



Análise microbiológica e teor de Nitrito e Nitrato em queijos

Microbiological analysis and Nitrite and Nitrate content in cheese

F. Scherer Adami^{1*}; E. Weizenmann²; G. Altenhofen³; S. Morelo Dal Bosco⁴; E. Conceição Oliveira⁵

¹Departamento de Nutrição, Centro Universitário UNIVATES. CEP: 95900-000, Lajeado, Rio Grande do Sul, Brasil.

²Departamento de Nutrição, Centro Universitário UNIVATES. CEP: 95900-000, Lajeado, Rio Grande do Sul, Brasil.

³Departamento de Química Industrial, Centro Universitário UNIVATES. CEP: 95900-000, Lajeado, Rio Grande do Sul, Brasil.

⁴Departamento de Nutrição, Centro Universitário UNIVATES. CEP: 95900-000, Lajeado, Rio Grande do Sul, Brasil.

⁵Departamento do Programa de Pós-graduação em Ambiente, Desenvolvimento, Ensino e Ensino de Ciências Exatas, Centro Universitário UNIVATES. CEP: 95900-000, Lajeado, Rio Grande do Sul, Brasil.

*fernandascherer@univates.br

(Recebido em 08 de setembro de 2015; aceito em 16 de novembro de 2015)

Objetivo: Analisar a quantidade de coliformes termotolerantes, *Salmonella*, *Staphylococcus coagulase positiva*, os teores de nitritos e nitratos, pH e atividade de água, em queijos tipo prato e colonial, com Inspeção Municipal e Estadual do Vale do Taquari-RS. Material e Métodos: Os teores residuais de nitratos e nitritos, pH e atividade de água das amostras foram realizados segundo as metodologias analíticas oficiais previstas na Instrução Normativa nº 20, de 21 de julho de 1999 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. As análises microbiológicas foram realizadas em um laboratório certificado no Ministério da Agricultura. Resultados: Das 24 amostras de queijos 18,2% apresentaram coliformes termotolerantes acima da legislação com Inspeção Municipal e 61,5% das amostras com Inspeção Estadual. O *Staphylococcus coagulase positiva* não foi encontrado em nenhuma das amostras com Inspeção Municipal, e em 46,2% com Inspeção Estadual. A *Salmonella* não foi encontrada em nenhuma amostra. As concentrações de nitrato e nitrito encontradas acima do recomendado pela legislação nas amostras foram de 33,3% e 100%, respectivamente. Conclusão: Concluiu-se que as amostras de queijo produzidas sob Inspeção Estadual apresentaram resultados mais preocupantes em relação à contaminação por *Staphylococcus coagulase positiva* e coliformes termotolerantes quando comparados à Inspeção Municipal. A totalidade das amostras analisadas apresentaram concentrações acima do recomendado pela legislação para nitrito e mais de um terço apresentou-se não conforme em relação a concentração de nitrato. Em relação à atividade de água e o pH, a maioria das amostras encontrou-se de acordo com o preconizado pela legislação.

Palavras-Chave: queijo, análise microbiológica, nitrito de sódio.

Objective: This study aimed to analyze the amount of thermotolerant coliforms, *Salmonella*, *Staphylococcus coagulase positive*, nitrite and nitrate content, pH and water activity, in cheese type prato and colonial, with municipal and state inspection from Taquari Valley - RS. Materials and Methods: The residual levels of nitrates and nitrites, pH and water activity of the samples were performed using the official analytical methodologies under the Normative Instruction No. 20, dated July 21, 1999 of the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply. Microbiological analyzes were performed in a certified laboratory in the Ministry of Agriculture. Results: Of the 24 cheese samples 18.2% had thermotolerant coliforms above the law with Municipal Inspection and 61.5% of the samples with the State Inspection. The *Staphylococcus coagulase positive* was not found in any of the samples with Municipal Inspection, and 46.2% with State Inspection. *Salmonella* was not found in any sample. The levels of nitrites and nitrates were presented respectively by 33.3% and 100% above the upper limit of the total samples. Conclusion: It was concluded that the cheese samples produced with state inspection results showed more concern regarding contamination by *Staphylococci coagulase positive* and thermotolerant coliforms compared with Municipal Inspection. In this study, it was concluded, therefore, that all the samples showed concentrations above recommended for legislation to nitrite and over one third are not presented as relative concentration of nitrate. In relation to water activity and pH, most of the samples met according to the criteria of the legislation.

