

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE DOCE DE LEITE ARTESANAL E INDUSTRIALIZADO COMERCIALIZADOS EM MACEIÓ – AL

MICROBIOLOGY QUALITY OF HANDMADE AND INDUSTRIALIZED *DOCE DE LEITE* COMMERCIALIZED IN THE CITY OF MACEIÓ - AL

Genildo Cavalcante Ferreira Júnior^{1*}, José Ítalo Pereira de Moraes², Ludmilla Maria Sampaio², Michael Junmar Rodrigues², Jammily de Oliveira Vieira Moreira³, Jose Alfredo dos Santos Júnior²

¹Instituto Federal do Acre.

²Centro Universitário CESMAC.

³Universidade Federal da Bahia

*Endereço para correspondência: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Acre - IFAC
Campus Xapuri - Rua Cel. Brandão, nº 1622 – Centro, Xapuri - AC. CEP 69930-000.

Email: genildojr@yahoo.com.br

RESUMO

O doce de leite é um produto muito apreciado no Brasil, em particular, na região nordeste. Devido a sua grande aceitação, esse alimento é produzido muitas vezes de maneira artesanal, sem as mínimas condições higiênico-sanitárias, expondo os consumidores ao risco da presença de microrganismos ou suas toxinas. Neste contexto, objetivou-se neste trabalho avaliar a qualidade microbiológica de doce de leite artesanal e industrializado comercializados no município de Maceió-AL. Foram analisadas cinco marcas de doce de leite pastoso (três artesanais e duas industrializadas) comercializadas em serviços de alimentação de Maceió. De cada marca, foram analisadas duas amostras com datas de fabricação diferentes. Foram realizadas análises microbiológicas da presença de coliformes a 45 °C, estafilococos coagulase positiva e *Salmonella* sp., conforme exigido pelo regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos, Resolução - RDC nº 12 de 02/01/2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Todas as amostras analisadas apresentaram conformidade com os limites estabelecidos pela legislação, apresentando ausência dos microrganismos pesquisados, ou quantidades dentro dos limites aceitáveis, portanto, apresentando condições higiênico-sanitária satisfatória.

Palavras-Chave: coliformes; derivados do leite; doenças transmitidas por alimentos; contaminação de alimentos.

ABSTRACT

Doce de leite is an extremely popular product in Brazil, particularly in the Northeast region. Due to its wide acceptance, this food is often handmade, without the minimum hygienic-sanitary conditions, exposing consumers to the risk of the presence of microorganisms or their toxins. In this context, the objective of this study was to evaluate the microbiological quality of artisanal and industrialized *doce de leite* marketed in the city of Maceió-AL. Five brands of creamy *doce de leite* (three artisanal and two industrialized) marketed in food services in Maceió were analyzed. From each brand, two samples with different manufacturing dates were analyzed. Microbiological analyzes of the presence of coliforms at 45 °C, coagulase positive *staphylococci* and *Salmonella* sp. were performed, as required by the technical regulation on microbiological standards for food, Resolution - RDC N°. 12 of 01/02/2001, of the National Surveillance Agency Health - ANVISA. All samples analyzed showed compliance with the limits established by the legislation, showing absence of the researched microorganisms, or quantities within acceptable limits, therefore, presenting satisfactory hygienic-sanitary conditions.

Key Words: coliforms; dairy milk; foodborne diseases; food contamination.

INTRODUÇÃO

O doce de leite é um alimento amplamente consumido no Brasil, com elevado teor de nutrientes, que resulta da cocção da mistura de leite e açúcar, com ou

sem aromatizantes, até a sua concentração e caramelização. De acordo com o regulamento técnico de identidade e qualidade de doce de leite (Portaria nº 354, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, de 04/09/1997), o referido

doce pode ser definido como sendo um produto com ou sem adição de outras substâncias alimentícias, obtido por concentração e ação do calor a pressão normal ou reduzida do leite ou leite reconstituído, com ou sem adição de sólidos de origem láctea e/ou creme adicionado de sacarose (parcialmente substituída ou não por monossacarídeos e/ou outros dissacarídeos) (1).

Apesar do doce de leite ser um produto amplamente consumido no Brasil, pode-se destacar que uma pequena parte de sua produção ainda é realizada de forma artesanal, sendo suas características determinadas pela habilidade individual de cada produtor e da qualidade do leite utilizado, não existindo uma identidade própria que caracteriza o produto nacionalmente. Em países como a Argentina, que é o maior produtor e exportador de doce de leite do mundo, predomina a produção industrial (2).

A produção brasileira de doce de leite (pastoso e em tablete) inspecionada, concentrou-se entre o período de 2010 a 2016 nas regiões Sudeste (62,1%) e Sul (33,3%), sendo o estado de Minas Gerais o maior produtor, tendo registrado 38,4 mil toneladas (58,1%) em 2016 (2). O mercado de doce de leite nacional tem sido abalado pela concorrência das marcas argentinas, criando uma condição que tende a se agravar com a redução das alíquotas de exportação promovidas por aquele país em 2015 (2).

