PEIXOTO, M. R. S. Avaliação Microbiológica e Físico-Química de Doce de Leite e Requeijão Produzidos com Leite de Búfala na Ilha do Marajó-PA, 2002, Curitiba, **B.CEPPA**, v. 20, n. 2, jul./dez. 2002

TEIXEIRA, L. V.; BASTIANETTO, E.; OLIVEIRA, D. A. A. Leite de Búfala na Indústria de Produtos Lácteos. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, Belo Horizonte, MG, v. 29, n. 2, p. 96-100, abril/jun 2005. Disponível em <http://www.cbra.org.br>.

TERRAMOCHIA S, BARTOCCI S, TRIPALDI C, DANESE V. *Difficoltà alla coagulazione del latte di Búfala :caratteristiche fisico-chimiche e sanitarie*. In: Congresso Nazionale sull'Allevamento del Búfale, 1, 2001, Salerno. **Annali... Salerno**: [s.n.], 2001. p. 256-259

THESAURUS. Índice de Termos. Disponível em: <http://www.thesaurus.eti.br/cadeia-alimenticia/00000952.htm>. Acesso em 7 de janeiro de 2006.

TONHATI, H.; DUARTE J. M. C.; MUÑOZ, M. F. C.; OLIVEIRA, J. A. de; MACHADO, D. F. B.; OLIVEIRA, J. F. S. de. Parâmetros Genéticos para a Produção de Leite em Bubalinos no Estado de São Paulo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36, 1999, Porto Alegre,RS. **Anais...** Barueri, SP. Videolar, 1999. v. 1, p. 151-3p. Disponível em <http://www.sbz.org.br>.

TRABULSI, L. R. **Microbiologia**. 2ª ed. São Paulo: Editora Atheneu 1998. 386 p.

VALE, W.G. Perspectivas da bubalinocultura no Brasil e na América Latina. In: Simpósio Paulista de Bubalinocultura, 1, 1999, Jaboticabal, SP. **Anais...** Jaboticabal: UNESP/FCAV, 1999. p. 1-26.

VALLE, J. L. E. Características e usos do leite de bubalinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 27., 1990, Campinas, SP. **Anais...** Campinas: SBZ. 1990. p.739-743.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 3.ed. Washington: **American Public Health Association**. 1992. 1219p.

VERRUMA-BERNARDI, M. R.; DAMASIO, M. H.; VALLE, L. L. E. do; OLIVEIRA, A. J. Elaboração do queijo mozarela de leite de búfala pelos métodos tradicional e da acidificação direta. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** maio/ago. 2000, v. 20, n. 2, p. 138-144. Disponível em <http://www.scielo.br> .

VERRUMA-BERNARDI, M. R.; DAMASIO, M. H. Análise descritiva de perfil livre em queijo mozarela de leite de búfala, 7 p. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 24, n.4, p. 536-542, out./dez. 2004. Disponível em <http://www.scielo.br>.

YUNES, V. M.; BENEDET, H. D. Desenvolvimento experimental de queijo fresco de leite da espécie bubalina. **Ciênc. Tecnol. Alim.** Campinas, v. 20, p. 285-290. Set./Dez. 2000.

YUNES, V. M. e BEBEDET, H. D. Experimental development of a fresh cheese from buffalos milk. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 20, n. 3, 2000. Disponível em <http://www.scielo.br>.

ZACARCHENCO, P. B., MASSAGUER-ROIG, S. Avaliação Sensorial, Microbiológica e de Pós-Acidificação Durante a Vida-de-Prateleira de Leites Fermentados Contendo *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium longum* E *Lactobacillus acidophilus*. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 24, n. 4, p. 674-679, out/dez. 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br/>

ZICARELLI, L. **Considerazioni Sull'allevantamento buffalino**, Salerno: Ente Regionale Sviluppo Agricolo in Campânia, 1990. 70 p.

ZICARELLI L. **Stagionalità riproduttiva nella búfala da latt.** In: *International Course of Biotechnology in Buffalo Reproduction*, Itália, Proceedings... Napoli: Bubalus bubalis Suppl., 1997 p. 29-52.

ANEXO 1: Riscos à saúde que podem ser causados por *Salmonella* spp. e *Listeria Monocytogenes*

A salmonela (*salmonella* spp.) é uma que pode ser de vários tipos, causa uma infecção cujos sintomas principais aparecem de 12 a 72 horas após a ingestão de alimento contaminado, duram de 4 a 7 dias e incluem diarreia, dor abdominal, febre, dor de cabeça, mal-estar, desidratação e calafrios, sendo que em crianças, idosos, portadores de HIV, pacientes com câncer e diabetes, a perda de líquido provocada pode levar a uma desidratação fatal (INMETRO..., 2005).