Keywords:cheese, microbiological analysis, sodium nitrite .

1. INTRODUÇÃO

Os sais de nitrito e nitrato de sódio e potássio são utilizados na indústria como conservantes responsáveis por evitar a proliferação de microrganismos ou de enzimas que possam provocar transformações químicas capazes de causar alterações graves nos alimentos. Além disso, são capazes de agregar cor e sabor e de atuarem como antioxidantes [1,2].

Os nitratos são relativamente pouco tóxicos para os seres humanos. Sua toxicidade é atribuída principalmente a sua redução a nitrito. Os nitritos podem reagir com as aminas e amidas secundárias e terciárias, provenientes de reações químicas que ocorrem no próprio queijo, formando compostos nitrosos como as nitrosaminas e nitroamidas, com grande potencial carcinogênico. Além disso, a ingestão excessiva de nitrito e nitrato na dieta pode ocasionar efeitos nocivos, com a formação de metemoglobinemia (síndrome do bebê azul), que é produzida por oxidação da hemoglobina pelo nitrito, sendo as crianças mais suscetíveis a essa síndrome [3].

O uso de sais de nitrato em alimentos como os queijos depende do pH, teor de sal e umidade, além do nível de contaminação inicial do leite [4]. Conforme a Portaria nº 143/96 entende-se por queijo o produto fresco ou maturado que se obtém por separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado), ou de soros lácteos, coagulados pela ação física do coalho, de enzimas específicas, de bactérias específicas, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e/ou especiarias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes [5].

No Brasil, o queijo Prato é um dos queijos mais consumidos, segundo a Associação Brasileira de Queijos (ABIQ). Esse produto é regulamentado pela Portaria nº 358 de 04 de setembro de 1997, que o classifica como queijo gordo de média umidade. Já o queijo colonial pode ser classificado como queijo magro a semi-gordo, segundo a Portaria nº 146 de 07 de março de 1996, baseando-se no regulamento técnico de identidade e qualidade de queijos. Com relação à umidade, os queijos coloniais apresentam níveis baixos segundo a mesma portaria [5].

Os queijos são suscetíveis à deterioração, resultando em perdas econômicas para a indústria queijeira [6]. A maior parte dos defeitos dos queijos e a perda da sua qualidade industrial provêm da atividade bioquímica ou de algumas bactérias formadoras de gás ou de microrganismos que comprometem a qualidade do alimento [7]. Entre os defeitos do queijo, está o estufamento tardio, sendo na maioria das vezes causado por *Clostridium tyrobutyrium* [8] fermentador do lactato [9], produzindo na massa ácido butírico, gás carbônico e hidrogênio [10].

A Portaria nº 146, de 1996, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), permite o limite máximo de 50 mg/kg de nitrato de sódio ou potássio, isolados ou combinados e a ausência de nitritos [5], a fim de retardar o desenvolvimento de bactérias patogênicas [3]. Sabe-se que a ação preventiva contra as bactérias butíricas se deve ao nitrito, e não ao nitrato. Para ocorrer a redução do nitrato a nitrito no queijo é necessária a ação da enzima xantina oxidase, a qual é inativada se o leite for aquecido a temperaturas superiores a 80°C por 10 segundos, não reduzindo o nitrato, o que não impede a fermentação butírica.

De acordo com a legislação, os queijos devem ser inspecionados por órgão governamental, em todas as fases, começando pela propriedade rural, onde o leite ou queijo caseiro é obtido, até as indústrias e os locais onde são expostos ao consumo [11]. Porém, 46% de toda a produção brasileira de leite é comercializada sem qualquer tipo de fiscalização oficial [12].

No Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos, a RDC nº 12/01 da ANVISA, uma Doença Transmitida por Alimento (DTA) é causada pela ingestão de um alimento contaminado por um agente infeccioso específico ou pela toxina por ele produzida, por meio da transmissão desse agente ou de seu produto tóxico [13].

É de suma importância certificar que o queijo esteja livre de agentes microbianos patogênicos, como coliformes termotolerantes, *Staphylococcus coagulase* positiva e *Salmonella* spp. O crescimento bacteriano nos alimentos é influenciado por muitos parâmetros ambientais como pH, conteúdo de sal (NaCl%), atividade de água (aw), temperatura, tipo de queijo, estrutura do alimento, microbiota ou fatores adicionais como embalagem [14,15].