Com o crescimento do consumo do doce de leite por parte da população brasileira, surge a preocupação com a qualidade desse produto (3). Independente da procedência (artesanal ou industrializado), o processo de aquecimento durante a fabricação do doce de leite, não garante a segurança do produto final, pois a manipulação inadequada e a exposição ao meio ambiente pode aumentar o risco de sua contaminação (4).

Ao analisar o processo de fabricação do doce de leite artesanal, observa-se que esse produto pode apresentar uma maior contaminação, quando se compara com o industrializado, que geralmente é fiscalizado por algum órgão competente. A contaminação do doce de leite pode ocorrer pelo uso de matérias-primas não inspecionadas, utensílios mal higienizados

ou contaminados, manipulação por pessoas não treinadas, elaboração em condições impróprias e armazenamento e comercialização em temperatura inadequada, fatores que contribuem para aumentar o risco de doenças transmitidas pelos alimentos (5).

Em relação aos parâmetros microbiológicos de qualidade, a Portaria nº 354, estabelece que no doce de leite sejam pesquisados, apenas a presença de estafilococos coagulase positiva, bolores e leveduras (1). Nesta legislação é estabelecido um valor máximo de 100 Unidades Formadoras de Colônia – UFC/g para estafilococos coagulase positiva, e também 100 UFC/g para bolores e leveduras. Adicionalmente, o Ministério da Saúde através da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (Resolução – RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001) estabelece valores máximos para coliformes termotolerantes (50 UFC/g), estafilococos coagulase positiva (100 UFC/g) e ausência de *Salmonella* sp. (6).

A qualidade microbiológica dos alimentos e conseqüentemente a segurança do consumidor, estão condicionadas a ausência de microrganismos deteriorantes e patogênicos nos alimentos. A presença de microrganismos contaminantes no leite ou em seus derivados pode levar a uma perda de sua qualidade físico-química, já que uma grande parte desses microrganismos em condições apropriadas são capazes de fermentar a lactose e produzir ácido láctico, aumentando assim a acidez do produto (7-9). Entretanto, o maior risco consiste na possibilidade desses microrganismos causarem algum tipo de doenças transmitidas pelos alimentos.

Devido à grande aceitabilidade e a fácil produção, o doce de leite é comercializado em diversos locais (restaurantes, lanchonetes, lojas de conveniência, ambulantes e supermercados), muitas vezes em embalagens impróprias, de fabricação artesanal e sem identificação, tornando o seu consumo um risco para a saúde dos consumidores. Assim, objetivou-se neste trabalho, avaliar a qualidade microbiológica de amostras de doce de leite pastoso artesanal e industrializado comercializadas no município de Maceió – AL.

METODOLOGIA

Foram adquiridas em serviços de alimentos (lojas de conveniência e supermercados) da cidade de Maceió – AL dez amostras comerciais de doce de leite pastoso de cinco marcas diferentes, sendo três delas de procedência artesanal e duas industrializadas. De cada marca foram analisadas duas amostras com datas de fabricação diferentes. Após a coleta, as amostras foram imediatamente acondicionadas em caixas isotérmicas e encaminhadas ao Laboratório Multidisciplinar de Pesquisa Científica, do Centro Universitário CESMAC, para a realização das análises.

Foram realizadas as análises microbiológicas de coliformes a 45° C (termotolerantes), estafilococos coagulase positiva e *Salmonella* sp., segundo método proposto por Silva et al. (10). Para contagem de coliformes a 45 °C (termotolerantes) e estafilococos coagulase positiva, 25 g da amostra foram diluídas em 225 mL de água peptonada estéril. A partir desta diluição, foram preparadas diluições seriadas em tubos estéreis até a diluição 10⁻³.

A pesquisa de coliformes termotolerantes foi realizada pela técnica de Número Mais Provável – NMP/g. Inicialmente foram realizados testes presuntivos, de cada diluição foi transferido 1 mL para uma série de três tubos, contendo Caldo Lauril Sulfato Triptose, com tubos de Durham invertidos e incubados a 35 ± 1 °C por 24-48 ± 2h. Após esse período, dos tubos positivos que apresentaram a presença de gás, foi transferida uma alçada para tubos com caldo

EC (*Escherichia coli*) e incubados em banho-maria a 44,5 ± 1 °C por 24-48 ± 2h.

Na análise de estafilococos coagulase positiva, alíquotas das diluições realizadas em água peptonada foram semeadas em Ágar Baird-Parker, suplementado com emulsão de gema de ovo e telurito. As placas foram incubadas a 35 ± 1 °C por 24-48 ± 2h, e as colônias suspeitas foram submetidas ao teste de produção de coagulase, sendo em seguida submetidas a provas adicionais de catalase e termonuclease.

