

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

VINICIUS ROSSI REIS

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE PRODUTOS A  
BASE DE CHOCOLATES ARTESANAIS**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

LONDRINA  
2014

VINICIUS ROSSI REIS

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE PRODUTOS A  
BASE DE CHOCOLATES ARTESANAIS**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado à disciplina Trabalho de Conclusão de Curso 2 do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, campus Londrina, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos.

Orientador: Prof. Dra. Marly Sayuri Katsuda

LONDRINA  
2014

## **TERMO DE APROVAÇÃO**

### **AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE PRODUTOS A BASE DE CHOCOLATES ARTESANAIS**

**VINICIUS ROSSI REIS**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado (a) em 26 de fevereiro de 2014 como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos. Os candidatos foram arguidos pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

---

Profa. Dra. Marly Sayuri Katsuda  
Prof.(a) Orientador(a)

---

Membro titular

---

Membro titular

***Combati o bom combate, acabei a carreira, guardei a fé. Desde agora, a coroa da justiça me está guardada, a qual o Senhor, justo juiz, me dará naquele dia; e não somente a mim, mas também a todos os que amarem a sua vinda.***

***(2 Timóteo 4:7-8)***

## **AGRADECIMENTOS**

Inicialmente, agradeço a Universidade Tecnológica Federal do Paraná pelo apoio a graduação e a infraestrutura para execução deste trabalho.

Agradeço à Professora Doutora Marly Sayuri Katsuda pelo aprendizado, auxílio, sabedoria e dedicação com que me guiou nesta trajetória.

Agradeço a Deus por guiar-me ao longo de toda a graduação.

Agradeço a minha família pela paciência, carinho e por todo amor dedicado a mim.

E finalmente, a todos que de alguma forma prestaram ajuda a mim para o desenvolvimento deste projeto.

## RESUMO

REIS, Vinicius R. **Avaliação da qualidade microbiológica de produtos a base de chocolates artesanais**. 2014. 34f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Tecnologia em alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina. 2014.

O chocolate é um produto de grande aceitação em todo o mundo, sendo o Brasil o quarto maior consumidor e um dos maiores produtores. Com o aumento do nível de exigência por parte dos consumidores, têm surgido no mercado empresas especializadas, com a proposta de oferecer chocolates artesanais finos. Desta forma, este trabalho teve por objetivo colaborar com uma determinada empresa da cidade de Londrina executando uma avaliação da qualidade microbiológica de chocolates artesanais. As análises microbiológicas foram realizadas no tempo inicial e 14 dias de estocagem das amostras de trufas com recheio de maracujá, pão de mel e cookies com gotas de chocolate. Os produtos foram avaliados quanto a contagem de *Coliformes a 45°C*, Bolores e leveduras, *Staphylococcus aureus*, e pesquisa de *Salmonella sp.* conforme os requisitos legais exigidos para esses produtos. Os resultados mostraram ausência de *Salmonella sp.* em todas as amostras. As amostras de trufas e pão de mel apresentaram contagem de *Coliformes a 45°C* e *Staphylococcus aureus* acima dos limites legais ainda no tempo inicial. Somente o cookie apresentou baixa contagem de bolores e leveduras embora tenha apresentado elevadas contagens nos demais requisitos microbiológicos. Este estudo demonstrou a necessidade da empresa implantar o sistema de Boas Práticas de fabricação junto aos colaboradores. Após esta avaliação foi realizado um breve diagnóstico na estrutura e instalação do setor produtivo e foi sugerida aos dirigentes da microempresa a necessidade de alterar o leiaute da produção da indústria e necessidade de treinamentos de boas práticas dos colaboradores da produção.

**Palavras-chave:** Chocolates artesanais. Análises microbiológicas. Boas práticas de fabricação.

## ABSTRACT

REIS, Vinicius R. **Evaluation of microbiological quality in products based by artisanal chocolates**. 2014. 34p. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Tecnologia em alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina. 2014.

Chocolate is great acceptance product around the world, Brazil is the fourth largest consumer and one of major producers. The increased demand level from consumers have increasing the market specialized companies, with the proposal to offer fine artisanal chocolates. This study aimed to collaborate with a particular company in Londrina performing a microbiological quality evaluation of handmade chocolates . The microbiological analyzes were performed at first and 14th days of storage of samples of truffles stuffed with passion fruit, honey bread and chocolate chip cookies . The products were evaluated for termotolerant coliform count, yeasts and molds, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella sp.* accordance with the legal requirements for such products. The results showed absence of *Salmonella sp.* in all samples. The samples of truffles and honey bread showed termotolerant coliform count and *Staphylococcus aureus* above the legal limit at a very early time. Only the cookie had low counts of yeasts and molds although it had high scores in the other microbiological requirements. This study demonstrated the need for the company to deploy the system for Good Manufacturing Practices with employees. After this evaluation was carried out in a brief diagnosis structure and the productive sector, and has been suggested to the leaders of microcompany the need to change the lay-out of the production industry and the need for training of best practices of employees in production .

**Keywords:** Artisanal chocolates. Microbiological analyzes. Good manufacturing practices

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Procedimento de avaliação da presença de <i>Salmonella sp.</i> (SILVA, 2007).....	16
Figura 2 - Procedimento realizado para análise de Coliformes termotolerantes de acordo com Silva (2007).....	18
Figura 3 - Procedimento de análise da contagem de <i>Staphylococcus aureus</i> (SILVA, 2007).....	19
Figura 4 - Procedimento de análise de Bolores e leveduras segundo descrito por Silva (2007) .....	20



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Resultados obtidos a partir de análises de <i>Salmonella sp</i> , no tempo inicial de fabricação e no tempo posterior a 14 dias da fabricação, comparados à legislação vigente.....	23
Tabela 2 – Resultados obtidos a partir de análises de <i>Coliformes a 45°C</i> , no tempo inicial de fabricação e no tempo posterior a 14 dias da fabricação, comparados à legislação vigente .....	24
Tabela 3 – Contagem de <i>Staphylococcus Aureus</i> no tempo inicial e 14 dias após a estocagem, comparados aos limites legais.....	26
Tabela 4 – Contagem de bolores e leveduras no tempo inicial e 14 dias de estocagem.....	27

