

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
MESTRADO EM NUTRIÇÃO**

VITOR LUIZ DE MELO SILVA

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E DE FUNGOS
FILAMENTOSOS EM QUEIJO DE MANTEIGA
COMERCIALIZADO NO ESTADO DE ALAGOAS**

MACEIÓ

2012

VITOR LUIZ DE MELO SILVA

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E DE FUNGOS
FILAMENTOSOS EM QUEIJO DE MANTEIGA
COMERCIALIZADO NO ESTADO DE ALAGOAS**

Dissertação apresentada à Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Alagoas como requisito à obtenção do título de Mestre em Nutrição.

Orientador: **Prof. Dr. Cyro Rego Cabral Júnior**
Faculdade de Nutrição-FANUT
Universidade Federal de Alagoas

Co-Orientadora: **Prof.^a Dr.^a. Edna Peixoto da Rocha Amorim**
Centro de Ciências Agrárias - CECA
Universidade Federal de Alagoas

MACEIÓ

2012



**MESTRADO EM NUTRIÇÃO
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**



Campus A. C. Simões
BR 104, km 14, Tabuleiro dos Martins
Maceió-AL 57072-970
Fone/fax: 81 3214-1158

**PARECER DA BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE
DISSERTAÇÃO**

**“CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E DE FUNGOS
FILAMENTOSOS EM QUEIJO DE MANTEIGA
COMERCIALIZADO NO ESTADO DE ALAGOAS”**

por

VITOR LUIZ DE MELO SILVA

A Banca Examinadora, reunida aos 27 dias do mês de abril do ano de 2012, considera o candidato **APROVADO**.

Prof. Dr. Cyro Rêgo Cabral Júnior

Universidade Federal de Alagoas

SIAPE: 2571220
(Orientador)

Prof.ª Dra. Edma Carvalho de Miranda
Instituto de Química e Biotecnologia
Universidade Federal de Alagoas
(Examinador)

Prof. Dr. Johnnatan Duarte de Freitas
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Alagoas
(Examinador)

Dedico este trabalho a Deus e ao nosso salvador Jesus Cristo que me dá toda inspiração e sabedoria. Aos meus amados pais Valter e Adoniran, por todo sacrifício para proporcionar uma educação da qual hoje sou fruto, exemplos de pessoa, perseverança e dedicação. Aos meus irmãos Valtinho e Nel, e meus queridos sobrinhos Nicolly e Vinícius.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço especialmente ao Deus todo poderoso, por seu amor incondicional, fonte de minha força e sabedoria e sem o qual não seria possível a realização completa desta caminhada.

Agradeço aos meus pais Valter e Adoniran, que com todo amor, sempre estiveram ao meu lado e nunca mediram esforços para me ajudar sempre que necessário.

Aos meus irmãos Valtinho e Nel por sempre me ajudarem a qualquer momento.

Ao meu orientador Prof. Dr. Cyro Rego Cabral Júnior, pela grande oportunidade, sempre orientando, apoiando, aconselhando sabiamente, sendo atencioso e paciente.

À minha co-orientadora Prof^a. Dra. Edna Peixoto da Rocha Amorim do Centro de Ciências Agrárias, UFAL, por sua orientação, ensinamentos e por tornar agradável os momentos no Laboratório de Fitopatologia.

A FAPEAL pelo suporte financeiro.

À Prof^a. Dra. Edma Carvalho de Miranda pela atenção e por ceder o Laboratório de Enzimologia e Análises Bromatológicas LENAB-IQB.

À Prof^a. Dra. Maria Cristina Delgado pela atenção e por ceder o Laboratório de Controle e Qualidade de Alimentos – FANUT/UFAL.

Ao Genildo, pelo companheirismo e por compartilhar sua experiência de laboratório durante o curso.

À Elenita, companheira de bancada e com quem tive a oportunidade de conhecer melhor.

Ao meu amigo Ewerton por sua amizade e me ajudar nas análises estatísticas.

Às minhas amigas atenciosas e carinhosas, Amanda e Melissa.

Ao meu amigo de longa data Sérgio que, sempre disposto, me ajuda.

Ao meu grande amigo João Paulo, que se mostra sempre prestativo.

As bolsistas do PIBIC Bruna e Rafaela pela grande contribuição no laboratório.

RESUMO

O leite constitui um excelente substrato que favorece o crescimento de fungos patogênicos oportunistas. O grande potencial deste alimento é dar origem a derivados, dentre os quais, os queijos tipo manteiga, que são amplamente consumidos na região Nordeste. Com base no exposto, o presente trabalho teve como objetivo a caracterização físico-química e da microflora epífita patogênica em queijos tipo manteiga, produzidos a partir de leite pasteurizado de vacas. O estudo aconteceu entre os meses de abril a agosto de 2011. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado. Foram coletadas amostras de aproximadamente 0,5 kg de cinco micro-usinas da região da zona da mata e sertão alagoano. Apenas uma marca não possui registro no Serviço de Inspeção Federal ou Estadual. Uma marca possui o selo do Serviço de Inspeção Federal e outras três marcas o selo do Serviço de Inspeção Estadual. Amostras das cinco marcas comerciais foram adquiridas diretamente em estabelecimentos comerciais, acondicionadas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável e transportadas para os Laboratórios de Controle e Qualidade de Alimentos – FANUT/UFAL e de Fitopatologia, Centro de Ciências Agrárias - CECA/UFAL, onde foram mantidas em freezer a -18°C para posteriores determinações analíticas. Foram analisadas 5 marcas, sendo 4 repetições de cada marca, compreendendo 4 diferentes lotes, totalizando 20 amostras. Todas as análises foram realizadas em triplicata. Foram analisadas as variáveis físico-químicas, tais como: (pH, umidade, gordura nos sólidos totais, gordura, proteínas, cinzas e cloretos) e as análises microbiológicas com a contagem do número de unidades formadoras de colônias (UFC) e identificação dos patógenos nos queijos tipo manteiga. Os resultados revelaram que das cinco marcas analisadas, três apresentaram-se dentro dos padrões estabelecidos pela Instrução Normativa nº 30 quanto ao teor de umidade, porém, apenas duas atenderam os requisitos para o teor de gordura nos sólidos totais que deve variar entre 25% e 55%. A microbiota fúngica revelou que o gênero *Aspergillus* predominou em quatro marcas, sendo o *Aspergillus flavus* o mais freqüente, identificado em três marcas. O gênero *Penicillium* foi identificado em duas marcas com as espécies *P. italicum* e *P. viridicatum*. O gênero *Fusarium* foi identificado apenas em uma marca com a identificação da espécie *F. semitectum*. Outros gêneros como *Geotrichum*, *Cladosporium*, e *Rhizopus* também foram identificados.

Palavras-chave: Queijo de manteiga, Análise físico-química, *Aspergillus flavus*.

ABSTRACT

The milk is an excellent substrate favors growth of opportunistic pathogenic fungi. The great potential of this food is to give origin to dairy products, among which, the like-butter cheese, widely consumed in the Brazilian Northeast. Based on that, this present study aimed to characterize the physicochemical and pathogenic epiphytic microflora in like-butter cheese made from pasteurized cow's milk. The study took place from April and August 2011. The experimental design was completely randomized. It was collected samples with about 0.5 Kg from five micro processing plants in the region of the rainforest and backwood area of Alagoas State. Only one brand is not registered in the Federal Inspection service or State. A brand has the seal of the Federal inspection service and three other brands the seal of the state Inspection service. The five brands samples were acquired directly in shops, packed in cool boxes containing ice packs, transported to the Laboratory Quality Control and Food – FANUT/UFAL and Plant Phytopathology, Agricultural Science Center – ECSC/UFAL, and maintained at - 18 °C for further analytical determinations. It was analyzed five brands, four replicates of each brand, comprising four different lots, totaling twenty samples. All analyzes were performed in triplicate. The physicochemical variables were analyzed (pH, moisture, fat in total solids, fat, protein, ash and chlorides) and microbiological count of the number of colony forming units (CFU) and identification of pathogens in like-butter cheese. The results revealed that among the five brands tested, three were within the standards established by Instruction No. 30 on the moisture content, but only two met the requirements for the level of fat in total solids should vary between 25% and 55%. The fungal flora revealed that the genus *Aspergillus* was predominant in four brands, *Aspergillus flavus*, the most frequent, identified in three brands. The genus *Penicillium* was found in two brands with the species *P. italicum* and *P. viridicatum*. The genus *Fusarium* has been identified only in one brand with the identification of the species *F. semitectum*. Other genres such as *Geotrichum*, *Cladosporium* and *Rhizopus* were also identified.

Key words: Like-butter cheese, Physicochemical analysis, *Aspergillus flavus*.

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1	Imagem de microscopia óptica de <i>Aspergillus flavus</i>	20
----------	---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Resultados das análises físico-químicas do queijo de manteiga....	35
Tabela 2	Resultados das análises de bolores e identificação fúngica do queijo de manteiga.....	38

LISTA DE ABREVIATURAS

APPCC	Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle
BPF	Boas Práticas de Fabricação
DRBC	Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol
GST	Gordura nos sólidos totais
IAL	Instituto Adolfo Lutz
UFC	Unidades formadoras de colônias
UR	Umidade Relativa
pH	Potencial hidrogeniônico
%	Porcentagem
°C	Graus Celsius
µg	Micrograma
kg	Quilograma
L	Litro
g	Gramma
mg	Miligramma
mL	Mililitro
m/m	Massa de solução (soluto + solvente)
sp.	Espécie
spp.	Espécies

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	12
2 COLETÂNEA DE ARTIGOS.....	15
2.1 QUEIJO DE MANTEIGA, FUNGOS TOXIGÊNICOS E MICOTOXINAS....	17
2.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E DE FUNGOS FILAMENTOSOS EM QUEIJOS TIPO MANTEIGA PRODUZIDOS NO ESTADO DE ALAGOAS.	23
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	45
4 REFERÊNCIAS.....	47

1. INTRODUÇÃO GERAL

O queijo de manteiga é produzido e bastante consumido na Região Nordeste do país, onde predomina a fabricação de queijos artesanais. A fabricação e a comercialização desse queijo são atividades importantes para a economia regional, sendo a principal fonte de renda de pequenos produtores estabelecidos principalmente na zona rural (ALMEIDA, 2008).

A indústria queijeira na Região Nordeste, divide-se, basicamente, em dois segmentos: o das médias empresas, fiscalizadas por órgãos oficiais, e o das pequenas unidades artesanais, localizadas, principalmente, no meio rural, sem qualquer fiscalização. A fabricação do queijo de manteiga também ocorre em algumas indústrias regulamentadas e inspecionadas pelo Ministério da Agricultura, entretanto predomina a manufatura de queijos padronizados tipo Minas, Prato e Mussarela (NASSU *et al.*, 2003).

Fungos de várias espécies são citados na literatura científica como agentes deteriorantes de queijo, devendo ser considerados nos programas de garantia da qualidade e segurança alimentar das indústrias (FRANCO *et al.*, 1999). Por sua vez, diversos alimentos destinados ao consumo humano e animal são susceptíveis ao ataque fúngico em nível de campo e durante o seu armazenamento. A contaminação é uma realidade neste produto culminando em perdas por deterioração e retirada total ou parcial da casca dos queijos onde o crescimento de fungos é visível. (PERAICA *et al.*, 2000).

Havendo condições favoráveis, estes fungos podem produzir metabólitos secundários conhecidos como micotoxinas. A contaminação por micotoxinas é variável e depende de alguns fatores (OLIVEIRA, 2010). O Brasil apresenta

condições ideais para o desenvolvimento de fungos devido à prevalência do clima tropical, além da utilização de práticas agrícolas inadequadas de plantio, colheita, secagem, transporte e armazenamento dos grãos (SABINO *et al.*, 1988).

A contaminação de rações e alimentos por fungos deve-se principalmente à utilização de grãos já contaminados por toxinas ou rações estocadas em condições inadequadas, bem como pela ingestão de forragens contendo fungos endofíticos (CAVALCANTE, 1998). Os três principais gêneros fúngicos associados com a produção de micotoxinas são *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, estes são largamente distribuídos no ecossistema brasileiro (CORRÊA, 2000). Um dos principais gêneros fúngicos responsáveis nos casos de intoxicação por micotoxinas é o *Aspergillus* (OGA, 1996).

Estudos sobre as características físico-químicas, sensoriais e microbiológicas do queijo de manteiga são escassos. Alguns fatores como a falta de padronização no processamento, precariedade das condições higiênico-sanitárias na fabricação, comercialização de queijos sem embalagens e em temperatura ambiente, fraude por adição de amido e de óleo vegetal em substituição à manteiga de garrafa são alguns dos problemas assinalados por ESCUDERO (1979), VENTURA (1987) e NASSU *et al.* (2003). Tais problemas resultam em queijos com rancificação acelerada, perda de umidade, defeitos de sabor e textura, comprometendo assim suas características organolépticas.

Neste sentido, diante desse contexto torna-se importante a caracterização físico-química e a avaliação de fungos filamentosos em queijos de manteiga comercializados no estado de Alagoas.

1º capítulo: Capítulo de Revisão

SILVA, V. L. M.; CABRAL JUNIOR, C, R.; AMORIM, E. P. R.
QUEIJO DE MANTEIGA, FUNGOS TOXIGÊNICOS E MICOTOXINAS.

1 QUEIJO DE MANTEIGA

O queijo de manteiga, igualmente conhecido como requeijão do sertão, requeijão do nordeste e requeijão do norte, é de origem brasileira, com ampla aceitação nas regiões Norte e Nordeste do Brasil. Este tem sido uma das alternativas mais utilizadas para aproveitamento de leite nas fazendas situadas longe dos centros consumidores e laticínios. É um produto de fabricação simples e com alto valor nutritivo (CAVALCANTE E COSTA, 2005).

A metodologia para a fabricação do queijo de manteiga é bastante diversificada. O processamento não se encontra bem definido, o que leva à falta de padronização do queijo comercializado. A falta de critérios de qualidade da matéria-prima e de técnicas de processamento estabelecidas permite que o mercado consumidor obtenha produtos de baixa qualidade tanto do ponto de vista higiênico-sanitário como em relação aos padrões de identidade do produto (ALMEIDA, 2008).

2 FUNGOS TOXIGÊNICOS

Os fungos são microrganismos comuns na natureza estando presentes em ambientes aquáticos, terrestres e no ar. Sua estrutura é formada por filamentos denominados hifas, que, em conjunto, formam o micélio. Este pode ter duas funções: promover a fixação do bolor no substrato (micélio vegetativo) e promover a reprodução através da produção de esporos (micélio reprodutivo). O micélio dos bolores é responsável pelo aspecto característico das colônias formadas,

podendo ser cotonosos, úmidos e gelatinosos (FRANCO *et al.*, 1996; GOCK *et al.*, 2003).

O desenvolvimento destes microrganismos pode determinar doenças infecciosas ou tóxicas, em vegetais e animais, incluindo o homem. A simples presença do fungo não é fator determinante de doença, a qual depende da relação parasita/hospedeiro (LACAZ *et al.*, 2002). Christensen & Kaufman, (1969), dividiram os fungos que invadem os grãos, vagens e sementes conforme suas necessidades de água em dois grupos ecológicos: fungos de campo e de armazenamento.

