

## QUANTIFICAÇÃO DE BOLORES E LEVEDURAS NO DOCE DE LEITE PASTOSO ENVASADO A TEMPERATURA AMBIENTE E A QUENTE

Harley Guimarães Santos<sup>1</sup>

Laryssa Freitas Ribeiro<sup>2</sup>

Denise Dias Alves Cocco<sup>3</sup>

Cássio Resende de Moraes<sup>4</sup>

### RESUMO

O doce de leite é um produto artesanal, tradicional brasileiro, sendo encontrado em quase todas as regiões. É muito versátil, podendo ser consumido puro ou junto com outros alimentos doces ou salgados. Obtido através do aquecimento do leite juntamente com açúcar, pode sofrer contaminação de diferentes microrganismos, os quais podem deteriorar o produto e causar intoxicações alimentares em humanos. O presente experimento teve por objetivo quantificar bolores e leveduras no doce de leite pastoso artesanal, produzido sem adição de conservantes, sendo envasados em temperatura ambiente (34°C) e a quente (60°C), após 28 dias de produção. As primeiras análises realizadas, no dia 0 após a produção, tiveram contagens de 0 UFC/mL de bolores e leveduras, tanto as embaladas em temperatura ambiente (34°C) quanto àquelas embaladas em temperatura quente (60°C). No dia 28, os doces de leite que foram embalados à temperatura quente tiveram contagem de 0 UFC/mL. E, aqueles armazenados em temperatura ambiente, tiveram contagens de  $6,4 \times 10^5$  e  $1 \times 10^4$  UFC/mL, sendo essas últimas acima do permitido pela legislação, segundo a portaria nº 354, de 04 de setembro de 1997. Assim, conclui-se que a contagem de bolores e leveduras em doces de leite pastoso artesanal, produzido sem adição de conservantes, sendo envasados em temperatura ambiente (34°C) e a quente (60°C), após 28 dias de produção mostrou que, quando armazenados a temperatura ambiente, as contagens estão acima daquelas permitidas da legislação brasileira.

**Palavras-chave:** Microbiologia; Produto artesanal; Qualidade de leite.

### ABSTRACT

*Dulce de leche is an artisanal product, a traditional Brazilian delicacy, found in almost all regions of the country. It is very versatile, and can be consumed on its own or paired with other sweet or savory foods. Made by heating milk together with sugar, it can be*

- 
1. Graduado em Medicina Veterinária (Centro Universitário Mário Palmério – UNIFUCAMP / Monte Carmelo –MG) ([gustavovieira@unifucamp.edu.br](mailto:gustavovieira@unifucamp.edu.br))
  2. Professora orientadora, graduada em Medicina Veterinária, mestre e doutora em Medicina Veterinária (Universidade Estadual Paulista - UNESP/Jaboticabal-SP). Professora de Medicina Veterinária (Centro Universitário Mário Palmério - UNIFUCAMP/Monte Carmelo-MG) ([laryssaribeiro84@gmail.com](mailto:laryssaribeiro84@gmail.com)).
  3. Licenciada em Ciências Biológicas pelo Centro Universitário Mário Palmério (UNIFUCAMP). Especialista (Lato Sensu) em Educação especial. ([denisedias09@hotmail.com](mailto:denisedias09@hotmail.com))
  4. Licenciado em Ciências Biológicas pelo Centro Universitário Mário Palmério (UNIFUCAMP). Mestre e Doutor em Genética e Bioquímica pelo Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Professor no UNIFUCAMP ([cassio.1015@hotmail.com](mailto:cassio.1015@hotmail.com))

*contaminated by various microorganisms, which may spoil the product and cause foodborne illnesses in humans. The present experiment aimed to quantify molds and yeasts in artisanal creamy dulce de leche, produced without the addition of preservatives, and packaged at room temperature (34°C) and hot (60°C), 28 days after production. The first analyses, conducted on day 0 after production, showed 0 CFU/mL of molds and yeasts in both the room temperature (34°C) and hot (60°C) packaging. On day 28, the dulce de leche packaged at hot temperature had 0 CFU/mL. However, the samples stored at room temperature showed counts of  $6.4 \times 10^5$  and  $1 \times 10^4$  CFU/mL, with the latter being above the limits permitted by legislation, according to Ordinance No. 354, of September 4, 1997. Therefore, it can be concluded that the mold and yeast counts in artisanal creamy dulce de leche, produced without preservatives and packaged at room temperature (34°C) and hot (60°C), 28 days after production, indicated that when stored at room temperature, the counts exceed those permitted by Brazilian legislation.*

**Keywords:** *Microbiology; Artisanal product; Milk quality.*

### 1. INTRODUÇÃO

O leite é um dos produtos mais versáteis da agroindústria de alimentos. Além de ser consumido na sua forma pura, ele também pode ser transformado em diversos tipos de produtos, que variam desde alimentos salgados como os diferentes tipos de queijos, requeijões e manteigas até alimentos considerados adocicados como iogurte, leite condensado e doce de leite (SIQUEIRA, 2019).