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>08</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>09</b>
2.1 Objetivo Geral .....	09
2.2 Objetivos Especificos .....	09
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>10</b>
3.1 CONSUMO DE CHOCOLATE NO BRASIL .....	10
3.2 CHOCOLATES ARTESANAIS FINOS .....	11
3.3 DOENÇAS DE ORIGEM ALIMENTAR .....	11
3.4 Boas Práticas de Fabricação.....	12
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>14</b>
4.1 AMOSTRAS E REAGENTES .....	14
4.2 MÉTODOS .....	14
4.2.1 Processamento da Matéria-prima .....	15
4.2.2 Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp .....	15
4.2.3 Contagem de Coliformes a 45°C .....	17
4.2.4 Contagem de <i>Staphylococcus aureus coagulase positiva</i> .....	19
4.2.5 Contagem de bolores e leveduras.....	20
4.2.6 Procedimentos de análise de resultados.....	21
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>22</b>
5.1 PESQUISA DE <i>Salmonella</i> spp.....	22
5.2 CONTAGEM DE COLIFORMES A 45°C.....	24
5.3 CONTAGEM DE <i>Staphylococcus aureus coagulase positiva</i> .....	26
5.4 Contagem de bolores e leveduras.....	28
5.5 Medidas para minimização dos problemas encontrados.....	29
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	<b>32</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>33</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os brasileiros são grandes apreciadores de chocolate, atualmente o Brasil ocupa o quarto lugar como país que mais consome essa iguaria, e também é um dos líderes em produção do mesmo. Um forte apelo ao consumo no período da páscoa era observado pelas grandes empresas, porém o cenário tem mudado a cada dia, as grandes marcas têm investido pesadamente dentro desse setor, já que o brasileiro se identifica muito com o produto. É cada vez mais comum encontrar nas prateleiras diferentes tipos de sabores, chocolates para portadores de doença celíaca, diabéticos e outros, ou seja, as inovações têm conquistado os consumidores de várias classes, em grande diversidade, ao longo de todo o ano e não mais somente na época da páscoa.

Outra tendência que se observa no Brasil é o aumento no consumo de chocolates finos, e conseqüentemente tem aumentado também o número de empresas com um apelo a esse tipo de produto. Esse fato é sem dúvida, um indicativo de que o consumidor está cada dia mais exigente por qualidade no que diz respeito ao requinte e sabor.

O perfil desse consumidor mais exigente também está relacionado à sua preocupação quanto à segurança alimentar. Com o rápido acesso a informação, o consumidor está cada vez mais inteirado sobre os riscos que os alimentos podem ocasionar. Contaminações de alimentos são bastante comuns, em alguns casos a pessoa não apresenta nenhum sintoma aparente, mas em algumas situações a ingestão de alimentos contaminados por micro-organismos pode causar enfermidades de grau bastante elevado.

Para evitar riscos extremos, como toxi-infecções alimentares, as empresas do setor alimentício implantam treinamentos para as equipes de profissionais, métodos de boas práticas de fabricação em sua linha de produção, que auxiliam na prevenção da contaminação do produto, de forma a garantir a qualidade do mesmo ao consumidor oferecendo um alimento seguro.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a qualidade microbiológica de chocolates artesanais.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Realizar as análises de Coliformes Termotolerantes, *Staphylococcus aureus*, bolores, leveduras e presença de *Salmonella sp* das amostras em estudo no tempo inicial de fabricação e após 14 dias de armazenamento;
- c) Avaliar a qualidade microbiológica baseado nos limites legais dos produtos;
- d) Aplicação de métodos corretivos para eventuais problemas microbiológicos.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 PRODUÇÃO E CONSUMO DE CHOCOLATE NO BRASIL

O Brasil é o quarto maior consumidor de chocolate do mundo. Atração principal durante a Páscoa, o chocolate já é considerado um dos doces preferidos dos brasileiros. A cada ano cresce o consumo do produto no País. De acordo com o último balanço da Associação Brasileira da Indústria de Chocolates, Cacau, Amendoim, Balas e Derivados (ABICAB), o Brasil é o terceiro maior produtor e quarto maior consumidor de chocolate do mundo, teve sua produção no primeiro semestre de 2012 de 228.212 toneladas, 4,2% maior se comparado com o mesmo período de 2011.

O consumo de chocolate de confeitaria teve um aumento de 11% entre 2000 e 2008 em alguns países, dentre eles o Brasil, o que corresponde a uma taxa de crescimento anual de 1,3% (AFRAS, 2009).

O reflexo desse alto consumo e produção pode estar relacionado ao número de empresas no ramo, que tem crescido nos últimos anos e também ao fortalecimento da economia interna, onde o poder de compra das classes inferiores tem se elevado (ISTO É, 2013).

O consumo tende a permanecer crescente, já que o investimento em ações de marketing sobre os produtos tem aumentado, sobretudo na época do pico de vendas que acontece na páscoa. Várias empresas do ramo têm investido em produtos diferenciados, na oferta de novos sabores e adicionando surpresas juntamente com os ovos de páscoa (ISTO É, 2013).

Outra estratégia de marketing que tem atraído ainda mais consumidores é o desenvolvimento de chocolates diet, com alto teor de cacau, sem lactose ou glúten. Esses são apenas alguns exemplos de variedades que tem sido oferecido nas prateleiras dos supermercados, e já é possível avaliar a opinião dos consumidores por esses produtos como positiva, já que com a oferta desses produtos as empresas têm

alcançado diferentes classes de consumidores e conseqüentemente aumentado o número de venda (ISTO É, 2013).

### 3.2 CHOCOLATES ARTESANAIS FINOS

O Brasil representa um grande mercado consumidor de chocolate. No ano de 2011, a indústria brasileira do setor de confeitos, no qual o chocolate se encontra, teve um faturamento real de US\$ 12,6 bilhões. No Brasil, houve uma taxa de crescimento de 2,1% sobre as 78,3 mil toneladas consumidas no mesmo período de 2010 (ABICAB, 2012). O país ainda possui a maior rede de chocolates finos do mundo segundo a Associação Franquia Sustentável (AFRAS, 2009), que do ano de 2009 para o ano de 2013 passou de 1100 franquias da marca (AFRAS, 2009) para 1300 (CACAU SHOW, 2013).

Houve também um aumento de lojas direcionadas à venda de chocolates finos nos últimos anos, contando com a maior rede de franquias de chocolates finos do mundo e ao apelo do significado do produto, pois o chocolate é um produto de aceitação universal, consumido no dia a dia, e é também conhecido em todos os países, culturas, credos idades e gênero e igualmente um produto usado em trocas de presentes de forma universal, sendo utilizado para trocas mais impessoais, como entre pessoas de vínculo distante até pessoas de vínculos afetivos próximos (BELK; COSTA, 1998).

### 3.3 DOENÇAS DE ORIGEM ALIMENTAR

O risco de contaminação por micro-organismos em alimentos é iminente, os micro-organismos patogênicos estão presentes no solo e, conseqüentemente, nas

colheitas, no gado, nas aves e nos peixes. Portanto, é inevitável que produtos crus utilizados como ingredientes carreguem contaminação patogênica. Dessa forma, para evitar toxinfecções alimentares, os patógenos de ingredientes devem ser identificados e controlados (FORSYTHE, 2002).

As principais causas que contribuem para tornar um alimento inseguro, causando toxinfecções as pessoas que os ingerem são, controles inadequados da temperatura durante o cozimento, o resfriamento e estocagem, higiene pessoal insuficiente, contaminação cruzada, monitoramento inadequado dos processos. Esses fatores podem ser reduzidos consideravelmente por meio de treinamento adequado da equipe e implementação do sistema APPCC (FORSYTHE, 2002).

As enfermidades de origem alimentar ocorrem quando uma pessoa contrai uma doença devido à ingestão de alimentos contaminados com microorganismos ou toxinas indesejáveis. Os sintomas mais comuns de doenças de origem alimentar incluem dor de estômago, náusea, vômitos, diarreia e febre. (FORSYTHE, 2002).

### 3.4 BOAS PRÁTICAS DE FABRICAÇÃO

Forsythe (2002) destaca que as Boas Práticas de Fabricação e as Boas Práticas de Higiene (BPF/BPH) foram desenvolvidas por governos, pelo comitê de higiene de alimentos do *Codex Alimentarius* (FAO/WHO) e por indústrias de alimentos, muitas vezes em colaboração com outros grupos de inspeção e controle. As Boas Práticas de Fabricação abordam os princípios, os procedimentos e os meios fundamentais favoráveis para a produção de alimentos com qualidade aceitável. Já As Boas Práticas de Higiene descrevem as medidas básicas de higiene que os estabelecimentos devem manter.

Portanto, as BPF's são normas de procedimentos para atingir um determinado padrão de identidade e qualidade de um produto e/ou um serviço na área de alimentos,

cuja eficácia e efetividade devem ser avaliadas por meio de inspeção e/ou investigação (FORSYTHE, 2002).

Existem algumas medidas básicas na execução das boas praticas de fabricação. Em primeiro lugar lavar as mãos constantemente, manter escrupulosamente limpas todas as superfícies da área de trabalho, utilizar água pura no processo, manter os alimentos fora do alcance de insetos, roedores e outros animais, evitar o contato entre os alimentos crus e os cozidos, armazenar cuidadosamente os alimentos, cozinhar bem os alimentos, entre outras práticas para assegurar a segurança dos alimentos (SILVA, 1995).



## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 AMOSTRAS E REAGENTES**

As amostras foram coletadas logo após a fabricação e embaladas, no período de 19 de novembro a 02 de dezembro de 2013. Em seguida foram encaminhadas diretamente para o laboratório de microbiologia de alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Londrina, para realizar as análises. Os produtos coletados foram trufas de chocolate com recheio de maracujá, pão de mel fresco recheado com doce de leite industrializado e cookie com gotas de chocolate. Todos esses produtos foram fornecidos por uma empresa local, fabricante de chocolates artesanais.

Todos os reagentes e meios de cultura eram de grau analítico.

### **4.2 MÉTODOS**

As análises microbiológicas foram realizadas em dois tempos distintos uma no tempo imediatamente após sua fabricação, e outra aos 14 dias de estocagem. Para garantir a eficiência e segurança das análises, uma placa de controle foi incubada junto às demais placas com as amostras inoculadas. As amostras foram acondicionadas em um armário com temperatura ambiente, limpo, seco e arejado, simulando as condições de armazenamento nos pontos de venda.