A *L. monocytogenes* causa uma doença infecciosa chamada listeriose, que afeta principalmente mulheres grávidas, recém-nascidos, idosos e pessoas com o sistema imunológico comprometido, como pacientes de câncer, diabetes, doenças renais e portadores de HIV. Crianças e adultos normais, por sua vez, apresentam baixa probabilidade de contraírem listeriose. Cerca de um terço dos casos de listeriose ocorre com mulheres grávidas - que são 20 vezes mais suscetíveis a essa doença do que um adulto em condições normais - resultando em abortos e partos prematuros. Os sintomas demoram cerca de 9 a 32 horas para se manifestar, sendo que inicialmente podem ser confundidos com uma gripe comum, evoluindo para um quadro de diarreias e vômitos, que precedem sintomas mais graves da doença: dores de cabeça, confusão mental, perda de equilíbrio e convulsões. A listéria também é uma das principais causas de meningite aguda infecciosa e septicemia (infecção no sangue que se caracteriza pela rápida multiplicação de bactérias e pela presença de toxinas, razão pela qual é popularmente descrita como sangue envenenado) – (INMETRO..., 2005).

ANEXO 2: Composição dos meios de cultura

ÁGAR BAIRD PARKER (BP)

- Aplicação: meio seletivo/diferencial para isolamento de *S. aureus*.
- Composição da base:

Triptona.....	10,0 g
Extrato de carne.....	5,0 g
Extrato de levedura.....	1,0 g
Piruvato de sódio.....	10,0 g
Glicina.....	12,0 g
Cloreto de lítio.....	5,0 g
Agar.....	20,0 g
Água destilada.....	940 ml

pH 7,0 121°C/ 15 min

Fonte: SILVA et al. (1997).

ÁGAR (CALDO) INFUSÃO CÉREBRO-CORAÇÃO (BHI)

- Aplicação: meio de enriquecimento e manutenção para uso geral. No experimento foi utilizado no Teste da coagulase.

- Composição (Caldo):

Infusão de cérebro de bezerro.....	200,0 g
Infusão de coração de boi.....	250,0 g
Proteose peptona.....	10,0 g
Dextrose.....	2,0 g
Cloreto de sódio.....	5,0 g
Fosfato dissódico (Na ₂ HPO ₄).....	2,5 g
Água destilada.....	1 litro

pH 7,4 121°C/ 15 min

Fonte: SILVA et al. (1997)

ÁGAR (CALDO) TRIPTICASE DE SOJA (TSA/ TSB)

- Aplicação: meio de enriquecimento e manutenção para uso geral. No experimento foi utilizado para enriquecimento e manutenção das cepas.

- Composição (Caldo):

Peptona de caseína.....	
Peptona de soja.....	
Cloreto de sódio.....	17,0 g
Fosfato dipotássico (K ₂ HPO ₄).....	3,0 g
Dextrose.....	5,0 g
Água destilada.....	2,5 g
pH 7,3 121°C/ 15 min	2,5 g
Fonte: SILVA et al. (1997).	1 litro

ÁGUA PEPTONADA 0,1% (H₂O_p)

- Aplicação: homogeneização e diluição de amostras para a análise.

- Composição:

Peptona..... 1,0 g
 Água destilada..... 1 litro

pH 7,0 121°C/ 15 min

Fonte: SILVA et al. (1997).

CALDO *E. coli* (EC)

- Aplicação: meio para contagem de coliformes fecais, confirmação de resultado presuntivo pelo método NMP.

- Composição:

Triptose..... 20,0 g

Lactose..... 5,0 g

Sais biliares N^o 3..... 1,5 g

Fosfato dipotássico (K₂HPO₄)..... 4,0 g

Fosfato monopotássico (KH₂PO₄)..... 1,5 g

Cloreto de sódio..... 5,0 g

Água destilada..... 1 litro

pH 6,9 121°C/ 15 min

Fonte: SILVA et al. (1997).

CALDO LAURIL SULFATO TRIPTOSE (LST)

- Aplicação: meio seletivo para detecção presuntiva de coliformes totais, coliformes fecais e *E. coli* pelo método NMP.

- Composição:

Triptose..... 20,0 g

Lactose..... 5,0 g

Fosfato monopotássico (KH₂PO₄)..... 2,75 g

Fosfato dipotássico (K₂HPO₄)..... 2,75 g

Cloreto de sódio..... 5,0 g

Lauril sulfato de sódio..... 0,1 g

Água destilada..... 1 litro

pH 6,8 121°C/ 15 min

Fonte: SILVA et al. (1997).

CALDO LACTOSADO BILE VERDE BRILHANTE 2% (VB)

- Aplicação: meio seletivo para contagem de coliformes totais (confirmação de teste presuntivo pelo método do NMP ou plaqueamento direto).