O doce de leite é um produto típico da América Latina, podendo ser produzido tanto artesanal como industrial no Brasil sendo que o Estado de Minas o principal estado produtor de doce de leite (PAULETTI *et al.*, 1992). A partir da mistura de leite e açúcar, aquecido sob condições controladas, gerando um produto com cor semelhante à de caramelo e sabor agradavelmente doce. É possível ser consumido juntamente com pães e biscoitos, frutas e queijos, sendo capaz de ser utilizado em produtos de padaria, sorvetes e confeitaria. Tem seu consumo diversificado, sendo apresentado em forma de tabletes ou pastoso. (MERCOSUL, 1996; HYNES; ZALAZAR, 2009; SILVA *et al.*, 2015).

Segundo Silva (1973), o produto pode sofrer alterações, dependendo das condições de umidade, luminosidade e temperatura de armazenamento. Estudos indicam que reações químicas, como de oxidação de lipídios, rancidez hidrolítica e Maillard alteram a qualidade, principalmente no padrão de cor, visto que, este é um fator que pode variar consideravelmente de lugar para o outro.

O doce de leite pastoso fracionado nos estabelecimentos comerciais pode ser fonte de microrganismos patogênicos para humanos, o que justifica a adoção de rigoroso controle na inspeção e fiscalização do comércio deste alimento (Timm *et al.*, 2007).

Dentre os microrganismos, os fungos são capazes de crescer em baixa temperatura mais ampla do que as bactérias. Muitos fungos são capazes de se multiplicar em alimentos refrigerados. As leveduras, por sua vez, não toleram bem temperaturas altas, preferindo as faixas mesófilas e psicrófila (FRANCO et al., 2008).

O produto comercial alimentício deve, por legislação, ser armazenado em condições adequadas que garantam a manutenção das características originais do produto. Para o doce de leite, o armazenamento em condições de anaerobiose, por exemplo, pode evitar a proliferação de bolores, evitando sua deterioração (SOLIS, 1999).

Os métodos mais utilizados compreendem a utilização de conservantes químicos, como o sorbato de potássio, o enchimento a quente que permite a destruição de esporos de bolores termo resistentes e a conservação do doce de leite em condições de anaerobiose, já que fungos e leveduras que compreendem os microrganismos que mais resistem as características intrínsecas do doce de leite (DE PAIVA SOARES, 2010).

E, segundo a portaria nº 354, de 04 de setembro de 1997 (BRASIL, 1997) é permitido no doce leite pastoso um valor máximo de  $1 \times 10^2$  UFC/g para fungos filamentosos e leveduras. Sabendo disso, o objetivo deste experimento foi de quantificar bolores e leveduras no doce de leite pastoso artesanal, produzido sem adição de conservantes, sendo envasados em temperatura ambiente ( $34^\circ\text{C}$ ) e a quente ( $60^\circ\text{C}$ ), após 28 dias de produção.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

Oito doces de leite pastosos foram produzidos com leite, açúcar e bicarbonato de sódio. Posteriormente, quatro foram embalados em temperatura ambiente ( $34^\circ\text{C}$ ) e quatro embalados a temperatura quente ( $60^\circ\text{C}$ ), todos em recipientes de 500 mL. Após a produção, quatro embalagens foram levadas para o Laboratório de Análises de Produtos de Origem Animal (AGROLAB), do Centro Universitário Mário Palmério (UNIFUCAMP), em caixas isotérmicas contendo gelos recicláveis, para as análises. E, quatro embalagens foram mantidas em temperatura ambiente por 28 dias. Após isso, as demais quatro embalagens foram levadas para o mesmo laboratório para posterior análises de bolores e leveduras.

Para determinação da população de bolores e leveduras, 0,1 ml da solução de transporte e das diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  foram inoculados em superfície de placas contendo ágar extrato malte, suplementado com ácido lático a 10%, até pH de 3,5. As placas permaneceram incubadas por cinco dias a temperatura entre 22 e  $25^\circ\text{C}$ . Após o período de incubação as placas contendo entre 10 e 150 colônias foram selecionadas para serem

## QUANTIFICAÇÃO DE BOLORES E LEVEDURAS NO DOCE DE LEITE PASTOSO

contadas. Obteve-se a população de bolores e leveduras multiplicando-se o número de colônias pelo fator de diluição, o resultado foi multiplicado por dez para considerar o volume de 0,1 ml inoculado (APHA, 2001).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As primeiras análises realizadas, no dia 0 após a produção, tiveram contagens de 0 UFC/mL de bolores e leveduras, tanto as embaladas em temperatura ambiente (34°C) quanto àquelas embaladas em temperatura quente (60°C).

No dia 28, os doces de leite que foram embalados à temperatura quente tiveram contagem de 0 UFC/mL. E, aqueles armazenados em temperatura ambiente, tiveram contagens de  $6,4 \times 10^5$  e  $1 \times 10^4$  UFC/mL (Figura 1).

Figura 1: Placas de ágar extrato malte, suplementado com ácido láctico a 10%, até pH de 3,5, após as análises do dia 28.



Fonte: Acervo dos autores.