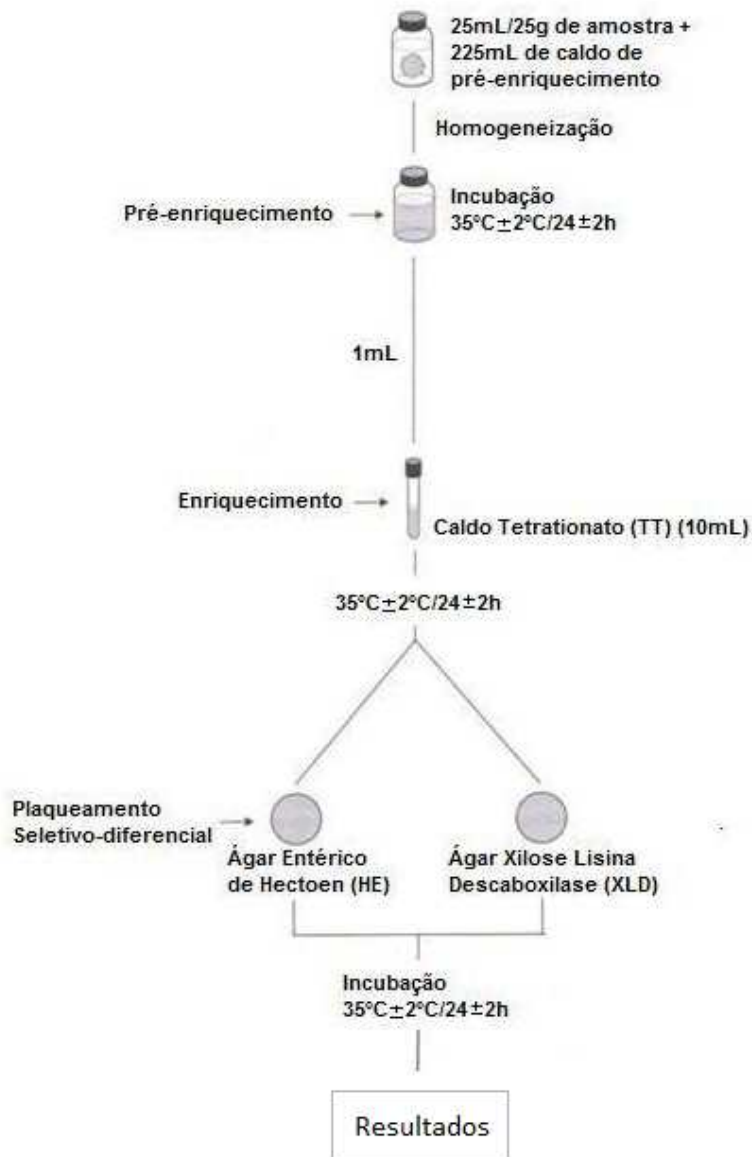
#### 4.2.1 Preparo das amostras

As amostras coletadas em embalagem própria foram sanitizadas com álcool 70% e fracionadas em fluxo laminar para efetuar a pesagem. Essas amostras foram fracionadas assepticamente em porções de 25g, e colocadas em placas de Petri estéreis, com o auxílio de facas e espátulas esterilizadas. Estas foram adicionadas em erlenmeyer contendo 225 ml de água peptonada estéril, procedidos de homogeneização por 3 minutos. Esta solução foi considerada a diluição  $10^{-1}$ . Em seguida, foram realizadas diluições decimais seriadas até  $10^{-4}$ .

#### 4.2.2 Pesquisa de *Salmonella* sp.

Após 24 horas, uma alíquota de 1 mL do produto pré-enriquecido foi colocada em 10 ml de caldo tetracionato para o enriquecimento, este procedimento foi realizado em condições assépticas e permaneceu em estufa a 35°C por 24 horas. Após este período, realizou-se o plaqueamento seletivo diferencial em Agar Entérico de Hectoen (HE) e em Agar Xilose Lisina Descarboxilase (XLD), ambos com auxílio da alça de platina através do método de estrias de esgotamento. As placas foram incubadas a 35°C durante 24 horas e posteriormente efetuou-se a contagem de colônias que apresentaram a morfologia de colônias típicas.

A figura 1 expressa o procedimento de análise realizada para pesquisa de presença de *Salmonella* sp.

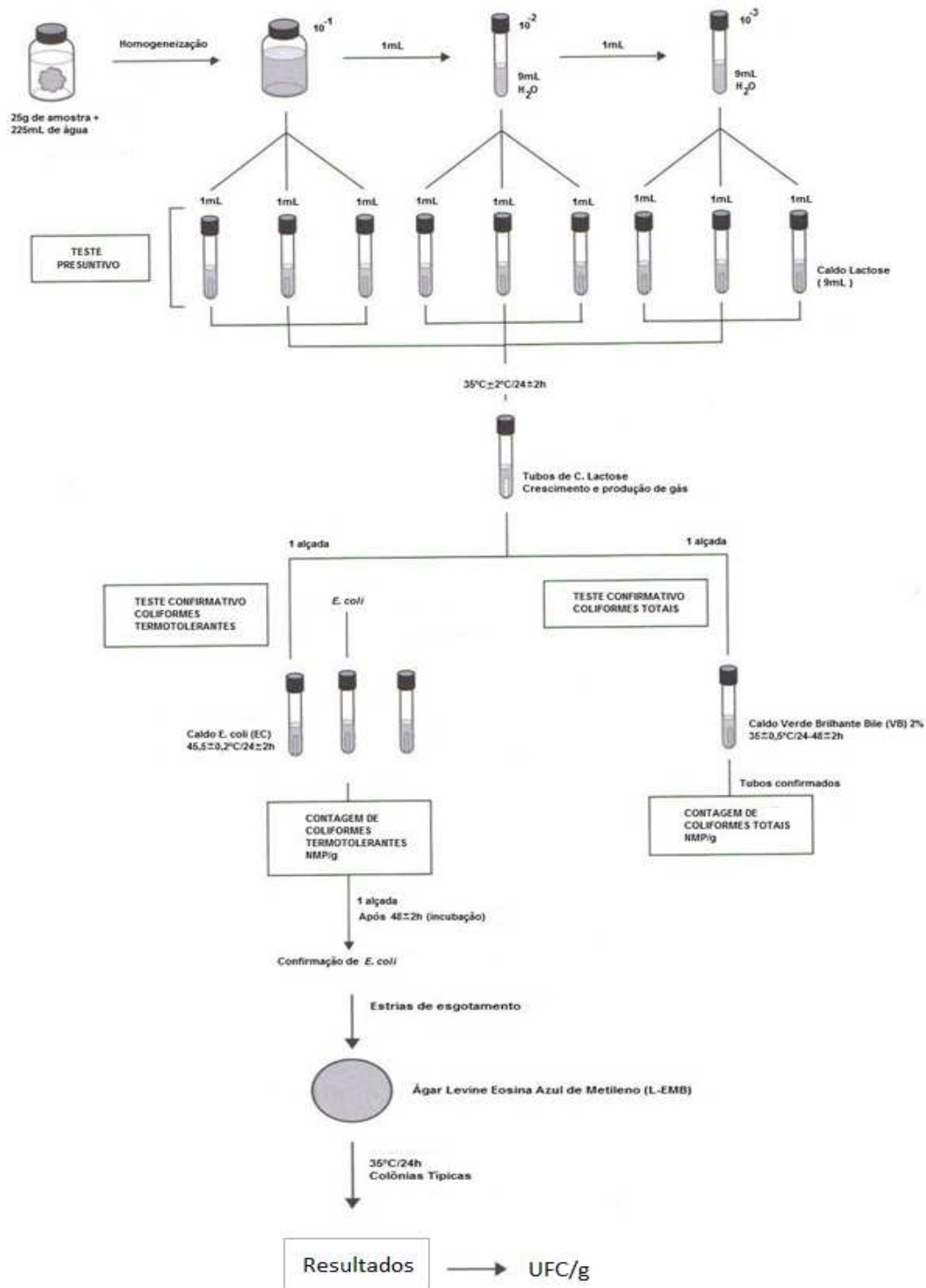


**FIGURA 1 - Procedimento de avaliação da presença de *Salmonella sp.* (SILVA, 2007)**

#### 4.2.3 Contagem de Coliformes Termotolerantes.

Após 24 horas, uma alíquota de 1 ml do produto pré-enriquecido foi colocada em 9 ml de água destilada, caracterizando assim a diluição  $10^{-2}$ . A partir desta, foi novamente retirada uma alíquota de 1 ml e colocada em 9 ml de água destilada, chegando na diluição  $10^{-3}$ . Uma fração de 1 ml de cada diluição foi adicionada em 9 ml de caldo lactose, em tubos de Durham para o enriquecimento utilizando a técnica dos tubos múltiplos. Este procedimento foi realizado em condições assépticas e permaneceu em estufa a  $35^{\circ}\text{C}$  por 24 horas. Após este período, realizou-se uma alçada em caldo E.C., mais uma vez permanecendo em estufa a  $45^{\circ}\text{C}$  por 48 horas. Em seguida fez-se o plaqueamento em Agar Levine Eosina Azul de Metileno (L-EMB), com auxílio da alça de platina através do método de estrias de esgotamento, incubando-o a  $35^{\circ}\text{C}$  por 24 horas. Após este período efetuou-se a contagem de coliformes termotolerantes.

A Figura 2 ilustra os procedimentos analíticos realizados para a determinação da contagem de coliformes termotolerantes.

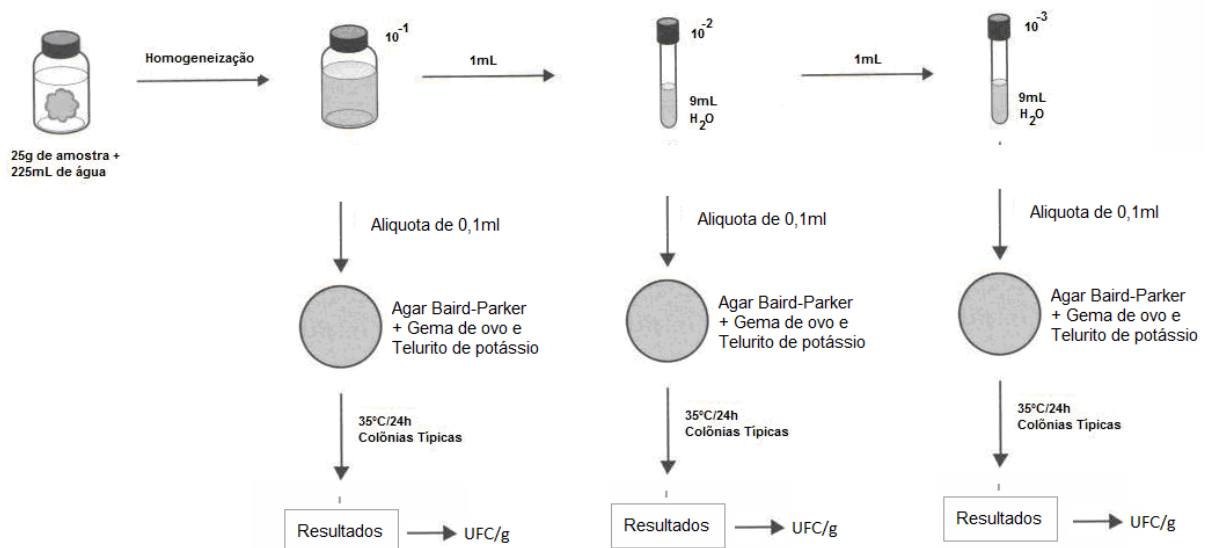


**FIGURA 2 – Procedimento realizado para análise de Coliformes termotolerantes de acordo com Silva (2007).**

#### 4.2.4 Contagem de *Staphylococcus aureus*

Após diluição da amostra em água peptonada esta solução foi sucessivamente diluída até atingir a concentração  $10^{-3}$ . Coletou 0,1ml das três últimas diluições das amostras e estas foram plaqueadas em Ágar Baird-Parker (BP) adicionado de gema de ovo e telurito de potássio, seguido de incubação por 24 horas a  $37^{\circ}\text{C}$ . Em seguida realizou-se a contagem de colônias típicas, expressando os resultados em UFC/g.

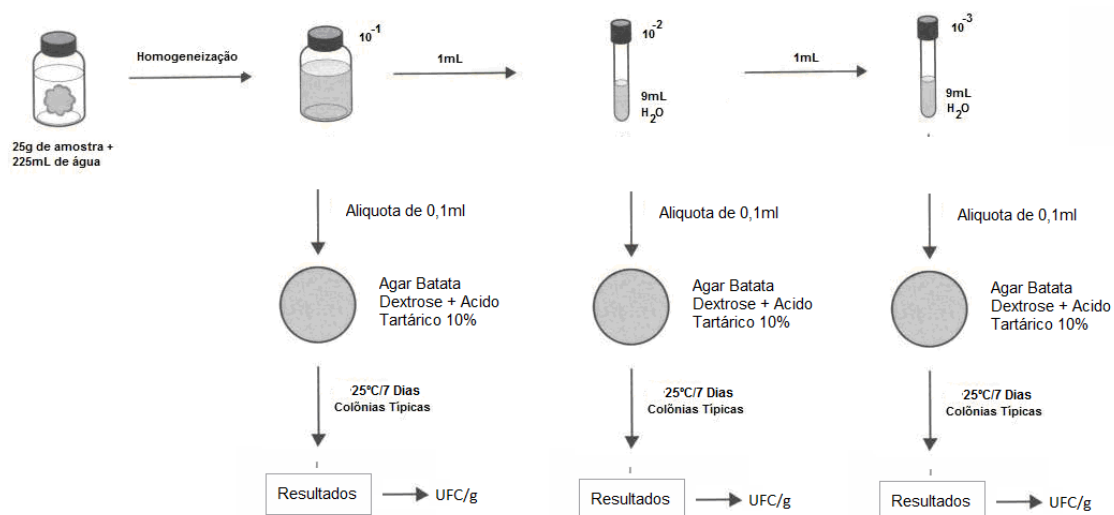
A figura 3 ilustra os procedimentos analíticos realizados para a determinação da contagem de *Staphylococcus aureus*.



**FIGURA 3 – Procedimento de análise da contagem de *Staphylococcus aureus* (SILVA, 2007).**

#### 4.2.5 Contagem de bolores e leveduras

A partir das amostras diluídas em água peptonada, uma alíquota de 1ml foi colocada em 9 ml de água destilada, prosseguindo diluições seriadas até  $10^{-4}$ . A partir das três últimas diluições, uma fração de 0,1ml foi espalhada na superfície do meio de cultura composto por Agar Batata Dextrose (BDA) acidificado com ácido tartárico a 10%, com auxílio de uma alça de Drigalski e estas foram incubadas por 7 dias a  $25^{\circ}\text{C}$ . Em seguida foi efetuada contagens de todas as colônias que desenvolveram na placa após o período de incubação. A figura 4 ilustra os procedimentos analíticos para determinar a contagem de bolores e leveduras.