- Composição:

Bile de boi ("oxgall")..... 20,0g

Peptona..... 10,0g

Lactose..... 10,0g

Verde brilhante (13,3 mL de solução aquosa 0,1%)..... 0,0133g

Água destilada..... 1 litro

pH 6,8 121°C / 15 min

Fonte: SILVA et al. (1997).

ANEXO 3: Cepas-padrão e tabela do NMP/g

TABELA 17. CEPAS PADRÃO PARA OS CALDO LACTOSADO VERDE BRILHANTE BILE 2%, CALDO E. COLI E ÁGAR BAIRD PARKER

CEPA PADRÃO	ATCC	TESTES
Cepa <i>Escherichia coli</i>	25922	(+) para Coliformes totais e fecais (-) para <i>Staphylococcus spp.</i>
Cepa <i>Enterobacter aerogenes</i>	13048	(+) para Coliformes totais (-) para Coliformes fecais
Cepa <i>Staphylococcus aureus</i>	25923	(+) para <i>Staphylococcus spp.</i> (-) para Coliformes totais e fecais

Fonte: A AUTORA (2006).

QUADRO 2. NÚMERO MAIS PROVÁVEL (NMP) E INTERVALO DE CONFIANÇA A ÍVEL DE 95% DE PROBABILIDADE PARA DIVERSAS COMBINAÇÕES DE TUBOS POSITIVOS EM SÉRIES DE TRÊS E CINCO TUBOS. QUANTIDADE INOCULADA DA AMOSTRA: 0,1; 0,01 E 0,001g OU ml (BACTERIOLOGICAL ANALYTICAL MANUAL, 6. ed. Estados Unidos: *Food and Drug Administration*, 1984).

COMBINAÇÕES DE TUBOS (+)	INTERVALO DE CONFIANÇA (95%)			COMBINAÇÕES DE TUBOS (+)	INTERVALO DE CONFIANÇA (95%)		
	NMP/g	MIN	MAX		NMP/g	MIN	MAX
0-0-0	<3	<0,5	<9	2-3-0	-	-	-
0-0-1	3	<0,5	9	3-0-0	23	4	120
0-1-0	3	<0,5	13	3-0-1	39	7	130
0-2-0	-	-	-	3-0-2	64	15	380
1-0-0	4	<0,5	20	3-1-0	43	7	210
1-0-1	7	1	21	3-1-1	75	14	230
1-1-0	7	1	23	3-1-2	120	30	380
1-1-1	11	3	36	3-2-0	93	15	380
1-2-0	11	3	36	3-2-1	150	30	440
2-0-0	9	1	36	3-2-2	210	3	470
2-0-1	14	3	37	3-3-0	240	36	1.300
2-1-0	15	3	44	3-3-1	460	71	2.400
2-1-1	20	7	89	3-3-2	1.100	150	4.800
2-2-0	21	4	47	3-3-3	≥2.400	>150	>4.800
2-2-1	28	10	150				

Fonte: SILVA et al. (1997).

ANEXO 4: Descrição do processamento de MECA e MESA.

O leite procedente de outros criadores de búfalo foi transportado ao laticínio, onde passou pelas seguintes etapas.

1. Recepção do leite: O leite de vários criadores chegou ao laticínio transportado em latões de polietileno com capacidade de 20 a 50 litros até às 10:00 horas da manhã. Antes de ser despejado no tanque de recepção foram realizados os testes do alizarol, análises de densidade, crioscopia, acidez titulável e medição de temperatura nas amostras de cada latão.

2. Pasteurização: O pasteurizador foi limpo com antecedência de 1 hora recebendo água a 85°C e logo após a utilização, recebeu água a 85°C e detergente-sanitizante específico. A pasteurização rápida foi realizada em trocador de calor de placas a 74°C por 15 segundos, seguida de resfriamento a 30°C para o processo de coagulação.

3. Coagulação, maturação e ruptura: O leite que saiu do pasteurizador por tubulação resfriado a 30°C, passou para o tanque para coagulação, onde recebeu coalho e soro. Depois foi aquecido a temperaturas específicas para cada formato (MECA e MESA), sendo temperatura de MESA maior 4 a 6°C que a temperatura de MECA.

A massa coagulada passou por um período de maturação, seguida da quebra ou ruptura (com espátula de aço inoxidável) e sofreu segunda maturação. O soro foi escoado e a massa coagulada remanescente ficou com aspecto de pequenos grumos (mesmo tempo e manejo para MECA e MESA nestas etapas).

4. Filagem: Para a filatura de MECA, foi adicionada água a 90°C e para filatura de MESA foi adicionada água a 60°C. Ambas as massas foram mexidas com bastão de polietileno.

A água adicionada durante o processo de filagem não é absorvida pela massa, apenas serve para amolecê-la e torná-la lisa e homogênea.

Ao final do processo de filatura foi adicionado Cloreto de Sódio a massa de MESA somente.