Os fungos de campo infectam o produto ainda no campo durante o crescimento, enquanto os fungos de armazenamento invadem durante o armazenamento ou estocagem. Para se desenvolverem, os fungos de campo requerem um teor de umidade em equilíbrio com umidade relativa entre 90-100%. Os principais gêneros são *Cephalosporium*, *Fusarium*, *Gibberella*, *Nigrospora*, *Helminthosporium*, *Alternaria* e *Cladosporium* que invadem grãos em geral durante o amadurecimento. Entretanto, excetuando-se o milho, quando armazenado com alto teor de umidade, tais fungos podem se desenvolver (MÁRCIA & LÁZZARI, 1998).

Em relação aos fungos de armazenamento, estes são representados pelos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, pois necessitam de teores de umidade mais baixos, entre 13 e 18%, e são considerados os principais agentes deteriorantes das sementes (CHRISTENSEN & KAUFMAN, 1969). O desenvolvimento de fungos nos queijos pode acarretar alterações nas características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais que, em alguns casos, podem comprometer a qualidade dos mesmos ocasionando perda de sabor, descoloração,

apodrecimento, formação de esporos patogênicos e alergênicos e também a produção de micotoxinas (FILTENBORG *et al.*, 1996; PERRY, 2004).

Os fungos filamentosos produzem uma imensa diversidade de metabólitos secundários, como pigmentos, antibióticos, fitotoxinas além de compostos tóxicos, denominados de micotoxinas (MOSS, 1991). As micotoxinas são formadas durante o crescimento dos mofo nos alimentos. Algumas estão presentes somente no mofo, enquanto que a maioria é excretada para o alimento (FILTENBORG, 1996).

2.1 *Aspergillus* spp.

Um dos principais gêneros fúngicos responsáveis nos casos de intoxicação por micotoxinas é o *Aspergillus* (OGA, 1996). Este gênero foi descrito pela primeira vez pelo botânico italiano Pier Antonio Micheli em 1729 (MACKENZIE, 1988). No que diz respeito a sua taxonomia, o *Aspergillus* spp. é agrupado a divisão *Deuteromycotina*, a classe *Hyphomycetes*, a ordem *Moniliales*, e a família *Moniliaceae*. Caracterizam-se pelo crescimento de colônias coloridas e brilhantes e por produzir conídios em cabeças típicas, do tipo “mop-like” (escovão) (PITT & HOCKING, 1997).

As espécies fúngicas de *Aspergillus* são microrganismos cosmopolitas, capazes de colonizar uma ampla variedade de substratos (LAFORET, 2008). De uma maneira geral, são frequentes em climas tropicais e subtropicais, comumente implicados na deterioração de alimentos (TANIWAKI & SILVA, 2001).

Aspergillus flavus e *A. parasiticus* compreendem duas das espécies mais importantes do gênero, e são frequentemente detectados em sementes de

amendoim. Apresentam colônias tipicamente verdes e amarelas-oliva, ainda que esporadicamente possam apresentar-se amarelas puras, tornando-se acinzentadas com o passar tempo (PITT & HOCKING, 1997).

Os conidióforos de *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus* surgem a partir de hifas vegetativas septadas. As fiáldes podem surgir diretamente de uma vesícula globosa (condição unisseriada) ou a partir da métula que envolve a superfície da vesícula (condição bisseriada). A vesícula, a métula quando presente, as fiáldes, e as cadeias de conídios compreendem a cabeça conidial, que no *A. parasiticus*, é predominantemente unisseriada, enquanto no *A. flavus*, a seriação é mais variável (KOKALIS-BURELLE *et al.*, 1997).

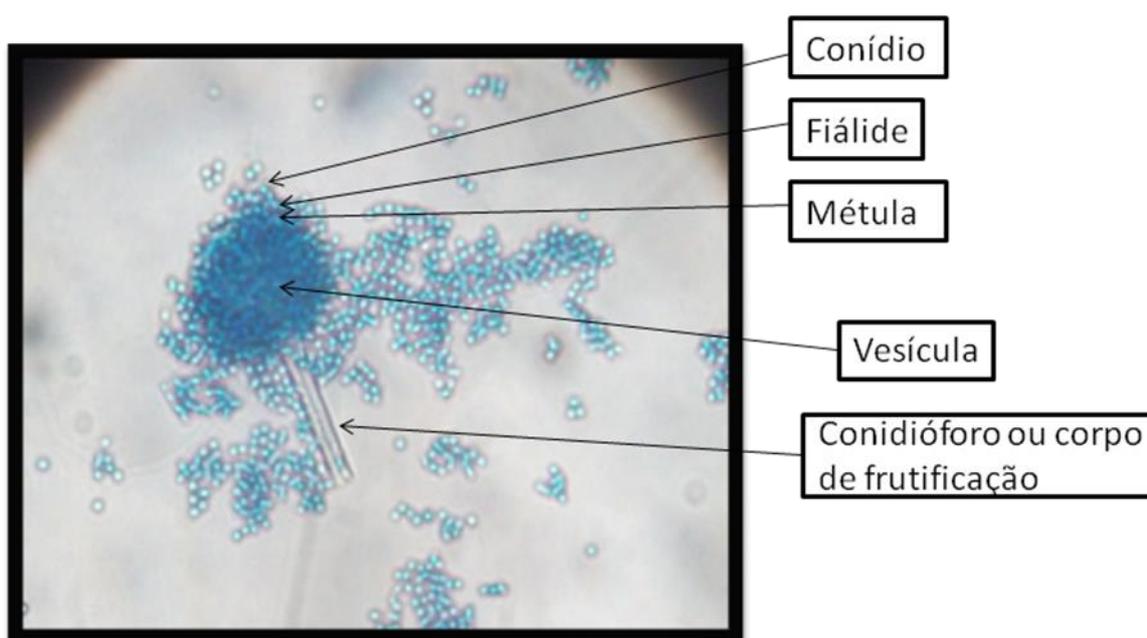


Figura 1. Imagem de microscopia óptica de *Aspergillus flavus*.

2.2 CONSERVANTES ANTIFÚNGICOS

O ácido benzóico, o ácido sórbico, a natamicina, o sulfeto de sódio e o tiabendazol estão entre os conservantes antifúngicos mais empregados em alimentos (NIELSEN & DE BOER, 2000). Entretanto, algumas espécies fúngicas apresentam resistência ao efeito preservativo do ácido sórbico e, além disso, podem metabolizar o conservante transformando-o em compostos que modificam o sabor em alguns tipos de queijos (FILTENBORG *et al.*, 1996).

3 MICOTOXINAS

Micotoxinas são metabólitos secundários resultantes do metabolismo normal de alguns fungos filamentosos que proliferam em alimentos e rações animais (BETINA, 1984). Estas auxiliam os fungos a serem mais competitivos dentro de seu nicho ecológico, mas não são necessárias para o crescimento e desenvolvimento de todas as espécies fúngicas (BUGNO, 2006).

O termo micotoxina deriva da palavra grega “mykes” que significa fungo e “toxicum” que significa veneno ou toxina. Quando produzidos em associação com alimentos, ração animal e forragens, os metabólitos tóxicos podem ser ingeridos pelo homem e animais, provocando as micotoxicoses (GONÇALEZ; PINTO; FELICIO, 2001). Mais de quatrocentas micotoxinas, conhecidas na atualidade, são produzidas por aproximadamente uma centena de fungos (DILKIN, 2002). Por sua vez, sabe-se que mais de vinte são comumente encontradas em alimentos e comprovadamente causam toxicidade a saúde humana (GEISEN, 1998).

De acordo com Mallozzi & Corrêa, (1998), fatores como a composição do substrato, temperatura, teor de água, umidade relativa do ar, atividade de água e linhagem do fungo contaminante, influenciam a produção de micotoxinas, sendo a composição do substrato e a umidade os mais importantes. A presença do fungo toxigênico no alimento não indica a presença da micotoxina. Logo, torna-se importante o conhecimento dos fatores que influenciam no crescimento do fungo e a produção de micotoxinas para utilização de métodos de controle (PARK & BULLERMEN, 1983).