**Figura 4 – Procedimento de análise de Bolores e leveduras segundo descrito por Silva (2007).**

#### 4.2.6 Procedimentos de análise de resultados

Após o crescimento total em estufa, as placas das análises de Bolores e leveduras e *Staphylococcus aureus* seguiram para o contador de colônias onde os resultados puderam ser contabilizados. Para a análise de *Salmonella sp.* Consistiu na avaliação da presença ou ausência da mesma e a avaliação de Coliformes termotolerantes foi efetuada a contagem em NMP/g. Nesta etapa foi observado a presença de micro-organismos nas placas de controle.



## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente, foi realizada uma visita técnica à fábrica local para verificação das condições higiênico-sanitárias na elaboração dos produtos.

A fábrica atendia as normas exigidas pela vigilância sanitária do município, no quesito estrutura e instalação, pois possuía regularidade na qualidade do piso, pintura, janelas e iluminação. Porém apresentou algumas irregularidades de acordo com a Resolução - RDC nº 275, de 21 de outubro de 2002, tais como, problemas na higienização da linha de produção, que não são efetuadas todos os dias; problemas com os manipuladores, que muitas vezes não apresentavam correto manejo e higienização. Além destes fatores, alguns utensílios para a elaboração encontravam-se irregulares, sendo de material impróprio ou apresentando assepsia incorreta.

Estes fatos foram observados previamente a realização das análises microbiológicas para conferir se essas irregularidades iriam interferir na qualidade dos produtos.

### 4.1 PESQUISA DE *Salmonella spp*

Levantamentos epidemiológicos realizados em vários países situam as salmonelas entre os agentes patogênicos mais freqüentemente encontrados em surtos de toxinfecção de origem alimentar, tanto em países desenvolvidos, como em desenvolvimento. As análises foram realizadas conforme os métodos apresentados anteriormente, e obtiveram-se os seguintes resultados conforme o Tabela 1.

**Tabela 1 – Resultados obtidos a partir de análises de *Salmonella sp*, no tempo inicial de fabricação e no tempo posterior a 14 dias da fabricação, comparados à legislação vigente.**

<b>Produto</b>	<b>Presença de <i>Salmonella sp</i> tempo inicial</b>	<b>Presença de <i>Salmonella sp</i> após 14 dias</b>	<b>Limites legais</b>
Trufa de maracujá	Ausência em 25g	Ausência em 25g	Ausência em 25g
Pão de mel	Ausência em 25g	Ausência em 25g	Ausência em 25g
Cookie	Ausência em 25g	Ausência em 25g	Ausência em 25g

Fonte: Autoria Própria

Nota: (1) Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001.

De acordo com os resultados, o produto apresentou ausência de *Salmonella sp.*, ou seja, o mesmo estava dentro dos limites recomendados pela legislação (BRASIL, 2001)

Brat et al., (2007) cita que ausência de *Salmonella sp.* pode ser causada pela menor capacidade de competição dessas espécies, em relação a outros organismos de maior incidência, como por exemplo coliformes. A ocorrência desses micro-organismos em alimentos está, muitas vezes, associada às contagens menores de outros contaminantes.

## 4.2 CONTAGEM DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES

A contagem de coliformes termotolerantes apresentou fora do padrão já no tempo inicial de estocagem, os resultados obtidos encontram-se na Tabela 2.

**Tabela 2 – Resultados obtidos a partir de análises de *Coliformes a 45°C*, no tempo inicial de fabricação e no tempo posterior a 14 dias da fabricação, comparados à legislação vigente.**

Produto	Contagem no tempo inicial (NMP/g)	Contagem aos 14 dias (NMP/g)	Limite permitido pela legislação (NMP/g)
Trufa de maracujá	>300	>300	5
Pão de mel	>300	>300	5
Cookie	>300	>300	5

Fonte: Autoria Própria

Nota: (1) Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001.

Os resultados encontrados foram insatisfatórios segundo a Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001, o que torna o produto impróprio para o consumo, tendo em vista que uma contaminação por *E. coli* segundo Frazão (2014), pode ocasionar em algumas doenças, como Gastroenterite, Infecção urinária, Pielonefrite, Apendicite, Peritonite, Meningite e Septicemia.

Estudos têm demonstrado que inúmeros surtos alimentares têm sido freqüentemente associados à precária higiene pessoal dos manipuladores. De fato, eles exercem uma função importante na segurança alimentar por poderem introduzir patógenos nos alimentos durante a produção, processamento, distribuição e o preparo. A presença de micro-organismo patogênico nas mãos representa grande importância

epidemiológica, devido à possibilidade de transferência cruzada para os alimentos (NAVARRO, 2000).

Segundo GERMANO (2000) a contaminação de alimentos pode ocorrer através da água, dos recipientes e utensílios contaminados e dos próprios manipuladores. A manipulação e elaboração dos produtos da indústria foram realizadas com água tratada, porém proveniente da torneira. No estudo de SALLES e GOULART (1996), a água utilizada nesse processo apresentou 33,3% de positividade para coliformes totais e 16,6% para coliformes fecais, caracterizando-se como fora dos padrões, sugerindo que a água pode ser veículo de contaminação em um processo de produção.

Portanto, medidas corretivas, na manipulação, em utensílios e na qualidade da água devem ser adotadas para que a qualidade do produto referente à presença de *Coliformes* seja garantida.

#### 4.3 CONTAGEM DE *Staphylococcus aureus* coagulase positiva

Alimentos contaminados com as toxinas da bactéria podem provocar intensa intoxicação vômitos e diarreia. Esses alimentos podem ser contaminados na hora de sua manipulação, por produtos que não foram cozidos ou refrigerados adequadamente e que permitem a multiplicação da bactéria e a produção da toxina. Se invadir a circulação sanguínea, poderá atingir qualquer órgão, desencadeando infecções graves, sepse e choque séptico. Uma das infecções mais graves, provocadas pelo *Staphylococcus aureus*, é a endocardite, no coração, mas outras infecções possíveis são a pneumonia, a pielonefrite e osteomielite. Os resultados determinados no estudo encontram-se na Tabela 3.