Este estudo teve como objetivo analisar a quantidade de coliformes termotolerantes, *Samonella* spp., *Stapylococcus coagulase* positiva, os teores de nitritos e nitratos, pH e aw, em queijos tipo prato e colonial, sob Inspeção Municipal e Estadual do Vale do Taquari (Rio Grande do Sul).

2. MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de queijos Prato (n=14) e Colonial (n=10) foram adquiridas diretamente nas indústrias sob Inspeção Sanitária Municipal (n=11) e Estadual (n=13), produzidas em municípios do Vale Taquari – RS, durante os meses de abril, maio e junho de 2013. Para a coleta das amostras houve o cuidado de mantê-las íntegras com o mínimo de contato ou manipulação.

Para a realização das análises (físico-químicas, microbiológicas e de concentração de nitrito e nitrato) foram coletadas no mínimo duas e no máximo quatro amostras de cada marca, sendo que cada amostra correspondia a um lote diferente, totalizando 24 amostras de queijo.

Os teores residuais de nitratos e nitritos, pH e aw das amostras foram realizados segundo as metodologias analíticas oficiais previstas na Instrução Normativa nº 20, de 21 de julho de 1999 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento [16]. A análise quantitativa de nitrito consistiu na reação de diatotação do íon nitrito com ácido sulfanílico e copulação com cloridrato de alfa-naftilamina em meio ácido, formando o ácido alfa-naftilamino-p-azobenzeno-p-sulfônico de coloração rósea. O produto resultante foi determinado espectrofotometricamente a 540 nm [17]. O nitrato é reduzido a nitrito por ação do cádmio esponjoso em meio alcalino e determinado como citado anteriormente. A determinação quantitativa dos teores de nitrato e nitrito foi realizada em todas as amostras em triplicata, conforme classificação do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ's) específicos para cada tipo de queijo [5]. As amostras de queijo foram classificadas com baixa umidade.

Para a determinação do pH utilizou-se um pHmetro marca Digimed® e para a aw foi usado um medidor Aqualab®, modelo CX-2, sendo determinada uma vez em cada amostra. Para as análises de coliformes termotolerantes foi utilizada a metodologia de AFNOR - Certificate Number 3M 01/2-09/89, para as análises de *Staphylococcus coagulase* positiva foi utilizada a metodologia de AFNOR - Certificate Number 3M 01/19 04/03 e para as análises de *Salmonella* spp. foi utilizada AFAQ AFNOR CERTIFICATION e ISO 6785:2001 [18]. As análises microbiológicas foram realizadas uma vez em cada uma das amostras. Foi utilizado como parâmetro de referências a RDC nº 12/01 [19]. As análises microbiológicas foram realizadas em laboratório certificado pelo MAPA, Rede Metrológica do Rio Grande do Sul, cadastrado na Fundação Estadual de Proteção Ambiental (FEPAN), com ISO 17025.

Para verificar a associação entre as médias de concentração de nitrito e nitrato com os níveis máximos estabelecidos pela legislação foi utilizado o teste não-paramétrico de *Wilcoxon*. O teste de *Mann-Whitney* foi utilizado para verificar a associação entre as médias de nitrato, nitrito, pH e aw encontradas com os tipos de Inspeção e o resultado da análise (normal e acima do recomendado pela legislação) para *Staphylococcus coagulase* positiva. Para verificação da associação entre o tipo de inspeção e a presença de *Staphylococcus coagulase* positiva e coliformes termotolerantes foi aplicado o teste Exato de Fisher. O nível de significância máximo assumido foi de 5% ($p \leq 0,05$) e o software utilizado para a análise estatística foi o *Statistical Package for the Social Science*® (SPSS) versão 13.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A média de nitrato e nitrito encontrada nos queijos foi de 83,35 mg/Kg (Desvio Padrão, DP= 216,45) e 3,47 mg/Kg (DP= 3,46) de queijo, respectivamente. Quando foi aplicado o teste não paramétrico de *Wilcoxon* verificou-se que ambas as médias de concentração apresentaram-se superiores ao permitido pela legislação [1]. As concentrações de nitrato e nitrito encontradas acima do recomendado pela legislação nas amostras foram de 33,3% e 100%, respectivamente. (Tabela 1). Seraphim e Siqueira [20], em seu estudo realizado em Minas Gerais, verificaram que

das 43 amostras analisadas, 38 (88,37%) não apresentaram nitrato e nitrito em níveis detectáveis, em 5 (11,63%) foi encontrado nitrato, sendo que em 4 (18,6%), acima do limite máximo permitido. Somente uma (2,33%) apresentou nitrito abaixo do limite máximo permitido, resultados inferiores aos encontrados pelo atual estudo.