1º artigo: artigo de resultados

SILVA, V. L. M.; CABRAL JUNIOR, C, R.; AMORIM, E. P. R.
**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E DE FUNGOS FILAMENTOSOS EM
QUEIJOS TIPO MANTEIGA PRODUZIDOS NO ESTADO DE ALAGOAS**

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E DE FUNGOS FILAMENTOSOS EM QUEIJOS TIPO MANTEIGA PRODUZIDOS NO ESTADO DE ALAGOAS

SILVA, V. L. M.; CABRAL JUNIOR, C, R.; AMORIM, E. P. R.

RESUMO

O leite constitui um excelente substrato que favorece o crescimento de fungos patogênicos oportunistas. O grande potencial deste alimento é dar origem a derivados, dentre os quais, os queijos tipo manteiga, que são amplamente consumidos na região Nordeste. Com base no exposto, o presente trabalho teve como objetivo a caracterização físico-química e da microflora epífita patogênica em queijos tipo manteiga, produzidos a partir de leite pasteurizado de vacas. O estudo aconteceu entre os meses de abril a agosto de 2011. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado. Foram coletadas amostras de aproximadamente 0,5 kg de cinco micro-usinas da região da zona da mata e sertão alagoano. Apenas uma marca não possui registro no Serviço de Inspeção Federal ou Estadual. Uma marca possui o selo do Serviço de Inspeção Federal e outras três marcas o selo do Serviço de Inspeção Estadual. As amostras das cinco marcas comerciais foram adquiridas diretamente em estabelecimentos comerciais, acondicionadas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável, transportadas para os Laboratórios de Controle e Qualidade de Alimentos – FANUT/UFAL e de Fitopatologia, Centro de Ciências Agrárias - CECA/UFAL, e mantidas em freezer a -18°C para posteriores determinações analíticas. Foram analisadas 5 marcas, sendo 4 repetições de cada marca, compreendendo 4 diferentes lotes, totalizando 20 amostras. Todas as análises foram realizadas em triplicata. Foram analisadas as variáveis físico-químicas, tais como: (pH, umidade, gordura nos sólidos totais, gordura, proteínas, cinzas e cloretos) e análises microbiológicas de contagem do número de unidades formadoras de colônias (UFC) e identificação dos patógenos nos queijos tipo manteiga. Os resultados revelaram que das cinco marcas analisadas, três apresentaram-se dentro dos padrões estabelecidos pela Instrução Normativa nº 30 quanto ao teor de umidade, porém, apenas duas atenderam os requisitos para o teor de gordura nos sólidos totais que deve variar entre 25% e 55%. A microbiota fúngica revelou que o gênero *Aspergillus* predominou em quatro marcas, sendo o *Aspergillus flavus* o mais frequente, identificado em três marcas. O gênero *Penicillium* foi identificado em duas marcas com as espécies *P. italicum* e *P. viridicatum*. O gênero *Fusarium* foi identificado apenas em uma marca com a identificação da espécie *F. semitectum*. Outros gêneros como *Geotrichum*, *Cladosporium*, e *Rhizopus* também foram identificados.

PALAVRAS-CHAVE: Queijo de manteiga, Análise físico-química, *Aspergillus flavus*.

ABSTRACT

The milk is an excellent substrate favors growth of opportunistic pathogenic fungi. The great potential of this food is to give origin to dairy products, among which, the like-butter cheese, widely consumed in the Brazilian Northeast. Based on that, this present study aimed to characterize the physicochemical and pathogenic epiphytic microflora in like-butter cheese made from pasteurized cow's milk. The study took place from April and August 2011. The experimental design was completely randomized. It was collected samples with about 0.5 Kg from five micro processings plants in the region of the rainforest and backwood area of Alagoas State. Only one brand is not registered in the Federal Inspection service or State. A brand has the seal of the Federal inspection service and three other brands the seal of the state Inspection service. The five brands samples were acquired directly in shops, packed in cool boxes containing ice packs, transported to the Laboratory Quality Control and Food – FANUT/UFAL and Plant Phytopathology, Agricultural Science Center – ECSC/UFAL, and maintained at -18°C for further analytical determinations. It was analyzed five brands, four replicates of each brand, comprising four different lots, totaling twenty samples. All analyzes were performed in triplicate. The physicochemical variables were analyzed (pH, moisture, fat in total solids, fat, protein, ash and chlorides) and microbiological count of the number of colony forming units (CFU) and identification of pathogens in like-butter cheese. The results revealed that among the five brands tested, three were within the standards established by Instruction No. 30 on the moisture content, but only two met the requirements for the level of fat in total solids should vary between 25% and 55%. The fungal flora revealed that the genus *Aspergillus* was predominant in four brands, *Aspergillus flavus*, the most frequent, identified in three brands. The genus *Penicillium* was found in two brands with the species *P. italicum* and *P. viridicatum*. The genus *Fusarium* has been identified only in one brand with the identification of the species *F. semitectum*. Other genres such as *Geotrichum*, *Cladosporium* and *Rhizopus* were also identified.

KEY-WORDS: Like-butter cheese, Physicochemical analysis, *Aspergillus flavus*.

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, a produção de leite aumentou cerca de 48% entre os anos de 1995 e 2005 (Programa de Estudos Dos Negócios do Sistema Agroindustrial – PENSA, 2007). Cerca de 20 milhões de litros de leite são produzidos aqui no Brasil e 60% é destinada a fabricação de queijos, ilustrando a importância social e econômica do produto (MONTEIRO; PIRES; ARAUJO, 2007).

O grande potencial deste alimento é a capacidade de dar origem a subprodutos, dentre eles, destaca-se o queijo, rico em proteínas de alto valor biológico, minerais, vitaminas e oligoelementos, existindo mais de 1.000 tipos em todo o mundo. São produzidos a partir de diferentes tipos de leites e diferentes processamentos que lhe confere formas, texturas, odores e sabores distintos (LÁCTEA BRASIL, 2006).

De acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 2001), entende-se por queijo de manteiga o produto obtido mediante coagulação do leite com emprego de ácidos orgânicos de grau alimentício, cuja massa é submetida à dessoragem, lavagem e fusão, com acréscimo exclusivamente de manteiga de garrafa ou manteiga da terra ou manteiga do sertão. Sendo classificado como um queijo com teor de gordura nos sólidos totais variando entre 25% e 55%, devendo apresentar um teor máximo de umidade de 54,9 % m/m.

No Nordeste do Brasil, praticamente, predomina a fabricação de queijos artesanais, do tipo Manteiga (AQUINO, 1983). Sendo um queijo de origem brasileira e um dos mais consumidos na região Nordeste, também é conhecido como requeijão do sertão, requeijão do nordeste e requeijão do norte. Esse tipo de queijo tem sido uma das alternativas para aproveitamento de leite nas

fazendas localizadas longe dos centros consumidores e laticínios. É um produto de fabricação simples e valor nutritivo indiscutível. No entanto, seu processamento na maior parte dos casos, ainda ocorre artesanalmente apresentando deficiências tecnológicas nas fases de fabricação, no armazenamento e na distribuição (CAVALCANTE; COSTA, 2005).

Em relação ao queijo de manteiga, alguns problemas são citados referentes à oxidação lipídica e à contaminação microbiana, principalmente, no que diz respeito ao desenvolvimento de bolores e leveduras como limitantes do tempo de vida útil do produto (FRANCO; ALMEIDA, 1992). Fungos de várias espécies são citados na literatura científica como agentes deteriorantes de queijo (FRANCO; LANDGRAF; DESTRO, 1999). O crescimento de mofo nos alimentos pode ocasionar algumas deteriorações, como pode-se citar a perda de sabor, descoloração, apodrecimento, produção de micotoxinas e formação de esporos patogênicos (FILTENBORG; FRISVAD; THRANE, 1996).