Para o isolamento e identificação de *Salmonella* sp., 25 g das amostras foram acrescidas a caldo lactosado, sendo em seguida homogeneizadas e incubadas em 35 ± 1 °C por 24 ± 1h. Após esse período, alíquotas foram transferidas para os meios seletivos Tetrionato, Rappaport e Selenito, sendo mantidas em banho-maria em 35 ± 1 °C por 24 ± 1h. De cada tubo inoculado, foram semeadas placas com os meios seletivos ágar HE (Hektoen Enteric) e ágar XLD (Xilose Lisina Desoxicolato) e incubadas a 35 ± 1 °C por 24 ± 1h. As colônias suspeitas foram estriadas em tubos contendo Ágar Ferro Tríplice Açúcar (TSI) e Ágar Lisina Ferro (LIA). Os tubos de TSI e LIA que apresentaram reações típicas de *Salmonella* foram submetidas a testes bioquímicos de urease, fermentação do dulcitol, indol e malonato.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as amostras de doce de leite analisadas apresentaram conformidade quanto aos padrões microbiológicos exigidos pela RDC n° 12, de 02 de janeiro de 2001 da ANVISA (6), conforme mostra a Tabela 1.

Tabela 1. Avaliação microbiológica de amostras de doce de leite artesanal e industrializado comercializados no município de Maceió - AL.

Marcas	Amostras	Fabricação	Análise Microbiológica		
			Coliformes a 45°C (NMP/g)*	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva (UFC/g)**	<i>Salmonella</i> sp.
A	A1	Industrial	<3,0	<1 x 10 ¹	Ausência
	A2		<3,0	<1 x 10 ¹	Ausência
B	B1	Industrial	<3,0	<1 x 10 ¹	Ausência
	B2		<3,0	<1 x 10 ¹	Ausência
C	C1	Artesanal	<3,0	<1 x 10 ¹	Ausência
	C2		<3,0	<1 x 10 ¹	Ausência
D	D1	Artesanal	<3,0	<1 x 10 ¹	Ausência
	D2		<3,0	<1 x 10 ¹	Ausência
E	E1	Artesanal	<3,0	<1 x 10 ¹	Ausência
	E2		<3,0	<1 x 10 ¹	Ausência

*NMP: Número Mais Provável, **UFC: Unidade Formadora de Colônia.

Como as amostras foram coletadas em serviços de alimentação, adotou-se nas análises os parâmetros microbiológicos estabelecidos na RDC nº 12 (6), visto que a fiscalização desses estabelecimentos é realizada pelo serviço de Vigilância Sanitária. Conforme verificado na Tabela 1, as amostras apresentaram contagem de coliformes a 45 °C e estafilococos coagulase positiva menor que 3 NMP/g e 1×10^1 UFC/g, respectivamente, além da ausência de *Salmonella* sp.

Embora o doce de leite não seja um produto favorável ao crescimento de microrganismos por apresentar alta concentração de carboidratos e, conseqüentemente, baixa atividade de água, a possibilidade de veicular bactérias patogênicas não está excluída (10). Possivelmente os resultados negativos de contaminação bacteriana obtidos nas amostras analisadas, estejam relacionados com fatores que alteram o crescimento bacteriano nos alimentos, como a atividade de água, o pH e o potencial de oxirredução, os quais, neste caso, não foram suficientemente favoráveis para a multiplicação dos microrganismos analisados (8). Porém, tais fatores não descartam que esses produtos tenham sido produzidos em condições higiênico-sanitárias satisfatórias.

Os resultados verificados neste trabalho, foram semelhantes aos obtidos por Destri et al. (11), quando os mesmos encontraram ausência de microrganismos patogênicos entéricos (coliformes termotolerantes, estafilococos coagulase positiva e *Salmonella* sp.) em 100% das amostras de doce de leite artesanal analisadas de feiras livres da cidade de Pelotas no Rio Grande do Sul. Timm et al. (12) também observaram resultados semelhantes aos verificados neste trabalho. Ao analisar 28 amostras de doce de leite comercializado a varejo na cidade de Pelotas, observaram que 100% das amostras apresentaram contagem de coliformes termotolerantes e estafilococos coagulase positiva abaixo dos limites máximos estabelecidos pela legislação vigente (12). Porém, os autores verificaram que uma das amostras analisadas (3,6%), apresentou a presença de *Salmonella* sp. em 25 g do produto.

Oliveira et al. (13), ao analisarem 18 amostras de doce de leite, coletadas em 6

barracas no mercado municipal de Montes Claros em Minas Gerais, também encontraram resultados similares ao observado neste trabalho. Eles verificaram que todas as amostras analisadas (100%) estavam de acordo com a legislação vigente.

