

**Willian Barbosa Sales**

*Centro Universitário Autônomo do Brasil*  
sallesbio@hotmail.com

**Cristiano Caveião**

*Centro Universitário Autônomo do Brasil*  
cristiano\_caveiao@hotmail.com

**Daniela Valentim**

*Centro Universitário Autônomo do Brasil*  
nutridanivb@gmail.com

**Luara Castro**

*Centro Universitário Autônomo do Brasil*  
nutricastro@gmail.com



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
Endereço: BR-153 – Quadra Área  
75.132-903 – Anápolis – revista.prp@ueg.br

GERÊNCIA DE PESQUISA

Coordenação de Projetos e Publicações

Artigo original

Recebido em: 08/12/2015

Avaliado em: 30/01/2017

Publicado em: 21/04/2017

## ANÁLISE MICROBIOLÓGICA EM RICOTAS FRESCAL NO MUNICÍPIO DE CURITIBA - PR

## ANALYSIS MICROBIOLOGICAL IN RICOTTA FRESCAL IN CURITIBA CITY - PR

### RESUMO

Este estudo tem como objetivo analisar a quantidade de coliformes totais e termotolerantes presente em ricotas frescal, adquiridas em supermercados no município de Curitiba-PR. O método utilizado foi quantitativo, onde foram analisadas 10 unidades de ricotas frescal de diferentes marcas. As análises microbiológicas foram realizadas pelo método Petrifilm® (3M Company), para contagens de coliformes totais e termotolerantes. Houve presença de coliformes totais em 80% das amostras, nenhuma das análises foi positiva para coliformes termotolerantes (fecais), em 20% das ricotas analisadas não houve crescimento de nenhuma bactéria do grupo coliforme. Conclui-se que a presença de coliformes totais nas ricotas indica falhas higiênicas que possam ter ocorrido durante a produção e manipulação do produto, contudo é de responsabilidade do fabricante a certificação de qualidade e a garantia de um alimento seguro para o consumo.

**Palavras-Chave:** Análise microbiológica; manipulação de alimentos; microbiologia de alimentos; coliformes.

### ABSTRACT

This study aims to analyze the amount of total and thermotolerant coliforms present in fresh ricotta, purchased from supermarkets in the city of Curitiba-PR. The method used was quantitative, where 10 units of fresh ricotta of different brands were analyzed. Microbiological analyzes were performed by the Petrifilm® method (3M Company) for total and thermotolerant coliform counts. The presence of total coliforms in 80% of the samples, none of the analyzes were positive for thermotolerant (fecal) coliforms, in 20% of the analyzed ricotts there was no growth of any bacteria in the coliform group. It is concluded that the presence of total coliforms in the ricotts indicate hygienic failures that may have occurred during the production and handling of the product, but it is the responsibility of the manufacturer to certify the quality and guarantee a safe food for consumption.

**Keywords:** Microbiological analysis; food handling; food microbiology; coliforms.

## INTRODUÇÃO

A ricota é um produto de origem italiana, e tem ganhado abundantemente espaço nas prateleiras dos supermercados do Brasil, por ser um alimento que apresenta diversos benefícios para a saúde (PELLEGRINI et al., 2012). Hoje, no Brasil, há um consumo elevado de ricotas, por ser um alimento de fácil digestão, sem adição de sal e gorduras, muitas vezes consumida a fim de controlar o sobrepeso (CERESER et al., 2011). É recomendado por possuir (BRASIL, 1952) alto teor protéico (10 a 14%) e baixo teor de gordura (4 a 5%), com alto grau de digestibilidade (ESPER et al., 2011). Conforme a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), uma porção de 30 gramas de ricota, equivalentes a duas fatias médias, contém 87 quilocalorias (kcal), sendo 5,7 gramas de proteínas, 1,5 gramas de carboidratos, 6,5 gramas de gorduras totais e 40 miligramas de sódio (BRASIL, 2005).

Fabricada a partir do soro de queijo em grande proporção e leite fresco em menor, a ricota apresenta textura delicada e sabor agradável, a qual passa por tratamento térmico e acidificação. Apesar de receber esse tratamento, o Brasil não possui um regulamento técnico de identidade e qualidade da ricota, existindo apenas o regulamento de inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal cita no capítulo IV, em seu artigo 610. Onde a ricota é descrita como produto obtido da albumina de soro de queijos, podendo ser adicionado 20% do seu volume em leite integral, para ajudar na sua textura e ter no máximo 3 dias de fabricação (PELLEGRINI et al., 2012). A produção da ricota apresenta benefícios tanto no ponto de vista ecológico, quanto econômico, pelo fato da sua matéria prima ser a partir do soro do queijo, rico em proteínas (CAVALCANTI, 2014).

A ricota apresenta elevado teor de umidade (acima de 70%), caracterizando-se por ser um alimento de alta multiplicação microbiana e, mesmo sendo armazenada sob refrigeração, sua durabilidade é limitada, durando até cinco semanas se não houver nenhum tipo de contaminação (ESPER et al., 2011). Esse tipo de queijo passa por um processo de várias etapas, podendo ser misturado soro do leite com o soro do queijo ou utilizando-se apenas um desses. Com leite fresco a 65°C é feita uma acidificação direta em uma temperatura elevada de 85 a 95°C, em seguida o produto fica em repouso por 25 minutos, durante os quais ocorrerá a precipitação das proteínas contidas no leite e no soro que formará a coalhada, sendo coletada de forma delicada e depositada em fôrmas de polipropileno em formatos cilíndricos e perfurada para que seja eliminado o excesso de soro (BERNARDI, 2014).

Porém, durante a fabricação da ricota existem alguns pontos que podem ser prejudiciais para a integridade e qualidade do produto, pois a sua manipulação está exposta a inúmeras fontes de contaminação, caso as práticas higiênico-sanitárias não sejam adequadas (CAVALCANTI, 2014). Dentre os riscos de contaminação, se destaca a *Escherichia coli* como principal representante do grupo dos coliformes, sendo o seu habitat o trato entérico do homem e dos animais. Desta maneira, sua presença em alimentos indica contaminação fecal direta ou indireta, a qual pode desencadear surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA's) (CERESER et al., 2011).

As DTA's são causadas principalmente por micro-organismos, através de águas e alimentos contaminados. É o problema de saúde pública que mais acontece no mundo, apesar de muitas vezes não ser notificada pelo fato de seus sintomas serem brandos e o indivíduo não procurar ajuda de um especialista. Os sintomas como dor de estômago, náusea, vômitos, diarreia e febre, são os mais comuns. Dependendo do agente etiológico pode trazer diversas complicações, como desidratação grave, diarreia sanguinolenta, insuficiência renal aguda e insuficiência respiratória (WELKER et al., 2010).

Coliformes são bactérias de origem fecal, bacilos gram negativos, em formato de bastonetes, podendo ser anaeróbios ou aeróbios facultativos, que fermentam a lactose a 35-37°C, o que produzirá ácido, gás e aldeído no prazo de 24-48 horas (BORELI et al., 2014). Coliformes totais (CT) e termotolerantes (CTT) pertencem a família *Enterobacteriaceae*, que fermentam a lactose e formam gás, sendo diferenciados por um ter a capacidade de se reproduzir em 35°C e 45°C, respectivamente. Os CT são encontrados em vegetais e solo e os CTT são enteropatógenos, encontrados em fezes de animais de sangue quente (NASCIMENTO et al., 2014).

A presença de micro-organismos no produto final poderá afetar a qualidade do alimento, expondo o consumidor ao risco de contrair DTA's (SANTOS; HOFFMANN, 2010). O estudo tem como objetivo analisar a quantidade de coliformes totais e termotolerantes presente em ricotas frescal, adquiridas em supermercados do município de Curitiba - Paraná.

## MATERIAIS E MÉTODO

Trate-se de um estudo quantitativo das Unidades Formadoras de Colônias (UFC's), no qual foram coletadas 10 amostras de ricota frescal de marcas diferentes, com aproximadamente 100 gramas cada, em supermercados na região de Curitiba-PR. As análises foram realizadas no período de setembro a novembro de 2015.

Como critérios de inclusão foram avaliados estabelecimentos comerciais de distribuição no varejo (supermercados) que tinham como produtos de comercialização ricotas frescas de diversas marcas. Como critérios de exclusão, foram avaliados estabelecimentos comerciais de distribuição no varejo (supermercados) que não eram credenciadas pela Prefeitura Municipal de Curitiba, pelo setor de vigilância sanitária com o alvará de licença sanitária e não possuíam o produto analisado para comercialização.

No momento da aquisição das amostras, as ricotas imediatamente foram acondicionadas em caixa de material isotérmico com gelo e transportadas ao Laboratório de Microbiologia do Centro Universitário Autônomo do Brasil, para execução das análises microbiológicas. Todo o material utilizado para o processamento das amostras estava estéril e toda a operação foi realizada próxima a um bico de Bunsen, com a chama a meia altura em uma câmara de fluxolaminar.

As análises microbiológicas foram realizadas pelo método Petrifilm® (3M Company) – método oficial da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC). O método Petrifilm® realiza uma modificação na coloração para a contagem de unidades formadoras de colônia (UFC's) em placas, sendo composto por dois filmes estéreis reidratáveis, impregnados pelo meio de cultura que contém os nutrientes do ágar vermelho violeta bile (VRBA), um agente gelificante solúvel em água fria, um indicador de atividade glucuronidase (5-bromo-4cloro-3indolil-β-D-glicuronídeo) e um indicador tetrazólico (SILVA, 2010; FORSYTHE, 2013).

No laboratório, foram pesadas 25 gramas de cada ricota frescal e adicionadas em 225 mL de água peptona estéril, sendo assim liquidificadas e homogeneizadas por 1 minuto, originando a amostra. Após esse processo, foram realizadas três diluições seriadas ( $10^1$ ,  $10^2$  e  $10^3$ ) compostas por 9 mL de água peptonada e 1 mL da amostra. Com o auxílio de uma pipeta, foi inoculado 1 mL da terceira diluição no filme inferior da placa Petrifilm® e recoberto com o filme superior, em seguida, após a solidificação do gel, as placas

foram incubadas em 35°C por 48 horas para o desenvolvimento das colônias (SILVA, 2010; FORSYTHE, 2013).

Para a determinação da presença de coliformes totais e termotolerantes nas amostras, foram realizadas as contagens das UFC's. Colônias de coliformes totais cresceram na placa Petrifilm® produzindo um ácido, fazendo com que o indicador de pH torne a cor do gel vermelho-escuro e a produção de gás que fica retido ao redor das colônias vermelhas, indica a presença de coliformes totais. Para identificação de coliformes termotolerantes *Escherichia coli*, ocorre a formação de colônias azuis ou vermelha-azuladas associadas a bolhas de gás. A glucuronidase produzida pela *Escherichia coli* reage com o corante indicador na placa, formando um precipitado azul em torno da colônia. Não foram consideradas e contadas colônias que cresceram na borda de espuma da placa, pois estas não estão sob a influência seletiva do meio (SILVA, 2010; FORSYTHE, 2013).

Os resultados foram registrados e analisados de forma descritiva simples, através de um banco de dados elaborado com o auxílio do programa Microsoft EXCEL®, sendo estes resultados tabulados e apresentados na forma de tabela. Para preservar o anonimato das marcas participantes do estudo optou-se pela identificação com codificações: amostra 1 a 10. Os resultados das análises microbiológicas foram avaliados de acordo com a RDC nº 12/2001 de microbiologia de alimentos.

## RESULTADO E DISCUSSÃO

Das 10 amostras analisadas neste estudo, 8 (80%) apresentaram coliformes totais, sendo a amostra de número 1 a que apresentou maior contagem 999 UFC/25 g, conforme apresentado na Tabela 1. Nenhuma das análises foi positiva para coliformes termotolerantes (fecais), não apresentando a formação de UFC/25 g, nas placas, sendo determinada por ausência de micro-organismo. Somente em 2 (20%) das ricotas analisadas não houve crescimento de nenhuma bactéria do grupo coliforme.

O Regulamento de Inspeção Industrial Sanitária de Produtos de Origem Animal (BRASIL, 2008) é o único regulamento brasileiro vigente, que descreve parâmetros de qualidade para o produto ricota, mas não faz inferência sobre critérios microbiológicos. Por esse motivo, utilizou-se o padrão estabelecido no Regulamento técnico sobre padrões

microbiológicos para queijos de alta umidade, apresentado pela RDC nº 12/2001 do Ministério da Saúde, que informa não haver limites para coliformes totais e tendo um limite de 500 UFC/g para coliformes termotolerantes (BRASIL, 2001). De acordo com os resultados desse estudo e a RDC nº 12/2001, as ricotas analisadas estão em conformidades, pois apresentaram ausência de coliformes termotolerantes.

**Tabela 1.** Determinação da presença de coliformes totais e termotolerantes em ricotas adquiridas em supermercados de Curitiba - PR.

Amostras	Quantidade de UFC/25 g	
	Coliformes Totais	Coliformes Termotolerantes
1	999	Ausência
2	2	Ausência
3	Ausência	Ausência
4	5	Ausência
5	285	Ausência
6	201	Ausência
7	Ausência	Ausência
8	456	Ausência
9	97	Ausência
10	4	Ausência

Fonte: Pesquisa de campo (2015).

Uma análise realizada em 60 ricotas frescal comercializadas no estado de São Paulo, foi identificado contaminação de coliformes totais em 100% das amostras analisadas, em comparação, foram encontrados resultados similares com as amostras utilizadas no presente estudo, com 80% de crescimento bacteriano para coliformes totais. Em relação ao grupo dos coliformes termotolerantes, obtiveram-se resultados diferentes, onde, 68% das amostras foram consideradas impróprias para o consumo (CERESER et al., 2011). Estes dados divergem do resultado deste estudo, pois não se identificou bactérias do grupo termotolerantes. Outro estudo avaliou 45 amostras de ricotas e também constataram inconformidades em 21 delas (47%), apresentando valores acima do indicado para coliformes termotolerantes (ESPER et al, 2011). Mesmo que a legislação em vigor não estabeleça parâmetros microbiológicos para coliformes totais, os produtos que apresentarem contaminações por meio dessas bactérias demonstram condições higiênico-sanitárias precárias. Desta forma, é possível acreditar que no momento da fabricação os produtos foram

manipulados de maneira equivocada, sendo que durante a etapa de pasteurização do leite (72°C, por 15 segundos), o qual é destinado a eliminar patógenos naturalmente encontrados no leite, e o período de resfriamento (menos de 6°C, em 1,5 horas), o que previne a multiplicação de micro-organismos sobreviventes. Já que não haverá tratamentos térmicos posteriores à pasteurização, a contaminação do leite pasteurizado (em especial pelo leite cru) deve ser evitada, sendo assim, níveis elevados de coliformes totais levarão a uma condição favorável para crescimentos de micro-organismos patogênicos (CERESER et al., 2011; FORSYTHE, 2013).

Em estudo comparando seus resultados com a Portaria nº 146 (BRASIL, 1996), que informa limites de micro-organismos por unidade do queijo, sendo a ricota considerada de alta umidade, encontrou-se o limite de 1000 UFC's/g para coliformes totais. Desta maneira, todas as 68 amostras de ricotas analisadas se encontraram dentro das normas (LIMA; COSTA, 2013). Sendo assim, as amostras utilizadas neste estudo também se encontram em conformidades se comparados com a portaria nº 146, mesmo uma das amostras estando próximo do limite estabelecido, com 999 UFC's. Mesmo tomando esse cuidado, as embalagens a vácuo deverão ser bem seladas e a estocagem feita de maneira apropriada, estando em ambientes com temperaturas inferiores a 8°C, o que ajudará na redução da proliferação de micro-organismos (LIMA; COSTA, 2013). As possibilidades de contaminação estão relacionadas com o momento de fabricação ou de transporte das ricotas, pois, ao serem adquiridas, as embalagens estavam de acordo com o apropriado para o tipo de produto.

Destaca-se que em outro estudo com queijos do tipo ricota, todas as amostras estavam em conformidades para coliformes totais, em relação à legislação RDC nº 12/2001, mesmo uma das marcas contendo >1.100 UFC's, porém, se comparada com a Portaria nº 146, não estaria apta para o consumo (CAVALCANTI, 2014).

Em relação à população dos termotolerantes (a 45°C), em um estudo foram analisadas 10 amostras de ricotas e identificaram que as mesmas estavam em desacordo com o padrão estabelecido pela legislação vigente, que determina a tolerância de  $5 \times 10^2$  (500 NMP/g) de coliformes termotolerantes, sendo consideradas impróprias para o consumo (CARRIJO et al, 2011). Quanto a vida útil das ricotas em prateleiras, apresentam grandes condições de multiplicação de micro-organismos, sejam patogênicos ou deteriorantes, devido a sua alta umidade, comprometendo a vida do produto nas prateleiras (SILVA et al., 2014). A

literatura apresenta resultados inaceitáveis para as ricotas em maior parte das amostras analisadas. Ao comparar com o presente estudo não foram identificadas bactérias do grupo termotolerantes, desta forma as ricotas analisadas se encontram aptas para consumo, em relação a tal grupo.

## CONCLUSÃO

Conclui-se que a presença de coliformes totais nas ricotas indicam falhas higiênicas que possam ter ocorrido durante a produção e manipulação do produto, neste estudo houve ausência de coliformes termotolerantes (fecais). Os resultados encontrados mostram falhas que podem comprometer a qualidade do alimento favorecendo o desenvolvimento de micro-organismos que podem causar doenças de origem alimentar (DTA). Esse tipo de alimento é altamente suscetível a contaminação devido suas características intrínsecas, é de responsabilidade do fabricante a certificação da qualidade evitando a contaminação e proliferação de micro-organismos em todas as etapas de produção, assim trazendo mais segurança e a garantia do consumo de um alimento seguro.