Micotoxinas são metabólitos secundários resultantes do metabolismo normal de alguns fungos filamentosos que proliferam em alimentos e rações animais (BETINA, 1984). Devido ao seu potencial efeito tóxico, a presença de micotoxinas em alimentos torna-se um grande perigo para a saúde humana e animal, causando significativo impacto na economia pelas perdas geradas na criação de animais e na produção de alimentos por causarem deterioração (VIVAN, 2002). Algumas micotoxinas estão presentes apenas no mofo, enquanto que a maioria é excretada para o alimento (FILTENBORG; FRISVAD; THRANE, 1996).

Os principais gêneros de fungos associados com a produção de micotoxinas são *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, e são largamente

distribuídos no ecossistema brasileiro (CORRÊA, 2000). Por sua vez, o gênero *Aspergillus* é um dos principais responsáveis nos casos de intoxicação por micotoxinas (OGA, 1996). Os fungos produtores de micotoxinas, em geral, só sintetizam tipos particulares. Estas, somente são produzidas em condições adequadas de pH, temperatura, umidade e injúria mecânica no produto, dependendo do tipo de substrato, somados aos fatores biológicos, como a susceptibilidade dos vegetais à infecção fúngica (PRIETA *et al.*, 1994).

Estudos sobre as características físico-químicas, sensoriais e microbiológicas do queijo de manteiga são escassos. Alguns fatores como a falta de padronização no processamento, precariedade das condições higiênico-sanitárias na fabricação, comercialização de queijos sem embalagens e em temperatura ambiente, fraude por adição de amido e de óleo vegetal em substituição à manteiga de garrafa são alguns dos problemas assinalados por ESCUDERO (1979), VENTURA (1987) e NASSU *et al.*, (2003). Tais problemas resultam em queijos com rancificação acelerada, perda de umidade, defeitos de sabor e textura, comprometendo assim suas características organolépticas. (ALMEIDA, 2008).

Face ao exposto, objetivou-se com esse estudo a caracterização físico-química e avaliar a presença de fungos filamentosos no queijo de manteiga comercializado no estado de Alagoas.

2. METODOS

2.1 Local

As amostras de queijo de manteiga foram adquiridas aleatoriamente durante o período de abril a agosto de 2011, em estabelecimentos comerciais do estado de Alagoas.

2.2 Material

Foram analisadas 5 marcas, sendo 4 repetições de cada marca, compreendendo 4 diferentes lotes de cada fabricante, totalizando 20 amostras coletadas. Apenas uma marca não possui registro no Serviço de Inspeção Federal ou Estadual. Uma marca possui o selo do Serviço de Inspeção Federal e outras três marcas o selo do Serviço de Inspeção Estadual. As amostras ao serem coletadas (aproximadamente 500g) foram identificadas, acondicionadas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável e transportadas para o Laboratório de Controle e Qualidade de Alimentos da Universidade Federal de Alagoas – UFAL e para o Laboratório de Fitopatologia, Centro de Ciências Agrárias-CECA/UFAL.

2.3 Análises Físico-químicas

As análises físico-químicas foram realizadas de acordo com a metodologia preconizada pelo Instituto Adolfo Lutz (2008).

2.3.1 Determinação do pH

O pH do queijo foi determinado em triplicata, utilizando pH-metro, previamente calibrado com as soluções tampão pH 7,0 e pH 4,0 e um eletrodo específico para queijos conforme (IAL, 2008).

2.3.2 Determinação da Umidade

Consiste na secagem de uma alíquota da amostra, a uma temperatura determinada (105°C), até massa constante e pesagem para determinação da perda de massa de umidade e voláteis. Foram colocadas cápsulas de porcelana identificadas na estufa durante uma hora a temperatura de 105°C, após esse período as cápsulas foram transferidas para um dessecador. Identificadas às cápsulas, seguiu-se com a pesagem em balança analítica. Pesou-se cerca de 5g da amostra diretamente nas cápsulas e em seguida, foi levada a estufa a 105°C/4horas. Transcorridos às 4 horas, as cápsulas foram transferidas para o dessecador para posterior pesagem. Para a obtenção de gordura nos sólidos totais (GST), realizou-se o cálculo com a seguinte fórmula:
$$\% \text{ sólidos totais} = 100 - \% \text{ umidade}$$
 (IAL, 2008).

2.3.3 Determinação da Gordura

A gordura foi determinada pelo método de Gerber - Van Gulik, que se fundamenta no ataque seletivo da matéria orgânica por meio do ácido sulfúrico, exceto a gordura, que é separada por centrifugação, auxiliada pelo álcool isoamílico (IAL, 2008).

2.3.4 Determinação de Proteína

As amostras foram analisadas quanto ao teor de proteína segundo o método de Kjeldahl, que consiste na determinação do nitrogênio total das amostras. No processo de digestão da amostra, em decorrência da ação do ácido sulfúrico, o carbono é liberado como gás carbônico e o hidrogênio como água. O nitrogênio é transformado em NH_3 e fixado sob a forma de sal amoniacal (sulfato de amônia). Na destilação, a solução concentrada de hidróxido, libera a amônia que é destilada e recebida em uma solução de ácido bórico, de título conhecido, com indicador adequado e em seguida, titulado com solução ácida. O fator de conversão utilizado para a obtenção de proteínas em porcentagem foi 6,38, o qual se multiplica pelo valor de nitrogênio total (LANARA, 1981).

2.3.5 Determinação das Cinzas

Foi determinada pela eliminação da matéria orgânica, sendo o produto incinerado a temperatura de $550^\circ\text{C}/4$ horas em estufa tipo mufla. O produto obtido denomina-se resíduo mineral fixo (IAL, 2008).

2.3.6 Determinação de Cloretos

Foram determinados a partir das cinzas. Os cloretos são precipitados sob a forma de cloreto de prata, em pH levemente alcalino em presença do cromato de potássio usado como indicador. O final da titulação é visualizado pela formação do precipitado vermelho tijolo de cromato de prata (IAL, 2008).

2.4 Análises Microbiológicas

2.4.1 Local

As amostras de queijo de manteiga foram adquiridas aleatoriamente durante o período de abril a agosto de 2011, em estabelecimentos comerciais do estado de Alagoas. As amostras ao serem coletadas (aproximadamente 500g) foram identificadas, acondicionadas caixas isotérmicas contendo gelo reciclável e transportadas para o laboratório de microbiologia de alimentos da Universidade Federal de Alagoas - UFAL.

2.4.2 Preparo da amostra

Para essa análise, foram retiradas amostras dos queijos, de várias partes dos mesmos, de maneira a se obter uma amostragem uniforme. Pesou-se 25g da amostra em saco de Stomacher e adicionou-se 225mL de água peptonada.

2.4.3 Determinação microbiológica

Foi realizada determinação de bolores de acordo com *Compendium of methods for the microbiological examination of foods* (1992).

2.4.4 Identificação e isolamento dos fungos

A identificação de fungos foi realizada de acordo com o método descrito no *Compendium of methods for the microbiological examination of foods* (1992), sendo utilizado o método de contagem padrão em placas. As amostras foram semeadas em meio Ágar DRBC (Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol).

O DRBC contém cloranfenicol, que inibiu o crescimento de bactérias, além de dicloran e rosa bengala, que restringiu o espalhamento das colônias dos fungos (SILVA *et al*, 2007). Foram preparadas diluições de 10^{-1} até 10^{-5} com o meio DRBC. As placas foram incubadas em temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) durante sete dias.