**Tabela 3 – Contagem de *Staphylococcus Aureus* no tempo inicial e 14 dias após a estocagem, comparados aos limites legais.**

Produto	Contagem no tempo inicial (UFC/g)	Contagem aos 14 dias (UFC/g)	Limites legais (UFC/g)
Trufa de maracujá	$2,2 \times 10^5$	$3,7 \times 10^5$	$5 \times 10^2$ UFC/g
Pão de mel	$4,7 \times 10^5$	$6,3 \times 10^5$	$5 \times 10^2$ UFC/g
Cookie	$3,3 \times 10^5$	$4,8 \times 10^5$	$5 \times 10^2$ UFC/g

Fonte: Autoria Própria

Nota:

(1) Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001

A manipulação inadequada dos alimentos por parte dos portadores da bactéria constitui a principal fonte de contaminação dos alimentos com estafilococos (LANCETTE, 1992). Fernandes *et al.* (1998) relataram um surto de intoxicação alimentar no município de Contagem, MG, onde a contaminação dos alimentos por *S. aureus* teve origem nos manipuladores. Para prevenir a intoxicação estafilococica é importante, além de manter a saúde dos manipuladores, manterem os alimentos sob refrigeração, pois, desta forma, impede-se a multiplicação bacteriana e conseqüentemente a produção de enterotoxinas, evitando os surtos de intoxicação (FRANCO; LANDGRAF, 1996). Assim, os resultados do presente trabalho permitiram inferir que os produtos apresentaram elevado grau de contaminação desse micro-organismo indicando que houve falha na higienização e na manipulação. É importante que a partir desses resultados neste estudo, o proprietário da empresa planeje ações com o objetivo de reduzir e prevenir a contaminação de seus produtos. A implantação de boas práticas de fabricação e controle para os manipuladores são instrumentos significativos para prevenção dos surtos de intoxicação alimentar.

#### 4.4 CONTAGEM DE BOLORES E LEVEDURAS

Os fungos são micro-organismos largamente distribuídos no meio ambiente, incluindo o ar, a água, o solo e o pó. Como consequência os alimentos podem tornar-se contaminados com uma ampla variedade de espécies fúngicas originárias de fontes ambientais e que sob condições favoráveis podem multiplicar-se nos alimentos e provocar deterioração (TANIWAK, 2001).

Os fungos são importantes em alimentos, pois, ao crescer nos alimentos causam mudanças indesejáveis, tanto na composição química quanto na estrutura e aparência. Desta forma, o alimento passa a ser rejeitado, o que representa perda econômica e/ou desperdício de matéria-prima. Além disso, podem produzir toxinas que representam sério risco para saúde humana e animal, pois podem provocar doenças que levam à morte. Desta forma a detecção e quantificação de fungos são análises essenciais na caracterização microbiológica dos alimentos, sendo a população fúngica um parâmetro importante no julgamento das condições de higiene e das práticas de controle durante a manufatura e distribuição de alimentos.

Os resultados da contagem de bolores e leveduras encontram-se na Tabela 4.

**Tabela 4 – Contagem de bolores e leveduras no tempo inicial e 14 dias de estocagem.**

<b>Produto</b>	<b>Contagem no tempo inicial (UFC/g)</b>	<b>Contagem aos 14 dias (UFC/g)</b>	<b>Limites legais para produto similares (UFC/g)</b>
Trufa de maracujá	$2,7 \times 10^6$	$5 \times 10^6$	Máximo $10^3$
Pão de mel	$1,13 \times 10^4$	$3,2 \times 10^4$	Máximo $10^3$
Cookie	$1 \times 10^2$	$2,8 \times 10^4$	Máximo $10^3$

Fonte: Autoria Própria

Nota: (1) Resolução CNNPA nº12 de 1978.

Para todos os produtos em todos os tempos de análise, as amostras encontraram-se irregulares, salvo o cookie de chocolate no tempo inicial, onde a amostra apresentou dentro do limite requerido pela legislação. As possíveis causas dessa contaminação podem ser devido a falha na higienização na instalação da produção, falha na higienização dos manipuladores, estocagem inadequada dos ingredientes e embalagens e problemas no processamento dos produtos.

#### 4.5 MEDIDAS PARA MINIMIZAÇÃO DOS PROBLEMAS ENCONTRADOS

Conforme mencionado anteriormente, para a garantia da eficiência e segurança das análises foram utilizadas as placas de controle para cada amostra avaliada, todas as placas não apresentaram contaminação, ou seja, a execução dos procedimentos de análises pode ser considerada como segura e livre de qualquer contaminação por micro-organismos.

Os resultados obtidos foram apresentados à empresa com a finalidade de sensibilizar o empresário e os colaboradores da micro-empresa sobre a necessidade de efetuar mudanças de atitudes e procedimentos na linha de produção.

Tendo em vista que os resultados não foram satisfatórios quanto à estabilidade microbiológica dos produtos iniciou-se a outra etapa dentro da fábrica, a implantação de medidas corretivas para adequar à produção dentro das normas aceitáveis de fabricação e conseqüentemente reduzirem os níveis de contaminação nos chocolates até os permitidos por legislação.

A primeira sugestão dada ao empresário e ao responsável técnico da produção foi uma implantação de programa de Boas Práticas de Fabricação com a finalidade de enquadrar a planta de produção conforme os requisitos exigidos pela legislação para uma micro-empresa, pois o setor de produção não era separado do processamento de matéria-prima com a produção dos

alimentos. Além da disposição da planta foi sugerido separar a sala de estocagem da matéria prima e embalagem. E finalmente foi sugerido urgentemente a elaboração de manuais de boas práticas de manipulação para treinar os atuais e futuros colaboradores da empresa.

Foi realizado um levantamento dos pontos fracos nos procedimentos operacionais na linha de produção. Percebeu-se que havia necessidade de realizar um treinamento da equipe de profissionais envolvidos na linha de produção dos chocolates. Durante o treinamento foi sugerido ao supervisor da produção que exigisse de sua equipe o uso de touca, máscara, botas, unhas curtas e sem esmaltes, cutículas curtas e não utilizar qualquer tipo de adereço que pudesse oferecer riscos de contaminação, como relógio, anéis, pulseira e outros. A higienização constantemente das mãos também foi enfatizado durante o treinamento.