Apesar de não ser constatado resultado positivo nas amostras de doce de leite para os microrganismos pesquisados, em particular, nas amostras de procedência artesanal, verifica-se a necessidade da adoção de medidas higiênico-sanitárias no processamento e comercialização desses produtos. Não se pode concluir que a ausência de contaminantes microbiológicos nas amostras analisadas, ocorreu por questões intrínsecas do alimento pesquisado, ou se ocorreu pela adoção das boas práticas de manipulação por parte dos produtores.

Os profissionais ligados à produção e processamento de produtos alimentícios, devem incorporar à sua prática diária ações voltadas para o controle de qualidade dos alimentos, desde a escolha da matéria-prima até a obtenção do produto final (14). A implantação do programa de Boas Práticas de Fabricação, estabelecido pela Portaria nº 326, de 30 de julho de 1997 da ANVISA, que é um regulamento técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Produtores e Industrializadores de Alimentos, seria uma das formas de prevenir os riscos microbiológicos nos alimentos (15).

CONCLUSÃO

De acordo com os critérios estabelecidos pelo regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos, RDC nº 12 da ANVISA, pode-se concluir que todas as amostras analisadas (100%), apresentaram ausência ou contagem abaixo dos limites máximos estabelecidos pela legislação, para coliformes a 45 °C (termotolerantes), estafilococos coagulase positiva e *Salmonella* sp., sendo consideradas próprias para o consumo. Portanto, todas as amostras analisadas apresentaram condições higiênico-sanitárias satisfatórias.

AGRADECIMENTOS

Ao Centro Universitário CESMAC e ao Laboratório de Controle de Qualidade de

REFERÊNCIAS

- (1) BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e abastecimento. Portaria nº 354 de 07 de setembro de 1997. Aprova o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade do doce de leite. **D.O.U - Diário Oficial da União**; Poder Executivo, de 8 de setembro de 1997.
- (2) GOMES, R.A.R.et al. **O setor de produtos lácteos - Brasil Dairy Trends 2020**. 1. ed. Campinas: ITAL; 2017.
- (3) ARAGÃO, F.D, et al. Doce de leite produzido no setor de laticínios de instituição pública de ensino superior no estado do Ceará. **Higiene Alimentar**, v. 32, n. 282/283, p. 50-54. jul./ago., 2018.
- (4) MOYSÉS, B.J. et al. Avaliação da qualidade microbiológica de doces de leite pastosos comercializados na região de São José do Rio Preto - SP, Brasil.In: 25º Congresso Brasileiro de Microbiologia; 2009; Porto de Galinhas - PE. **Anais...** Porto de Galinhas, 2009.
- (5) DUARTE, D.A.M. et al. Pesquisa de *Listeria monocytogenes* e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijo de coalho produzido e comercializado no Estado de Pernambuco. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.72, n.3, p. 297-302. jul./set., 2005.
- (6) BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução - RDC nº12 de 2 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **D.O.U. - Diário Oficial da União**; Poder Executivo, de 10 de janeiro de 2001.
- (7) PINTO, C.L.O.; MARTINS, M.L.; VANETTI M.C.D. Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e isolamento de bactérias psicrotróficas proteolíticas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.3, p. 645-651, jul./set., 2006.
- (8) JAY, J.M. **Microbiologia de alimentos**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed; 2005.
- (9) ORDONEZ, J.A. **Tecnologia de alimentos**: componentes dos alimentos e processos. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- (10) SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4.ed. São Paulo: Livraria Varela; 2010.
- (11) DESTRI, K. et al. Análise microbiológica de doces de leite vendidos em feiras livres de Pelotas, Estado do Rio Grande do Sul. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v.31, n.2, p.153-157, 2009.
- (12) TIMM, C.D. Avaliação microbiológica de doce de leite pastoso. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.66, n.3, p.275-277, 2007.
- (13) OLIVEIRA, P.M.C. et al. Avaliação da qualidade microbiológica de doce de leite pastoso comercializado no mercado municipal de Montes Claros – MG. In: 9º Fórum de ensino, pesquisa, extensão e gestão; 2015; Montes Claro – MG. **Anais...** Montes Claros, 2015.
- (14) MENDES, A.C.R. Os profissionais da área de alimentos no controle de qualidade: Uma reflexão sobre as ações necessárias para proteção da saúde do consumidor. **Revista Higiene Alimentar**, v.12, n.53, p.26-29, 1998.
- (15) Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 326 de 30 de julho de 1997. Dispõe sobre o regulamento técnico sobre as condições higiênicos-sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos. **D.O.U - Diário Oficial da União**; Poder Executivo, de 1 de agosto de 1997.

Enviado: 15/03/2017
 Revisado: 20/11/2019
 Aceito: 29/04/2020