Após crescimento, as colônias foram selecionadas para preparo de lâminas para posterior visualização em microscopia direta, utilizando-se água destilada e/ou azul de metileno, como corante. Desta forma, podem-se observar as estruturas morfológicas dos fungos. Os fragmentos também foram observados sob microscopia direta e as estruturas comparadas com as descritas em publicação especializada. Os fungos foram identificados em nível de gênero e espécie, com base nas chaves de Barnett & Hunter (1987), Pitt (1985), Rappe & Felmei (1977). As amostras que não foram identificadas foram selecionadas para a realização de microculturas.

2.4.5 Características morfológicas das estruturas após microculturas

Os fungos não identificados no primeiro momento foram caracterizados morfolologicamente após a realização de microculturas, que consiste em placas de Petri, forradas com papel de filtro e um suporte de vidro, sobre o qual foram colocadas lâminas e lamínulas, sendo o conjunto esterilizado em autoclave a 120°C durante 20 minutos.

Com o auxílio de uma alça de platina, pequenos fragmentos de crescimento fúngico foram inoculados em quatro pontos laterais de um bloco de meio Ágar DRBC ($\pm 1\text{cm}^2$), previamente colocado sobre a lâmina, cobrindo-se em seguida com a lamínula. O papel de filtro foi umedecido com água

destilada esterilizada, incubando-se as microculturas em temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$), por 48 - 72 horas. Após este período procedeu-se a retirada da lamínula com o auxílio de uma pinça, colocando-a sobre uma lâmina, contendo o corante azul de metileno e/ou água destilada e as estruturas formadas, observada ao microscópio óptico.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análises físico-químicas

Os resultados das análises físico-químicas dos queijos de manteiga estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Resultados das análises físico-químicas do queijo de manteiga.

Determinação	A	B	C	D	E
pH	5,47	5,34	5,20	4,92	5,09
Gordura (%)	29,19	32,15	17,19	13,00	22,42
Umidade (%)	35,38	25,13	45,82	47,89	41,96
GST (%)	64,62	74,87	54,18	52,11	58,04
Proteínas (%)	21,80	21,53	25,72	30,86	25,98
Cinzas (%)	2,29	2,23	2,07	2,47	2,03
Cloretos (%)	0,82	1,33	0,80	1,14	0,85

GST= Gordura nos Sólidos Totais

Conforme o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (BRASIL, 2001), o queijo de manteiga é classificado como um queijo com teor de gordura nos sólidos totais variando entre 25% e 55%, quanto ao teor de umidade, como Queijo de Média até Alta Umidade, devendo, dessa forma, apresentar um teor máximo de umidade de 54,9% m/m. De acordo com a Tabela 1, é possível verificar que apenas as amostras C e D estão dentro dos padrões estabelecidos quanto ao teor de gordura nos sólidos totais. Referente ao teor

de umidade, todas as amostras encontram-se dentro dos padrões estabelecidos pela Instrução Normativa nº 30, de 26 de junho de 2001.

Jassen-escudero & Rodriguez-amaya (1981) e Nassu *et al.*, (2003), estudaram a composição química do queijo de manteiga e mostraram que a variação é grande, principalmente para umidade e gordura. Os autores supracitados encontraram valores de umidade de com variação de 42,2 a 50,8% e 39,57 a 64,97%, respectivamente. Tais resultados quando confrontados com os achados no presente estudo, aproximam-se dos valores obtidos nas marcas A, C, D e E, que variaram entre 35,38 a 47,89%. A marca B evidencia-se devido ao resultado 25,13%, abaixo das demais. Já Escudero (1979), encontrou a seguinte variação na umidade, 49,92 a 53,70 % que superam os valores encontrados neste estudo.

Com relação ao teor de gordura, Jassen-Escudero & Rodriguez-Amaya (1981), encontraram valores de 11,5 a 16,6%, e enquanto Nassu *et al.*, (2003), encontraram valores que variaram de 11,57 a 33,67%. Isto foi atribuído à variação da quantidade de manteiga de garrafa adicionada no processamento desse queijo. Estes valores aproximam-se aos obtidos no presente estudo, com variação entre 13 a 32,15%.

Observou-se também que a adição de sal não era padronizada entre as amostras de Nassu *et al.*, (2003) e Jassen-Escudero & Rodriguez-Amaya (1981), variando entre 0,71 a 1,95% e 1,47 a 2,00%, respectivamente. Semelhantemente a variação 0,80 a 1,33% encontradas neste estudo.

Escudero (1979) encontrou valores de cinzas que superaram aos achados do presente estudo, com variação de 2,48 a 3,46%, enquanto que no

atual estudo a variação encontrada foi de 2,03 a 2,47%. Diferentemente da disparidade nos valores que Nassu *et al.*, (2009) encontraram, 1,79 a 3,20%.

Em outro estudo, Guerra (1995) encontrou valores de pH entre 5,9 e 6,0 para as amostras analisadas. Enquanto que Nassu *et al.*, (2009), encontrou uma variação de pH de 5,47 a 6,19%. Por sua vez, tais resultados são superiores aos achados nesse estudo, 4,92 a 5,47%.

Nassu *et al.*, (2009) também analisou o teor de proteínas e gordura nos sólidos totais (GST), e os valores variaram de 19,87 a 27,74% e 15,59 a 45,95%, respectivamente. Estes valores aproximam-se aos do presente estudo, que variou de 21,53 a 30,86% para proteínas, porém em contrapartida, diferencia-se quanto ao (GST) que obteve valores de 52,11 a 74,87%. As divergências de valores encontrados nesses estudos sugerem a falta de padronização no processamento do queijo de manteiga.

3.2 Isolamento de fungos

Na Tabela 2, os resultados obtidos nesse estudo permitem observar a grande variedade de gêneros e espécies de fungos nas amostras analisadas.

Tabela 2. Resultados das análises de bolores e identificação fúngica do queijo de manteiga.

Marcas	UFC/g	Espécies fúngicas
A	$2,8 \times 10^5$	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Geotrichum</i> sp, <i>Penicillium italicum</i>
B	$1,5 \times 10^4$	<i>A. flavus</i> , <i>Cladosporium</i> sp
C	$3,1 \times 10^3$	N/I
D	$2,0 \times 10^6$	<i>Aspergillus</i> sp, <i>Fusarium semitectum</i> , <i>Geotrichum</i> sp, <i>P. viridicatum</i> , <i>Rhizopus</i> sp
E	$1,1 \times 10^5$	<i>A. flavus</i> , <i>Geotrichum</i> sp

UFC/g= Unidade Formadoras de Colônias por grama
N/I – Não identificado

Conforme a Tabela 2, os resultados obtidos na contagem de bolores variaram de $3,1 \times 10^3$ a $2,0 \times 10^6$ UFC/g. Tais valores, são superiores aos achados por GARCIA *et al.*, (2009), que obtiveram resultados que variaram de $2,5 \times 10^2$ a $2,8 \times 10^4$ UFC/g. Entretanto, menores que os achados por Feitosa *et al.* (2003), que encontraram valores para a contagem de bolores entre $1,5 \times 10^4$ a $2,8 \times 10^8$ UFC/g nas amostras de queijo de manteiga. No presente estudo, a contagem elevada de bolores em todas as marcas, sugere um processamento sob condições higiênicas insatisfatórias, diminuindo a

qualidade e a vida de prateleira do produto, uma vez que bolores e leveduras são potenciais deteriorantes de derivados lácticos.

Foi observado microscopicamente que as cinco marcas estavam contaminadas por fungos, no entanto, apenas uma marca não foi possível ser realizada a identificação. Entre as espécies de fungos isoladas, *Aspergillus flavus* predominou em todas as amostras que houve contaminação. Em um estudo realizado por Viana *et al.*, (2009), também encontraram *Aspergillus flavus*, todavia, entre as espécies de fungos isoladas, *Penicillium citrinum* foi a espécie identificada com maior frequência nos queijos seguido de *Penicillium paxilli*. Já no presente trabalho, gênero *Penicillium* esteve presente nas marcas A e D com as espécies identificadas *Penicillium italicum* e *P. viridicatum* respectivamente.