Vale ressaltar que segundo a portaria nº 354, de 04 de setembro de 1997 (BRASIL, 1997) é permitido no doce leite pastoso um valor máximo de  $1 \times 10^2$  UFC/g para fungos  
GETEC, v.27, fev.; p. 133 - 140/2026 ISSN:2238-4405

filamentosos e leveduras, ou seja, os doces de leite embalados a temperatura ambiente, após 28 dias, apresentaram contagens acima daquelas permitidas da legislação brasileira.

A manipulação inadequada e a exposição ao meio ambiente aumentam o risco de contaminação do doce de leite oferecido ao consumidor. Em um estudo que foi avaliado a qualidade microbiológica do doce de leite fracionado para venda a varejo, com contagens de bolores e leveduras em 28 amostras de doce de leite, mostrou que apenas uma amostra apresentou contagem de bolores e leveduras com valores aceitáveis pelas normas brasileiras. Todas as demais apresentaram contagens acima de  $1,0 \times 10^2$  UFC/g.

O doce de leite pastoso fracionado nos estabelecimentos comerciais pode ser fonte de microrganismos patogênicos para humanos, o que justifica a adoção de rigoroso controle na inspeção e fiscalização do comércio deste alimento (Timm et al., 2007).

Outro estudo também corrobora com os mesmos resultados, isso porque Sousa et al. (2002), analisaram doces de leite produzidos a partir de leite de búfala na Ilha de Marajó, no Brasil e isolaram alta contagem de leveduras.

Um estudo na região de São José do Rio Preto, mostrou resultados diferentes do presente estudo, o qual não verificou a presença de fungos filamentosos e leveduras nas amostras de doce de leite comercializadas (MADRONA, G.A. *et al.*, 2009). E, segundo os mesmos autores, a ocorrência de fungos filamentosos e leveduras pode estar relacionada à atividade de água do doce, ou pelo fato do produto ser armazenado em temperatura ambiente, o que explica o presente estudo, uma vez que aqueles armazenados à temperatura ambiente tiveram suas contagens maiores, após 28 dias da realização deles.

Vale ressaltar, também, que, segundo Evangelista (1994), as leveduras podem alterar muitos produtos lácteos, por sua ação sobre a lactose, resultando na produção de  $CO_2$ , originando um mau odor pelo processo fermentativo além de estufamento da embalagem, entretanto, sua patogenicidade em alimentos é praticamente desconhecida.

#### **4. CONCLUSÃO**

A contagem de bolores e leveduras em doces de leite pastoso artesanal, produzido sem adição de conservantes, sendo envasados em temperatura ambiente (34°C) e a quente (60°C), após 28 dias de produção mostrou que, quando armazenados a temperatura ambiente, as contagens estão acima daquelas permitidas da legislação brasileira.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presença de microrganismos, como bolores e leveduras é motivo de preocupação por parte dos órgãos de inspeção de alimentos e saúde pública, o qual tem estabelecido limites de tolerância para ocorrência destes micro-organismos em produtos comercializados na informalidade.

E, 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, ou seja, vale pesquisar outros microrganismos como *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella* spp., para investigação da qualidade microbiológica deste importante alimento, o doce de leite.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APHA. American Public Health Association, 2001. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 3rd ed., Washington, DC: American Public Health Association. 697p.

BRASIL. Ministério da Agricultura do Abastecimento e da Reforma Agrária. **Portaria N.º 354, de 04 de setembro de 1997**. Regulamento Técnico para fixação de identidade e qualidade para o doce de leite.

DE PAIVA SOARES, Karoline Mikaelle et al. **Fatores que interferem na qualidade do doce de leite pastoso: Revisão de literatura**. Pubvet, v. 4, n. 06, 2010.

EVANGELISTA, J. Tecnologia de alimentos. 2 ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1994, 652p.  
FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Ateneu, p.182, 2008.

HYNES, E.; ZALAZAR, C. In: MCSWEENEY, P.; FOX, P. F. (Eds.). **Advanced Dairy Chemistry: Volume 3: Lactose, Water, Salts and Minor Constituents**. New York, NY: Springer New York, v.3, p. 35–104, 2009.

MADRONA, G.A. *et al.* Qualidade de doce de leite pastoso, adicionado de soro de queijo em pó. **Revista Higiene Alimentar**. v. 23, n.174-5, pp. 110-3, jul.-ago. 2009.

MERCOSUL. **Grupo Mercado Comum. Resolução n.º 137/96. Regulamento técnico Mercosul de identidade e qualidade do doce de leite pp**. Fortaleza, CE: MERCOSUL/GMC, 1996.

PAULETTI, M.; CALVO, C.; IZQUIERDO, L.; COSTELL, E. **Color and texture of dulce de leche, a confectionary dairy product – selection of instrumental methods for** GETEC, v.27, fev.; p. 133 - 140/2026

**industrial quality control.** Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Valencia, v.32, n.3, p.291-305, 1992.

SILVA, R. *et al.* **Advantages of using ohmic heating in *Dulce de leche* manufacturing.** *Innovative Food Science & