

Micro-organismos patogênicos e deteriorantes em chocolate artesanal ao leite

Pathogenic and deteriorative microorganisms in homemade milk chocolate

RIALA6/1451

Talita Schneid TEJADA, Priscila Alves DIAS, Rita de Cássia dos Santos da CONCEIÇÃO, Cláudio Dias TIMM*

*Endereço para correspondência: Inspeção de Produtos de Origem Animal, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, campus Capão do Leão, prédio 34, CEP 96010-900, Pelotas, RS. E-mail: timm@ufpel.tche.br.

Recebido: 24.11.2011 - Aceito para publicação: 20.01.2012

RESUMO

O trabalho teve como objetivo verificar a qualidade microbiológica do chocolate artesanal ao leite produzido e comercializado na região sul do estado do Rio Grande do Sul. Foram pesquisadas a presença de *Salmonella* e as contagens de mesófilos aeróbicos, coliformes totais, coliformes termotolerantes, bolores e leveduras, *Staphylococcus* coagulase positiva e clostrídios sulfito-redutores em 40 amostras de chocolate artesanal ao leite obtidas em estabelecimentos comerciais da região de estudo. Treze (32,5%) amostras mostraram ser impróprias para o consumo humano. Dessas, 11 (27,5%) apresentaram contagens de bolores e leveduras acima dos limites estabelecidos, das quais 7 (17,5%) demonstraram apenas esse parâmetro fora dos padrões. O segundo parâmetro microbiológico mais frequente foi a contagem de coliformes totais, e em 5 amostras (12,5%) foram detectados valores acima dos aceitáveis. Apenas 1 amostra apresentou contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva acima dos limites permitidos. *Salmonella* e clostrídios sulfito redutores não foram isolados das amostras analisadas. Esses resultados são indicativos de problemas de ordem higiênica, provavelmente relacionados a práticas inadequadas de fabricação ou ao não cumprimento de boas práticas de fabricação.

Palavras-chaves. chocolate artesanal, microbiologia de alimentos, saúde pública.

ABSTRACT

The present study aimed at analyzing the microbiologic quality of homemade milk chocolate produced and marketed in the southern region of the State of Rio Grande do Sul. 40 samples were collected from the markets of this region. *Salmonella* isolation, and aerobic mesophiles, total coliforms, thermotolerant coliforms, mould and yeast, positive- coagulase *Staphylococcus* and sulfite-reducing clostridia counts were performed. 13 (32.5%) samples were unsuitable for human consumption. Of these, in 11 (27.5%) samples the yeast and mold counts were above the established limits; and 6 (17.5%) showed noncompliant results only in this parameter only. The second microbiological parameter mostly found was the total coliforms, and the counting values above those acceptable were detected in 5 (12.5%) samples. Only 1 sample showed *Staphylococcus* coagulase positive count above the established limit. Neither *Salmonella* nor sulfite-reducing clostridia were isolated from the analyzed samples. These data indicate that some hygienic problems have occurred, probably related to inadequate fabrication practices or the non-adoption of good practices of fabrication.

Keywords. homemade chocolate, food microbiology, public health.

INTRODUÇÃO

O chocolate é um alimento obtido a partir do processamento de cacau (*Theobroma cacao*) e açúcar, podendo conter outras substâncias alimentícias. No caso do chocolate ao leite, além de cacau e açúcar, também está presente o leite em pó. Segundo a legislação brasileira, as matérias-primas devem, obrigatoriamente, ser isentas de matéria terrosa, parasitas, detritos animais, cascas de semente de cacau e outros detritos vegetais. O chocolate pode apresentar recheio, cobertura, formato e consistência variados e deve ser obtido, processado, embalado, armazenado, transportado e conservado em condições que não produzam, desenvolvam ou agreguem substâncias físicas, químicas ou biológicas que coloquem em risco a saúde do consumidor, obedecendo à legislação vigente de boas práticas de fabricação¹.

Bolores e leveduras, bactérias mesófilas aeróbicas e coliformes são utilizados como indicadores da qualidade higiênica do alimento. Neste último grupo, os coliformes termotolerantes têm sido utilizados como indicadores higiênico-sanitários, uma vez que o habitat primário de parte de seus constituintes é o trato intestinal e sua presença em alimentos representa contaminação de origem fecal direta ou indireta. Bactérias do gênero *Salmonella* estão entre os micro-organismos mais frequentemente envolvidos em casos e surtos de enfermidades de origem alimentar em humanos, envolvendo diversos tipos de alimentos². Em casos de intoxicações alimentares, causadas pela ingestão de alimentos contendo toxinas microbianas pré-formadas durante a proliferação dos micro-organismos patogênicos no alimento, o envolvimento de bactérias dos gêneros *Staphylococcus* e *Clostridium* tem sido comumente reportado³. *S. aureus* tem habilidade de produzir diferentes toxinas frequentemente envolvidas em intoxicações alimentares em todo o mundo. Os principais reservatórios deste micro-organismo são as fossas nasais, pele e pelos de animais de sangue quente, podendo chegar aos produtos alimentícios durante sua preparação e processamento. Quanto às bactérias do gênero *Clostridium*, os sulfito-redutores são os mais importantes, sendo *C. botulinum*, *C. septicum*, *C. bifermentans* e *C. perfringens* os mais frequentemente implicados em toxinfecções de origem alimentar. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabelece que *Salmonella*, *Staphylococcus* coagulase positiva e coliformes termotolerantes devem estar

ausentes no chocolate ao leite, permitindo o máximo de 20 UFC/g para clostrídios sulfito-redutores.¹

Considerando-se a possibilidade da ocorrência de toxinfecções alimentares causadas pelo consumo de chocolate, é de extrema importância a verificação das condições microbiológicas desse alimento oferecido ao consumo humano. A elaboração artesanal de chocolate ao leite implica maior manipulação e exposição do produto a potenciais fontes de contaminação. Neste caso, a observação de boas práticas de fabricação tem destacada importância na obtenção de um produto seguro para o consumo humano.

O trabalho teve como objetivo verificar a qualidade microbiológica do chocolate artesanal ao leite produzido e comercializado na região sul do estado do Rio Grande do Sul, Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 40 amostras de chocolate artesanal ao leite obtidas na região sul do estado do Rio Grande do Sul, em estabelecimentos comerciais das cidades de Pelotas e São Lourenço do Sul, durante o período de janeiro a dezembro de 2009. As amostras, mantidas nas embalagens em que estavam colocadas à venda, foram acondicionadas em caixas isotérmicas e encaminhadas ao laboratório para análise. Foram realizadas pesquisa da presença de *Salmonella* e contagens de mesófilos aeróbicos, coliformes totais (35 °C), coliformes termotolerantes (45 °C), bolores e leveduras, *Staphylococcus* coagulase positiva e clostrídios sulfito-redutores. Todas as análises foram realizadas de acordo com os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água.⁴

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisadas 40 amostras de chocolate artesanal ao leite quanto a aspectos microbiológicos indicadores de qualidade higiênico-sanitária. Para efeito de avaliação e discussão dos resultados, estes foram comparados com os padrões de identidade e qualidade do chocolate conforme a Resolução n. 12 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA), da ANVISA¹, a qual estabelece o valor máximo de $5,0 \times 10^4$ UFC/g, máximo de 10^2 NMP/g, ausência em 1 g, máximo de $2,0 \times 10$ UFC/g, ausência em 0,1 g, ausência

Tabela 1. Contagens de mesófilos aeróbicos, coliformes totais, coliformes termotolerantes e bolores e leveduras em 40 amostras de chocolate artesanal ao leite

Amostra	Mesófilos aeróbicos (UFC/g)	Coliformes totais (NMP/g)	Coliformes termotolerantes (NMP/g)	Bolores e leveduras (UFC/g)
1	$6,1 \times 10^3$	0,4	< 0,3	$3,0 \times 10^{3*}$
2	$1,1 \times 10^5$	2,3	< 0,3	$8,4 \times 10^4$
3	$2,7 \times 10^2$	110,0	< 0,3	$1,1 \times 10^3$
4	$3,7 \times 10^3$	9,3	< 0,3	$4,0 \times 10^3$
5	$2,6 \times 10^2$	24,0	< 0,3	$2,0 \times 10^2$
6	$3,5 \times 10^2$	1,5	< 0,3	$7,0 \times 10^3$
7	$3,1 \times 10^2$	< 0,3	< 0,3	$2,0 \times 10^2$
8	$1,9 \times 10^3$	46,0	0,9	$5,0 \times 10^3$
9	$1,9 \times 10^2$	< 0,3	< 0,3	$1,0 \times 10^2$
10	$3,2 \times 10^3$	< 0,3	< 0,3	< $1,0 \times 10^2$
11	$3,1 \times 10^3$	< 0,3	< 0,3	< $1,0 \times 10^2$
12	$2,9 \times 10^4$	0,9	0,9	$1,0 \times 10^2$
13	$3,0 \times 10^3$	1,4	0,9	$2,5 \times 10^3$
14	$2,2 \times 10^3$	> 110,0	0,4	$1,5 \times 10^2$
15	< $1,0 \times 10^1$	2,1	< 0,3	$7,5 \times 10^2$
16	$4,3 \times 10^3$	> 110,0	0,4	$2,9 \times 10^3$
17	$2,5 \times 10^3$	> 110,0	< 0,3	$4,7 \times 10^3$
18	$2,0 \times 10^3$	> 110,0	0,9	$8,0 \times 10^2$
19	$7,0 \times 10^2$	4,3	< 0,3	< $1,0 \times 10^2$
20	$4,0 \times 10^1$	< 0,3	< 0,3	< $1,0 \times 10^2$
21	$4,0 \times 10^2$	< 0,3	< 0,3	< $1,0 \times 10^2$
22	$1,5 \times 10^2$	2,3	< 0,3	$2,0 \times 10^2$
23	$8,0 \times 10^2$	0,9	< 0,3	< $1,0 \times 10^2$
24	$3,1 \times 10^2$	< 0,3	< 0,3	< $1,0 \times 10^2$
25	$1,0 \times 10^2$	0,4	< 0,3	$5,5 \times 10^2$
26	$6,0 \times 10^2$	2,3	< 0,3	$1,5 \times 10^2$
27	$5,5 \times 10^2$	0,4	< 0,3	< $1,0 \times 10^2$
28	$4,0 \times 10^3$	< 0,3	< 0,3	$1,0 \times 10^3$
29	$3,7 \times 10^3$	0,7	0,9	$9,0 \times 10^3$
30	$2,6 \times 10^2$	< 0,3	< 0,3	$5,2 \times 10^2$
31	< $1,0 \times 10^1$	< 0,3	< 0,3	$1,0 \times 10^2$
32	$6,8 \times 10^2$	12,0	0,7	$2,0 \times 10^2$
33	$7,3 \times 10^2$	4,3	< 0,3	< $1,0 \times 10^2$
34	$9,0 \times 10^2$	4,3	< 0,3	< $1,0 \times 10^2$
35	$2,1 \times 10^3$	4,3	< 0,3	$5,0 \times 10^2$
36	$9,7 \times 10^2$	< 0,3	< 0,3	< $1,0 \times 10^2$
37	$5,5 \times 10^2$	< 0,3	< 0,3	$2,0 \times 10^2$
38	$2,9 \times 10^2$	< 0,3	< 0,3	$5,5 \times 10^2$
39	$2,8 \times 10^2$	< 0,3	< 0,3	$1,5 \times 10^2$
40	$1,1 \times 10^2$	< 0,3	< 0,3	$3,0 \times 10^2$

*Valores marcados em negrito estão acima dos limites estabelecidos pela legislação brasileira²

em 25 g e máximo de 10^3 UFC/g, para mesófilos aeróbicos, coliformes totais, coliformes termotolerantes, clostrídios sulfito-redutores, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. e bolores e leveduras, respectivamente.

Os resultados obtidos nas contagens de mesófilos aeróbicos, coliformes totais, coliformes termotolerantes e

bolores e leveduras estão apresentados na Tabela 1. Em uma amostra (2,5%), identificada pelo número 16, a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva foi $1,4 \times 10^2$ UFC/g. Todas as demais apresentaram resultado < $1,0 \times 10^1$ UFC/mL. Não foram isolados *Salmonella* ou clostrídios sulfito-redutores de nenhuma das amostras estudadas.

As populações de bactérias mesófilas aeróbicas, coliformes totais e bolores e leveduras em alimentos são utilizadas como indicadoras da higiene durante a obtenção, o transporte, o processamento e a estocagem dos produtos. A presença de *Salmonella*, *Staphylococcus* coagulase positiva e clostrídios sulfito-redutores está relacionada à sanidade do produto. Embora o consumo de chocolate tenha sido implicado em um surto de infecção alimentar causado por *Salmonella* do sorotipo Typhimurium ocorrido na Noruega e na Finlândia em 1987⁵, no presente trabalho, não foram detectados micro-organismos desse gênero em nenhuma das amostras estudadas. Elevadas contagens de coliformes termotolerantes, além de indicarem condições inadequadas de higiene, são também indicadores sanitários, uma vez que a presença desses micro-organismos significa que patógenos de origem fecal podem ter contaminado o produto. Baylis et al.⁶ demonstraram que *Escherichia coli* O157:H7, um dos mais importantes coliformes enteropatogênicos, frequentemente associado a doenças transmitidas por alimentos, e outras *E. coli* produtoras de shiga toxina são capazes de se manter viáveis em chocolate experimentalmente contaminado, estocado a 10 °C, por até 12 meses. Todas as amostras analisadas no presente estudo apresentaram contagens inferiores a 1 NMP/g de chocolate.