Viana *et al.*, (2009) também encontraram *Fusarium oxysporum*, enquanto que neste trabalho, a espécie *Fusarium semitectum* foi identificado apenas na marca D. O gênero *Geotrichum* foi identificado nas marcas A, D e E. Já os gêneros *Cladosporium* e *Rhizopus* foram identificados apenas em uma marca, sendo elas respectivamente, B e D.

4. CONCLUSÃO

A partir dos resultados físico-químicos obtidos nesse estudo, pode-se concluir que os queijos de manteiga apresentam variabilidade de características. Somente duas marcas apresentam totalmente níveis plausíveis quanto aos padrões estabelecidos pela legislação vigente.

A contagem de bolores apresentou valores elevados de UFC/g nas cinco marcas pesquisadas. Observou-se, além disso, a predominância da espécie fúngica *Aspergillus flavus* em três marcas. Dessa maneira, tais resultados corroboram a necessidade de implementar um sistema de boas práticas de fabricação nas indústrias de laticínios.

REFERÊNCIAS

AQUINO, F. T. M. **Produção de queijo de Coalho no estado da Paraíba: acompanhamento das características físico-químicas do processamento.** João Pessoa, 1983. 81p. Tese (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal da Paraíba.

ALMEIDA, A.P.N. **Efeito do ph na Qualidade do Queijo de Manteiga.** Dissertação de Mestrado em Tecnologia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP, Brasil. 2008.

Barnett HL, Hunter BB. **Illustrated genera of imperfect fungi.** MacMillan Publishing Company. 1987.

BAKIRCI, I. **A study on the occurrence of a aflatoxin M1 in milk and milk products produced in Van province of Turkey.** Food Control, v. 12, p. 47-51, 2001.

BETINA, V. Citrinin and related substances. In: V. Betina (Ed). **Mycotoxins, Production, Isolation, Separation and Purification.** Elsevier, Sci. Publ. Co. Inc., New York, p. 3-236. 1984.

BRASIL, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 30, de 26 de junho de 2001. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijo de Manteiga.** Brasília: Diário Oficial da União – D.O.U., de 16 de julho de 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. LANARA.** Métodos analíticos oficiais para o controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. II. Métodos físicos e químicos. Brasília, 1981.

CAVALCANTE, A. B. D.; COSTA, J. M. C. **Padronização da Tecnologia de Fabricação do Queijo de Manteiga.** Revista Ciência Agronômica. v. 36, n. 2, p. 215-220, mai/ago. 2005.

CORRÊA, B. Fungos Toxigênicos: Panorama nacional. In: SCUSSEL, V. M. (Ed.) **Atualidades em Micotoxinas e Armazenagem de grãos.** Florianópolis, Santa Catarina, 2000, p. 163-168.

ESCUADERO, C. F. **Estudos do requeijão do norte, composição, qualidade e comportamento durante a estocagem.** 1979. (Dissertação de mestrado). Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola. Universidade Estadual de Campinas.

FEITOSA, T.; BORGES, M. F.; NASSU, R. T.; AZEVEDO, E. H. F.; MUNIZ, C. F. **Pesquisa de *Salmonella* sp., *Listeria* sp. e Microrganismos Indicadores Higiênico-Sanitários em Queijos Produzidos no Estado do Rio Grande do Norte.** *Ciência e Tecnologia dos Alimentos*, Campinas, 23, p.162-165, dez. 2003.

FILTENBORG, O., FRISVAD, J.C, THRANE, U. **Moulds in Food Spoilage.** *International Journal of Food Microbiology*. n33, p. 85-102, 1996.

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

FRANCO, B.D.G.M., LANDGRAF, M.; DESTRO, M. T. **Microbiologia de alimentos.** São Paulo: Atheneu, 1999, 298p.

GARCIA, ALB. ROCHA, LCS; FAUSTINO, MVS; BEZERRA, AMS. **ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DO QUEIJO DE MANTEIGA COMERCIALIZADO NO MUNICÍPIO DE CURRAIS NOVOS-RN.** Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte, 2009.

GUERRA, T.M.M. **Influência do sorbato de potássio sobre a vida útil do queijo manteiga (requeijão do norte).** 1995. 59p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos.** Coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz; 2008.

JAY J.M. **Microbiologia Moderna de los Alimentos.** Espanha: Ed. Acribia;1992. 804p.

JASSEN-ESCUADERO, C.; RODRIGUEZ-AMÁYA, D.B. **Composition of the Brazilian cheese “Requeijão do Norte”.** *Journal of Food Science*, Chicago, v.46, n.3, p.917-919, 1981.

LÁCTEA BRASIL. **Queijo: Alimento nobre e saudável.** Julho de 2006. Disponível em: <www.lacteabrasil.org.br> Acesso em: 10 out. 2011.

MENEZES, M. & SILVA-HANLIN. **Guia prático para fungos fitopatogênicos.** Recife – PE. UFRPE. 1997.

MONTEIRO, A. A.; PIRES, A. C. S.; ARAUJO, Emiliane Andrade. **Tecnologia de Produção de Derivados do Leite.** Viçosa: UFV, 2007.

NASSU, R. T.; LIMA, J. R.; ANDRADE, A. S. A. **Caracterização físico-química e análise sensorial de queijo de manteiga produzido no Rio Grande do Norte.** Rev. Ciênc. Agron., v. 40, n.1 p. 54-59, jan-mar, 2009.

NASSU, R.T.; ARAÚJO. R.S.;GUEDES, C.G.M.; ROCHA, R.G.A. **Diagnóstico das Condições de Processamento e Caracterização Físico-Química de Queijos Regionais e Manteiga no Rio Grande do Norte.** Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza-CE, 2003.

NORDIN, N.; LUCHESE, R. H. **Deteção de aflatoxina e zearalenona em milho (Zeamays), destinado à alimentação animal.** Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia dos Alimentos, v. 32, n. 1, p. 35-39, 1998.

OGA, S. **Fundamentos de toxicologia.** 2.ed. São Paulo: Atheneu, 1996. 474p.

PENSA, PROGRAMA DE ESTUDOS DOS NEGÓCIOS DO SISTEMA AGROINDUSTRIAL. **Mapeamento da Cadeia do Leite – 2005.** Disponível em: <[HTTP://www.fundacaofia.com.br/pensa](http://www.fundacaofia.com.br/pensa)> Acesso em: 18 set. 2010.

PERAICA, M.; RADIC, B.; LUCIC, A.; PAVLOVIC, M. **Efecitos tóxicos de las micotoxinas en el ser humano.** Boletín de la Organización Mundial de la Salud. Reconpilación de artículos, nº 2, p.80-91, 2000.

PITT J, HOCKING A. **Fungi and food spoilage.** An Aspen publication. 2nd ed.1999; p.387- 383.

PRIETA, J.; MORENO, M.A.; DÍAZ, S.; SUÁREZ, G.; DOMÍNGUEZ, L. **La patulina como indicador de calidad en productos elaborados con manzana.** Alimentaria, p.75-80, 1994.

RAPPE K.B & FEMEL D.I. **The genus *Aspergillus***. New York: Robert E.K. 1977; 68p.

VENTURA, R.F. Requeijões **do Nordeste: tipos e fabricações**. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora, v.42, n. 254, p.3-21, 1987.

VIANA, F. R.; PRADO, G.; OLIVEIRA, M. S.; ROSA, C. A.; OLIVEIRA, A. L. **Pesquisa de fungos e aflatoxina M1 em requeijão do norte comercializado em Belo Horizonte-MG**. In: XVI Encontro Nacional e II Latino Americano de Analistas de Alimentos, 2009, Belo Horizonte - 19 a 23/07. Alimento Seguro: Desafios da Intersetorialidade. São Paulo: SBAAL, 2009.