Ao se agrupar os queijos pelo tipo de inspeção, foi verificado que as amostras de queijos tanto sob Inspeção Municipal como sob Inspeção Estadual apresentaram teores de nitrito e nitrato em desacordo com o que está descrito na legislação [1]. Quando foram determinados quantitativamente os nitratos nas amostras por tipo de queijo, observou-se que 42,9% das amostras de queijo tipo Prato e 20% das amostras de queijo Colonial apresentaram-se não conforme ao preconizado pela legislação que é de 50 mg/kg [1], resultados diferentes do estudo de Gonçalves et al. [4], que encontraram 18% das amostras de queijo parmesão e 10% do queijo tipo Prato em desacordo com o preconizado pela legislação em relação a adição de nitrato e a presença de nitrito, enquanto que no atual, a totalidade das amostras apresentaram nitrito em sua composição (Tabela 1).

Tabela 1: Relação entre os níveis de nitrato, nitrito, coliformes termotolerantes, *Staphylococcus coagulase* positiva encontradas nas análises com as quantidades máximas preconizadas pela legislação.

Variável	Comparação com Referência	n	%	p*
Nitrato	Superior	8	33,3	0,030
	Inferior	16	66,7	
Nitrito	Superiores	24	100	NSA
	Inferiores	-	-	

* Teste não-paramétrico de Wilcoxon. n = número de casos em número absoluto; % = percentual. NSA: Não se aplica.

Castro et al. [13] analisaram amostras de queijos tipo mussarela e constataram que 33% apresentaram *Salmonella* spp., resultado semelhante ao estudo de Santana et al. [21], realizado em Aracaju (SE) com queijos coalho, onde encontraram 26,7% de amostras acima do valor de referência para este microrganismo e superior a Oliveira, Bravo e Tonial [22], em estudo com queijos tipo colonial, que encontraram 12,5% de *Salmonella* spp., nas amostras. No presente estudo, todas as amostras apresentaram-se isentas de *Salmonella* spp., resultado semelhante ao encontrado por Galinari et al. [23] e Zocche, Barcellos e Bersot [24] em amostras de queijos artesanais produzidas em duas regiões da serra de Minas Gerais.

A comparação das médias de *Staphylococcus coagulase* positiva encontrados nos queijos foi significativamente superior nas amostras fiscalizadas pela Inspeção Estadual quando comparados a Inspeção Municipal ($p=0,047$) (Tabela 2). Estes resultados podem indicar diferentes níveis de métodos na fiscalização dos diferentes órgãos responsáveis e pode ser atribuído ao fato de que nos Municípios os fiscais podem estar mais próximos aos estabelecimentos, facilitando assim a fiscalização e orientação dos responsáveis pela empresa.

Rahimi [25], estudando a enterotoxicidade de *Staphylococcus aureus* em produtos lácteos comerciais, encontrou 11,1% das amostras de queijos positivas para esse patógeno, possivelmente pelo uso de leite não pasteurizado, além da produção de alimentos em locais insalubres sem cuidados de manipulação e armazenamento [26]. Em relação ao *Staphylococcus coagulase* positiva, encontrou-se 25% dos queijos analisados em desacordo com a legislação, corroborando com o estudo de Pinto et al. [27], no município de Santa Helena (PR), com amostras de queijos tipo minas frescal inspecionadas pelo serviço Estadual e Federal. Por outro lado, o estudo de Komatsu et al. [28], realizado em Uberlândia (MG), demonstrou a ocorrência de *Staphylococcus coagulase* positiva em níveis inaceitáveis em 88% das amostras de queijos minas frescal e Oliveira, Bravo e Tonial [22] demonstraram que a totalidade das amostras de queijos tipo colonial estava contaminada. Galinari et al. [23], analisaram microrganismos presentes em queijos artesanais de duas regiões de Minas Gerais e verificaram que todas as amostras da região da Canastra para *Staphylococcus aureus* e duas do Serro estavam abaixo do limite máximo legal.