Algumas mudanças em nível estrutural também foram sugeridas, como a aquisição de lixos com a abertura por pedal, evitando o contato direto das mãos com o mesmo, também a aquisição de um filtro de água para garantir a qualidade da água usada nos alimentos, a mudança de utensílios de plástico e siliconado pelo de aço inoxidável, pois estes últimos oferecem maior segurança no manejo dos alimentos devido à menor porosidade apresentada pelo material evitando riscos de acúmulo de resíduo e formação de biofilmes ou pontos de acúmulo de micro-organismos promovendo seu crescimento. Da mesma forma, as bancadas preferencialmente deveriam ser de aço inoxidável sem sulcos e soldas que favoreçam o crescimento de micro-organismos. Também deve ser promovida a limpeza e substituição periódica do filtro do ar condicionado da sala de estocagem.

Foram feitas algumas recomendações no que tange as operações diárias da empresa. Foi recomendada a higienização constante das mãos e antebraços com o auxílio de água e sabão antibacteriano para realizar a limpeza e posterior aplicação do álcool 70% para sanitização das mãos a todos os colaboradores que entrassem na área de produção. Respeitar cada



etapa do processo sem retroceder utensílios e matéria prima a uma mesa ou bancada sem higienizá-la, também não pular uma etapa enquanto esta não tenha sido concluída, para que não haja uma contaminação cruzada. Higienizar os utensílios, chão e paredes com água e sabão apropriado, repetindo sempre esses procedimentos no início e final de cada dia de trabalho. Essas medidas de auxílio e algumas outras foram repassadas aos responsáveis pela empresa, do setor de produção e aos funcionários em forma de um “*checklist*”, para facilitar o entendimento, e pela praticidade de seguir os princípios corretos no expediente.

## 5 CONCLUSÃO

Desde o primeiro contato com a estrutura da fábrica e equipe de profissionais, foi possível identificar algumas irregularidades que possivelmente comprometeria a qualidade microbiológica dos produtos, como problemas na higienização da linha de produção, que não era feita todos os dias; problemas com os manipuladores, que muitas vezes não apresentavam correto manejo e higienização. Além destes fatores, alguns utensílios para a elaboração encontravam-se irregulares, sendo de material impróprio ou apresentando assepsia incorreta.

De acordo com os resultados obtidos e através da RDC nº12, de 02 de Janeiro de 2001, que fornece as normas de ações sanitárias na área de alimentos, visando à proteção à saúde da população e a regulamentação dos padrões microbiológicos para alimentos, as três amostras analisadas estão impróprias para o consumo humano, uma vez que apresentaram valores de *Staphylococcus aureus* coagulase positiva e de coliformes termotolerantes superiores aos estabelecidos.

A partir do diagnóstico da qualidade microbiológica dos produtos analisados permitiu concluir que havia necessidade de sugerir algumas melhorias na instalação e treinamento de boas práticas de fabricação. Houve repasse dessas informações aos donos da empresa e foi efetuado um prévio treinamento de boas práticas aos manipuladores da empresa.

## REFERÊNCIAS

ABICAB. **Chocolates Impulsionam Vendas do Setor no Primeiro Semestre**. São Paulo, 2012. Disponível em: <<http://www.abicab.org.br/institucional/chocolates-impulsionam-vendas-do-setor-no-primeiro-semester>>. Acesso em 20 de Novembro de 2013.

AFRAS. **Cacau Show, a história da maior rede de chocolates finos do mundo**. São Paulo, 2008. Disponível em: <<http://www.franquiasolidaria.com.br/portal/index.php?cacau-show-a-historia-da-maior-rede-de-chocolates-finos-do-mundo>>. Acesso em 21 de Novembro de 2013.

BELK, R. W., COSTA, J. A. Chocolate Delights: Gender and Consumer Indulgences, In: Proceedings of the Fourth Conference on Gender, Marketing and Consumer Behavior. **Association for Consumer Research**, San Francisco, 1998.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução – RDC nº 12/2001**. 48p. Brasil. 2001

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução – RDC nº 275/2002**. 20p. Brasil. 2002

BRANT, L. M. F.; FONSECA, L. M., SILVA, M. C. C.; Avaliação da qualidade microbiológica do queijo-de-minas artesanal do Serro - MG. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.59, n.6, p.1570-1574, Brasil, 2007.

Brasileiro é o quarto maior consumidor de chocolate do mundo, **ISTOÉ**, São Paulo: Março. 2013.

CACAU SHOW. **Nossas lojas**. Página oficial da empresa, 2013. Disponível em: <<http://www.cacaushow.com.br/lojas>> Acesso em 17 de Novembro de 2013.

CARDOSO, T. A. O. Resíduos em serviços de saúde. In: ODA, L.M (Ed.). Biossegurança em laboratório de saúde pública. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz, 2000.

FRANCO, Bernadette Dora Gombossy de Mello; LANDGRAF, Mariza. **Microbiologia dos Alimentos**. 1. ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

FORSYTHE, Stephen J. **Microbiologia da Segurança Alimentar**. 1. ed. Porto Alegre: Artmed, 2002.

FURLANETTO, S.M.P.; CERQUEIRA-CAMPOS, M.L.; IARIA, S.T. Pesquisa de *S. aureus*, *B. cereus*, *C.perfringens* e *Salmonella* em queijo frescal, vendido em supermercado do município de São Paulo. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE MICROBIOLOGIA, 12, São Paulo, 1983. **Programa e Resumos**. São Paulo, Sociedade Brasileira de Microbiologia, 1983. p.124A.

GERMANO, Pedro Manuel Leal; GERMANO, Maria Izabel Simões. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. 3. ed. Barueri: Manole, 2008.

GERMANO, Pedro Manuel Leal; GERMANO, Maria Izabel Simões. **A vigilância sanitária de alimentos como fator de promoção da saúde**. Revista Mundo Saúde, v.24, n.1, 2000.

NAVARRO, S.H.V.R. Treinamento para manipuladores de alimentos: enfoque nas técnicas de treinamento exemplificado com a lavagem das mãos. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2000.

SALLES, R.K.; GOULART, R. Diagnóstico das condições higiênico-sanitárias e microbiológicas de lactários hospitalares. **Revista Saúde Pública**, n.31, p.131-139,1997.

SILVA, Eneo Alves da. **Manual de Controle Higiênico Sanitário em Serviços de Alimentação**. 6. ed. São Paulo: Varela, 1995.

TANIWAKI, Marta; SILVA, Neusely. **Microbiologia: fungos deteriorantes em alimentos**. Campinas: EDITORA, 2001.