VIVAN, J. **Produção da Micotoxina Citrinina por *Penicillium* spp.** Dissertação de Mestrado em Microbiologia Agrícola na Universidade Federal de Viçosa, MG. 2002.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Baseado nos dados concernentes às características físico-químicas, o queijo de manteiga do estado de Alagoas não apresenta uma padronização, sobretudo na metodologia do processamento. Com relação aos resultados das análises microbiológicas, torna-se importante definir estratégias de ações com vistas às adequações das unidades produtoras e dos manipuladores com a implementação de APPCC e BPF, para dessa maneira alcançar níveis de qualidade mais seguros e que atendam padrões legais.

Essas informações são importantes na perspectiva da criação de uma normatização do queijo de manteiga. Contudo, se faz necessário que mais pesquisas sejam realizadas.

ALMEIDA, APN. **Efeito do ph na Qualidade do Queijo de Manteiga.** Dissertação de Mestrado em Tecnologia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP, Brasil. 2008.

BETINA, V. **CITRININ AND RELATED SUBSTANCES.** In: V. Betina (Ed). **Mycotoxins, Production, Isolation, Separation and Purification.** Elsevier, Sci. Publ. Co. Inc., New York, p. 3-236. 1984.

BUGNO, A. **Drogas vegetais: avaliação da contaminação microbiana e pesquisa de aflatoxinas, ocratoxina A e citrinina,** 2006. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, São Paulo.

CAVALCANTE, A. B. D.; COSTA, J. M. C. **Padronização da Tecnologia de Fabricação do Queijo de Manteiga.** Revista Ciência Agronômica. v. 36, n. 2, p. 215-220, mai/ago. 2005.

CAVALCANTE, MPC. **Ocorrência de fungos e identificação de espécies toxigênicas em vagens de algarroba (*Prosopis juliflora*) (SW) D.C.).**[Dissertação de Mestrado].Recife, Pernambuco: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 1998.

CHRISTENSEN, CM, KAUFMANN, HH. **Grain storage the role of fungi in quality loss.** Minneapolis. University of Minnesota Press. 1969; 470.

CORRÊA, B. **Fungos Toxigênicos: Panorama nacional.** In: SCUSSEL, V. M. (Ed.) **Atualidades em Micotoxinas e Armazenagem de grãos.** Florianópolis, Santa Catarina, 2000, p. 163-168.

DILKIN, P. **Micotoxicose suína: aspectos preventivos, clínicos e patológicos.** O Biológico, São Paulo, v. 64, n. 2, p. 187-191, 2002.

ESCUADERO, C.J. **Estudos do Requeijão do Norte: Composição, qualidade e comportamento durante a estocagem.** Campinas, 1979.90p. Dissertação (mestrado)-Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola, Universidade Estadual de Campinas.

FILTENBORG, O., FRISVAD, J.C, THRANE, U. **Moulds in Food Spoilage.** International Journal of Food Microbiology. n33, p. 85-102, 1996.

FRANCO, B.D.G.M., LANDGRAF, M.; DESTRO, M. T. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1999, 298p.

FRANCO, B.D.G.M. LANDGRAF, M. **Microbiologia de Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. 182p.

GEISEN, R. **PCR Methods for the Detection of Mycotoxin – producing Fungi**. In: P.D Bridge, D.K Arora, C.A Reddy and R.P Elander (eds) Applications of PCR in Mycology, CAB International, p. 243-266. 1998.

GOCK, M.A. *et al.* **Influence of Temperature Water Activity and pH Growth of Some Xerophilic Fungi**. International Journal Food Microbiology, Amsterdam v. 248, p. 11-19, 2003.

GONÇALEZ, E.; PINTO, M. M.; FELICIO, J. D. Análise de micotoxinas no Instituto Biológico de 1989 a 1999. **O Biológico**, v. 63, n. 1/2, p. 15-19, 2001.

KOKALIS-BURELLE, N; PORTER, D. M.; RODRÍGUEZ-KÁBANA, R.; SMITH, D. H.; SUBRAHMANYAM, P. **Compendium of peanut diseases**. 2. Ed. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1977. 94 p.

LACAZ, C.S.; PORTO, E.; HEINS-VACCARI, E.M.; MELO, N.T. **Tratado de micologia médica**. 9.ed. São Paulo: Sarvier, 2002. 1104 p.

LAFORET, E. P. **El género *Aspergillus*: Métodos, claves y referencias actuales para las especies comunes em clínica y em ambientes diversos**. Boletín Micológico, v. 23, 2008.

MACKENZIE, D. W. R. **Keynote lecture: *Aspergillus* in man**. In: VANDEN BOSSCHE, H.; MACKENZIE, D. W. R.; CAUWENBERGH, G. (Ed). ***Aspergillus* and Aspergillosis**. New York: Plenum Press, 1988. p. 332.

MALLOZZI, A.B. & CORRÊA, B. **Fungos Toxigênicos e Micotoxinas**. Bol. Técn. Inst. Biol., São Paulo, n.12, p.5 – 26, 1998.

MARCIA, B. A.; LAZZARI, F. A. **Monitoramento de fungos em milho em grão, grits e fubá**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 18, n. 4, Oct. 1998.

MOSS, M.O. **Economic importance of mycotoxins-recent incidence in the United States.** Anim Sci, v.27, p. 3941- 3949, 1991.

NASSU, R. T.; ARAÚJO. R. S.; GUEDES, C. G. M.; ROCHA, R. G. A. **Diagnóstico das Condições de Processamento e Caracterização Físico-Química de Queijos Regionais e Manteiga no Rio Grande do Norte.** Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza-CE, 2003.

NIELSEN, P.V.; DE BOER, E. **Food preservatives against fungi.** In: SAMSON, R.A.; HOEKSTRA, E.S.; FRISVAD; J.C.; FILTENBORG, O. **Introduction to food and airborne fungi.** 6th.ed. Utrecht: Centraal Bureau Voor Schimmelcultures, 2000. 357-363p.

OGA, S. **Fundamentos de toxicologia.** 2.ed. São Paulo: Atheneu, 1996. 474p.

OLIVEIRA, M.S. **Validação de metodologia analítica para análise de aflatoxina M₁ e sua ocorrência em leite bovino comercializado no sul do Brasil.** Dissertação de mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria,RS, Brasil. 2010.

PARK ,K.Y.; BULLERMAN, L.B. **Effect of cycling temperatures on aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* and *Aspergillus flavus* in rice and cheddar cheese.** Journal of Food Science, Chicago, v.48, p.889-896, 1983.

PERAICA, M.; RADIC, B.; LUCIC, A.; PAVLOVIC, M. **Efectos tóxicos de las micotoxinas en el ser humano.** *Boletín de la Organización Mundial de la Salud.* Recompilación de artículos, nº 2, p.80-91, 2000.

PERRY, K. S. O. **Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos.** *Química Nova*, v. 27, nº2, p. 293-300, 2004.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and Food Spoilage.** 2.ed. Gaithersburg: Aspen Pub. Inc.,1999.

PITT, J. L.; HOCKING, A. D. **Fungi and Food Spoilage.** London: Blackie Academic Professional, 1997. 593 p.

SABINO, M.; LAMARDO, L.C.A.; INOMATA, E.I.; ICHIKAWA, A.H.; GIANNATTASIO, C.M.P. **Ocorrência de aflatoxina B1 em produtos alimentícios e rações animais consumidos no estado de São Paulo e em várias regiões do Brasil, no período de 1980 a 1987.** Ver. Inst. Adolfo Lutz, v. 48, p. 81-5, 1988.

TANIWAKI, M.H.; SILVA, N. da. **Fungos em Alimentos: ocorrência e detecção.** Campinas: Núcleo de Microbiologia/ITAL, 2001. 82 p.

VENTURA, R.F. **Requeijões do Nordeste: tipos e fabricações.** Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora, v.42, n. 254, p.3-21, 1987.