Tabela 2: Relação entre as médias de nitrato, nitrito, *Staphylococcus coagulase positiva*, pH e aw encontradas nas análises com os tipos de Inspeção

Variável	Inspeção	N	Média	DP	Valor de referência	p*
Nitrato	Inspeção Municipal	11	133,69	319,77	≤ 50 mg/kg	0,776
	Inspeção Estadual	13	40,75	17,08		
Nitrito	Inspeção Municipal	11	3,36	3,93	= 0 mg/kg	0,910
	Inspeção Estadual	13	3,56	3,18		
<i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	Inspeção Municipal	11	13,64	12,06	≤ 1.000 UFC/g	0,047
	Inspeção Estadual	13	43523,08	132614,17		
Aw	Inspeção Municipal	11	0,9401	0,0039	0,93 -0,97	0,820
	Inspeção Estadual	13	0,9402	0,0050		
pH	Inspeção Municipal	11	5,65	0,46	4,9 - 5,9	0,776
	Inspeção Estadual	13	5,59	0,18		

* Teste não-paramétrico *Mann-Whitney*. Significativo $p \leq 0,05$. n = número de casos em número absoluto; DP: Desvio Padrão.

A média de aw nas amostras foi de 0,94 un (DP= 0,004) e pH de 5,62 (DP= 0,33), estando de acordo com preconizado pelo regulamento de inspeção industrial e sanitária [12]. Na Tabela 3 observou-se que o grupo de amostras classificadas com *Staphylococcus coagulase positiva* acima do recomendado apresentou média significativamente maior de coliformes termotolerantes e menor de aw. Tanto a aw quanto o pH interferem na sobrevivência e no crescimento de microrganismos patogênicos como *Staphylococcus coagulase positiva* [29]. Milani [30] sugeriu que quanto mais elevado o pH e a aw no alimento, maior é a probabilidade de proliferação microbiana.

Tabela 3: Relação entre as médias de nitrato, nitrito, coliformes termotolerantes, pH e aw encontradas nas análises com níveis normais e acima do recomendado pela legislação para *Staphylococcus coagulase positiva*

Variável	Resultado <i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	N	Média	DP	p*
Nitrato	Acima do recomendado	6	33,15	20,33	0,343
	Abaixo do recomendado	18	100,08	249,15	
Nitrito	Acima do recomendado	6	3,33	3,54	0,721
	Abaixo do recomendado	18	3,52	3,54	
Coliformes termotolerantes	Acima do recomendado	6	50666,67	65531,42	<0,0001
	Abaixo do recomendado	18	1167,56	2085,70	
aw	Acima do recomendado	6	0,9364	0,0012	0,004
	Abaixo do recomendado	18	0,9414	0,0044	
pH	Acima do recomendado	6	5,60	0,10	0,537
	Abaixo do recomendado	18	5,62	0,38	

* Teste não-paramétrico *Mann-Whitney*. Significativo $p \leq 0,05$. n = número de casos em número absoluto; DP: Desvio Padrão.

A Tabela 4 demonstrou associação significativa do percentual de amostras com *Staphylococcus coagulase positiva* e coliformes termotolerantes, acima do preconizado pela legislação, sob Inspeção Estadual. Este resultado sugere a necessidade de um controle mais rigoroso sobre estes produtos, visto que os serviços de inspeção têm como objetivo controlar a qualidade dos produtos de origem animal, como embutidos cárneos, queijos, ovos, mel e compotas, monitorando e inspecionando a sanidade do rebanho, o local e a higiene das indústrias, certificando com selo de garantia os produtos. A Inspeção Municipal atua

fiscalizando o comércio de produtos dentro dos municípios, enquanto que a Inspeção Estadual fiscaliza o comércio intermunicipal [31]. Estes resultados podem indicar distintos níveis e métodos na fiscalização dos diferentes órgãos responsáveis, além de sugerir que nos Municípios a fiscalização esteja atuando de forma mais próxima aos estabelecimentos, facilitando assim a orientação sobre as boas práticas de fabricação aos manipuladores e responsáveis pelas empresas.

Verificou-se que 61,5% das amostras sob Inspeção Estadual e 18,2% das amostras sob Inspeção Municipal, apresentaram-se em desacordo com a legislação em relação aos coliformes termotolerantes. Pinto et al. [27] demonstraram que 100% das amostras apresentaram coliformes termotolerantes acima do preconizado no queijo minas frescal, tanto produzidos artesanalmente, como sob inspeção. Em estudo realizado por Feitosa et al. [29], foi verificado que 36,4% do queijo coalho possuía coliformes termotolerantes acima dos padrões estabelecidos pela legislação. Destaca-se que este grupo microbiano está presente na flora intestinal de humanos e animais sendo um indicador de contaminação fecal [30].