Treze (32,5%) amostras estavam impróprias para o consumo humano, segundo a legislação brasileira¹, pois os resultados das análises microbiológicas mostraram parâmetros fora dos padrões. Dessas, 11 (27,5%) apresentaram contagens de bolores e leveduras acima dos limites estabelecidos, sendo que 7 (17,5%) estavam apenas com esse parâmetro fora dos padrões. A contagem de coliformes totais foi o segundo parâmetro com maior número de resultados (5 amostras, 12,5%) acima dos valores aceitáveis. Os resultados são indicativos de problemas de ordem higiênica, provavelmente relacionados a boas práticas de fabricação (BPF) inapropriadas ou não adotadas. Apenas 1 amostra apresentou contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva acima dos limites legais, com uma concentração de $1,4 \times 10^2$ UFC/mL. Essa contagem, em se tratando de *Staphylococcus aureus*, é considerada insuficiente para a produção de enterotoxina em quantidade capaz de causar intoxicação em humanos. Embora varie com as condições e características dos alimentos, uma dose efetiva de enterotoxina pode ser produzida quando

a população desse micro-organismo ultrapassar 10^5 células/g de alimento⁷.

O simples fato de um alimento ser produzido artesanalmente não significa que não possua a qualidade higiênica necessária para constituir-se em alimento próprio para o consumo humano. Entretanto, quando os produtos não sofrem inspeção por órgãos oficiais, não há garantia da padronização nos procedimentos de higiene, nem fiscalização do uso de BPF, o que aumenta os riscos de contaminação e perda da qualidade.

Os resultados obtidos no presente estudo evidenciam a necessidade de maior rigor no controle higiênico da produção do chocolate caseiro ao leite comercializado no extremo sul do Brasil, como forma de garantir as condições microbiológicas adequadas dos produtos oferecidos ao consumo humano. Os resultados obtidos são um alerta no sentido da adoção de medidas higiênicas adequadas durante a produção, o manuseio e o acondicionamento do chocolate ao leite artesanal e da atenção por parte dos órgãos oficiais de inspeção de alimentos quanto ao produto elaborado artesanalmente.

REFERÊNCIAS

1. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Normas técnicas especiais. Resolução n. 12, de 30 de março de 1978. Diário Oficial [da] União, Brasília, DF, 24 jul 1978, Seção I, p. 45-53.
2. Centers of Disease Control and Prevention – CDC. *Salmonella*. 2010. [acesso 2011 nov 21]. Disponível em: [http://www.cdc.gov/salmonella/index.html].
3. Centers of Disease Control and Prevention – CDC. Estimates of foodborne illness in the United States. 2011. [acesso 2011 nov 21]. Disponível em: [http://www.cdc.gov/foodborneburden/2011-foodborne-estimates.html].
4. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Instrução Normativa n. 62, de 26 de agosto de 2003. Diário Oficial [da] União, Brasília, DF, 18 set 2003, Seção I, p. 14-51.
5. Kapperud G, Gustavsen S, Hellesnes I, Hansen AH, Lassen J, Hirt J, et al. Outbreak of *Salmonella typhimurium* infection traced to contaminated chocolate and caused by a strain lacking the 60-megadalton virulence plasmid. *J Clin Microbiol*. 1990;28(12):2597-601.
6. Baylis CL, Macphee S, Robinson AJ, Griffiths R, Lilley K, Betts RP. Survival of *Escherichia coli* O157:H7, O111:H- and O26:H11 in artificially contaminated chocolate and confectionary products. *Int J Food Microbiol*. 2004;96(1):35-48.
7. Food and Drug Administration – FDA. *Staphylococcus aureus*. Bad Bug Book: Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook, 1992. Disponível em: [http://www.cfsan.fda.gov/~mow/chap3.html].