5. Molde: MECA foi moldado manualmente (com as mãos enluvadas) em formato de bola. E a massa de MESA foi prensada manualmente em fôrmas retangulares de aço inoxidável.

6. Resfriamento: O processo de molde ocorreu em temperatura ambiente e durante o mesmo houve o resfriamento espontâneo das massas MECA e MESA, que seguiram para a embalagem, sendo MECA embalado com água e em sacos plásticos, enquanto MESA foi “desorado” (retirada do soro que exuda da massa) e embalado sem vácuo.

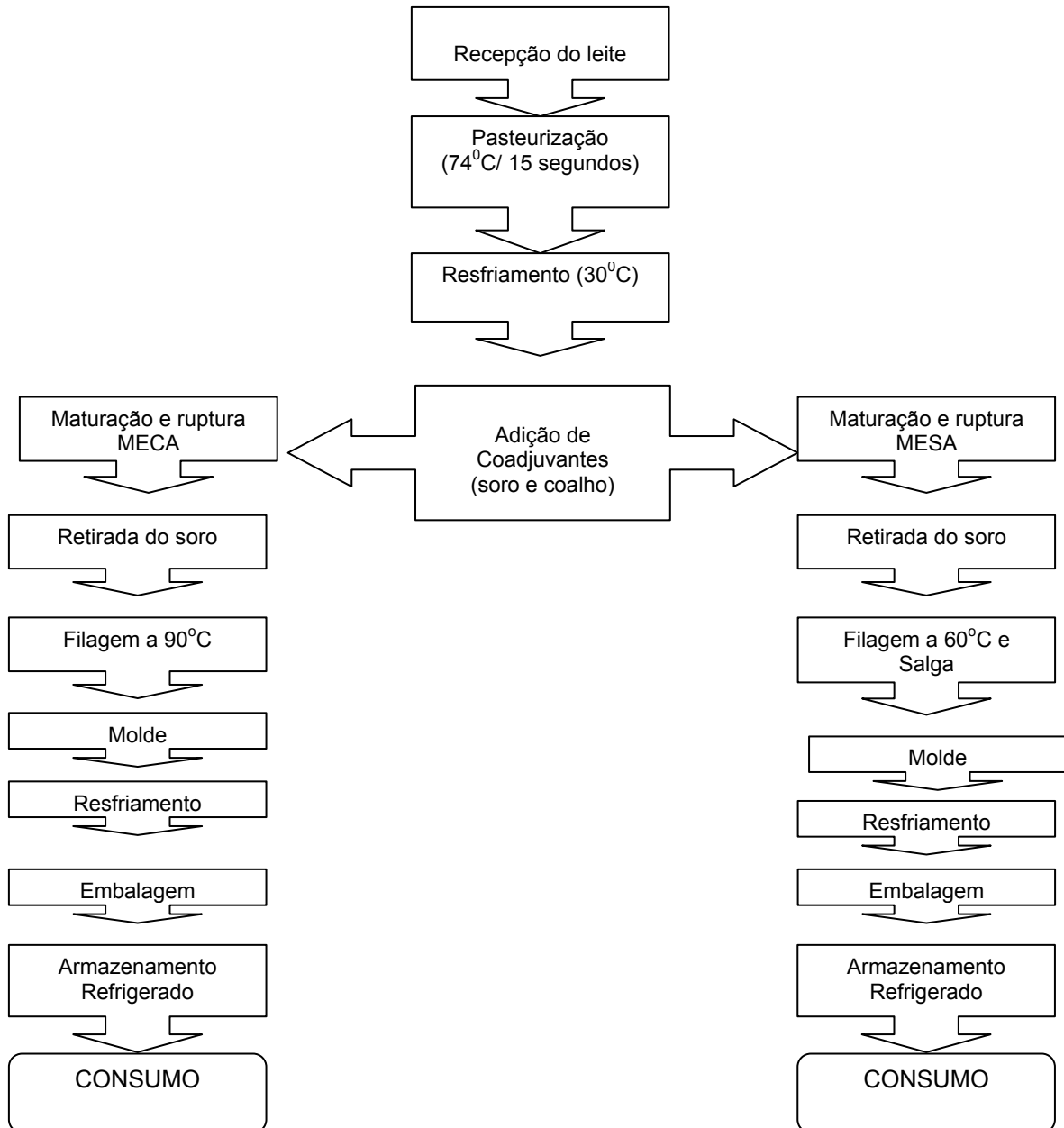


FIGURA 10. FLUXOGRAMA DA CONFEÇÃO DE DOIS FORMATOS DO QUEIJO *MOZZARELLA* DE UM LATICÍNIO SUJEITO A FISCALIZAÇÃO DO S.I.P./ P.O.A NO ESTADO DO PARANÁ.

Fonte: A AUTORA (2006)