## REFERÊNCIAS

- BERNARDI, G. **Avaliação de métodos de detecção e ocorrência de *Listeria Monocytogenes* em ricotas e queijos frescos produzidos no estado do Paraná**. 2014, 78p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná(UFPR), Curitiba.
- BORELI, K.; BRITO, N. J. N.; SANTOS, E. C. G.; SILVA, G. A. Avaliação de coliformes totais e termotolerantes em bebedouros de escolas públicas e ginásio de esportes em um município do norte de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Educação e Saúde**. v. 5, n. 1, p. 96-99, 2014.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Rotulagem nutricional obrigatória: manual de orientação às indústrias de Alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília-DF. 2005. 12p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Regulamento da inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2008. 1-154p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 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, 1996.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952, aprova o Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal - RIISPOA. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 1952. 1-154p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução - RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001, aprova Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2001. 1-48p.

CARRIJO, K. F.; CUNHA, F. L.; NEVES, M. S.; FERREIRA, P. N. S.; NUNES, E. S. C. L.; FRANCO, R. M., *et. al.* Avaliação da qualidade microbiológica e físico-química de ricotas frescas comercializadas no município de Niterói, Rio de Janeiro, Brasil. **Veterinária Notícias**, v. 17, n. 2, p. 97-110, 2011.

CAVALCANTI, F. B. **Avaliação microbiológica do queijo “tipo ricota” comercializados em supermercados de Campina Grande PB**. 2014. 29 f. TCC (Graduação em Química Industrial), Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências e Tecnologia, Campina Grande, Paraíba.

CERESER, N. D.; JUNIOR, O. D.R.; MARCHI, P. G. F.; SOUZA, V.; CARDOZO, M. V.; MARTINELLI, T. M. Avaliação da qualidade microbiológica da ricota comercializada em supermercados do estado de São Paulo. **Ciência Animal Brasileira**, v. 12, n. 1, p. 149-155, 2011.

ESPER, L. M. R.; KABUKI, D. Y.; KUAYE, A. Y. Qualidade microbiológica de ricotas comerciais e os riscos associados à presença de *Listeriamonocytogenes*. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 70, n.4, p. 554-9, 2011.

FORSYTHE, J. S. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

LIMA, M. F.; COSTA, R. R. G. F. Análises físico químicas e microbiológicas de ricota fresca em laticínio no sudoeste Goiano. **Revista de Biotecnologia & Ciência**, v. 2, n. 2, p. 75-88, 2013.

NASCIMENTO, M. V. D.; GUEDES, A. T. L.; SILVA, H. A.; SANTOS, V. E. P.; PAZ, M. C. F. Avaliação da qualidade microbiológica da carne moída fresca comercializada no mercado central em Campinas Grande. **Revista Saúde e Ciência**, v. 3, n. 1, p. 56-68, 2014.

PELLEGRINI, L. G.; GUSSO, A. P.; CASSANEGO, D. B.; MATTANA, P.; SILVA, S. V. Características físico-químicas e cor instrumental de ricota fresca de leite de cabra. **Synergismus scyentifica UTFPR**, v. 7, n. 1, 2012. Disponível em: <http://revistas.utfpr.edu.br/pb/index.php/SysScy/article/view/1468/931>. Acesso em: 13 dez. 2016.

SANTOS, V. A. Q.; HOFMANN, F. L. Evolução da microbiota contaminante em linha de processamento de queijos minas frescal e ricota. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 69, n. 1, p. 38-46, 2010.

SILVA, E. A.; SANTOS, E. A. L.; AQUINO, A. B.; ARAUJO, J.M.; DIAS, S. S.; LIMA, J. S.; *et. al.* Processamento de ricota natural e condimentada: avaliação microbiológica e sensorial. **Revista GEINTEC.**, São Cristóvão, v. 4, n. 2, p. 788-95, 2014.

SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S. Dos, GOMES, R. A. R. **Manual de Métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4. ed. São Paulo: Varela, 2010.

WELKER, C. A. D.; BOTH, J. M. C.; LONGARAY, S. M.; HAAS, S.; SOEIRO, M. L. T.; RAMOS, R. C. Análise microbiológica dos alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 8, n. 1, p. 44-48, 2010.