Tabela 4: Relação entre os resultados encontrados para coliformes termotolerantes e *Staphylococcus coagulase positiva* e tipos de Inspeção

Variável	Categoria	Inspeção				p*
		Municipal		Estadual		
		n	%	n	%	
Coliformes termotolerantes	Acima da Legislação	2	18,2	8	61,5	0,047
	De acordo c/ Legislação	9	81,8	5	38,5	
<i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	Acima da Legislação	-	-	6	46,2	0,013
	De acordo c/ Legislação	11	100,0	7	53,8	

* Teste Exato de Fisher. * significativo $p \leq 0,05$. n = número de casos em número absoluto; %: percentual.

No decorrer do estudo, foram encontradas algumas limitações, como a dificuldade de convencer os fabricantes de queijos de participarem do estudo devido à desconfiança em relação à segurança e sigilo dos dados da empresa e do produto, o que restringiu o número de amostras analisadas.

4. CONCLUSÃO

A totalidade das amostras analisadas apresentou concentrações acima do recomendado pela legislação para nitrito e um terço apresentou-se não conforme em relação à concentração de nitrato, observando que o queijo do tipo Prato Lanche apresentou maior percentual de amostras não conformes em relação ao queijo tipo Colonial. As médias de concentração de nitrato e nitrito, encontradas nas amostras em que foi constatada a presença de *Staphylococcus coagulase positiva* foram inferiores às amostras sem a presença do patógeno. Em relação à aw e o pH, a maioria das amostras encontrou-se de acordo com o preconizado pela legislação nos queijos de média e baixa umidade analisados. As amostras de queijo produzidas sob Inspeção Estadual apresentaram resultados mais preocupantes em relação à contaminação por *Staphylococcus coagulase positiva* e coliformes termotolerantes quando comparados à Inspeção Municipal.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Duarte MT. Avaliação de teor de nitrito e nitrato de sódio em linguiças do tipo frescal cozida e comercializada no estado do Rio de Janeiro, Brasil, 2010. Tese [Doutorado]. Faculdade de Medicina veterinária da Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, 2010.
2. Liu D. Characterization of Nitrite Degradation by *Lactobacillus casei* subsp. *raumoulii* LCR 6013. *LOS ONE*. 2014 apr.; 9(4): e93308. DOI: 10.1371/journal.pone.0093308
3. Zamrik MA. Determination of Nitrate and Nitrite Contents of Syrian White Cheese. *Pharmacology & Pharmacy*, 2013; 4, 171-175. DOI: 10.4236/pp.2013.42024
4. Gonçalves JF, Oliveira WC, Silva CAO, Cunha MRR, Pereira FR. Ocorrência de nitratos e nitritos em queijos minas frescal, mussarela, parmesão e prato. *Rev Inst Adolfo Lutz*. São Paulo. 2011; 70(2):193-8.
5. Brasil. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Portaria nº 146 de 07 de março de 1996. Aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos produtos lácteos. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*. Brasília, DF, 07 mar 1996. Seção 1, p. 3977.
6. Gómez-Torres N, Ávila M, Gaya P, Garde S. Prevention of late blowing defect by reuterin produced in cheese by a *Lactobacillus reuteri* adjunct. *Food Microbiology*. 2014; (42):82-88. DOI: 10.1016/j.fm.2014.02.018
7. Frazier WC, Westhoff DC. *Microbiologia de los Alimentos*. 4. ed. Espanha: Acríbia; 1993.
8. Moraes JM. Influência de diferentes concentrações de nitratos e nitritos na inibição de esporulados anaeróbicos gasógenos do leite. *Rev Inst Latic*. Cândido Tostes. 1981; 36(215):21-23.
9. Lipparini L, Rampa A. Note sull'apresenzadirisiduidi nitrati e nitriti e di N-nitrosoamineneiprodottillattiero - casearidelcommercio. *RassChim*. 1983; 35(2):73-78.
10. Devoyod JJ. L'emploi des nitrates dans la fabrication des fromages. *Annales de lanutrition et de l'alimentation Ann Nutr Aliment*. 1976; 30(5/6):789-92.
11. Brasil. Decreto no 30.691, de 29 de março de 1952. Regulamento da inspeção industrial e sanitária de Produtos de origem animal - RIISPOA, Rio de Janeiro (RJ), 28 mar. 1952.
12. Almeida Filho ES. Características microbiológicas do queijo tipo minas frescal produzido artesanalmente e comercializado no Município de Poços de Caldas-MG. 1999. p. 60. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Campus de Jaboticabal, Unesp, Jaboticabal, 1999.
13. Castro ACS, Pinto Júnior WR, Tapia DMT, Cardoso LGV. Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica de queijos do tipo mussarela comercializados no CEASA de Vitória da Conquista - BA. *Rev. Alim. Nutr. Araraquara (SP)*. 2012 jul/set; 23(3): 407-413.
14. Fonte AIE. Queijo de coalho do sertão Alagoano: Enterotoxigenicidade de *S. aureus* pela reação em cadeia da polimerase (PCR). Lisboa (PT). Dissertação [Mestrado em Engenharia Alimentar – Biotecnologia Microbiana] - Universidade técnica de Lisboa; 2012.
15. Galarz LA. Estimativa da vida útil em peito de frango em diferentes temperaturas de armazenamento. Rio Grande (RS). Tese [Mestrado em Engenharia e Ciência dos Alimentos] -Fundação Universidade Federal do Rio Grande; 2008.
16. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 20, de 21 de julho de 1999. Altera o Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal - PNCR e os Programas de Controle de Resíduos em Carne - PCRC, Mel – PCRM, Leite – PCRL e Pescado – PCRP. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 3 ago 2000. Seção 1, p. 7-12.
17. Lara WH, Takahashi MY, Silveira N. Determinação de nitritos e nitratos em conservas de carne. *Rev. Instituto Adolfo Lutz*. 1978; 38:161-166.
18. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº 62 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água.
19. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. RDC Nº 12, *Diário Oficial da União*, 10 jan 2001.
20. Seraphim RK, Siqueira BPE. Nitratos e nitritos em queijos caseiros e industrializados comercializados na região Sul de Minas Gerais, ALAN, Caracas. 2000 mar; 50(1).
21. Santana RF, Santos DM, Martinez ACC, Lima AS. Qualidade microbiológica de queijo-coalho comercializado em Aracaju, SE. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 2008. v. 60, n. 6, p. 1517-1522.
22. Oliveira DF, Bravo CEC, Tonial IB. Sazonalidade como fator interferente na composição físico-química e avaliação microbiológica de queijos coloniais. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 2012; 64(2): 521-523.

23. Galinari E et al. Microbiological aspects of the biofilm on wooden utensils used to make a Brazilian artisanal cheese. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2014; 45(2):713-720.
24. Zocche F, Barcellos VC, Bersot LS. Microrganismos indicadores e *Salmonella* sp. em salames produzidos e comercializados na Região Oeste do Paraná. *Rev. Bras. Tecnol. Agroind.*, 2011; v. 5, n. 1, p. 336-345. DOI: 10.3895/S1981-36862011000100009
25. Rahimi E. Enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* isolated from traditional and commercial dairy products marketed in Iran. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2013; 44(2): 393-399.
26. Zocche F, Silva WP. PCR para detecção de *Staphylococcus*. *Alim. Nutr.*, Araraquara, 2012 abr./jun.; 23(2):187-193.
27. Pinto FGS, Souza M, Saling S, Moura AC. Qualidade microbiológica de queijo Minas Frescal comercializado no Município de Santa Helena, PR, Brasil. *Arq. Inst. Biol. São Paulo*. 2011 abr./jun; 78(2):191-198.
28. Komatsu RS, Rodrigues MAM, Loreno WBN, Santos KA. Ocorrência de *staphylococcuscoagulase* positiva em queijos minas frescal produzidos em Uberlândia-MG. *Bioscience Journal, Uberlândia (MG)*. 2010 mar/apr.; 26(2):316-321.
29. Feitosa T, Borges MF, Nassu RT, Azevedo EHF de, Muniz CR. Pesquisa de *Salmonella* sp., *Listeria* sp. e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijos produzidos no Estado do Rio Grande do Norte. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas. 2003 dez; 23:162-165.
30. Milani, LIG. Bioproteção em linguiças Brasil. Universidade Federal de Santa RS. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v. 23, n. 2, p. 161-166, 2003. DOI: 10.1590/S0101-20612003000200010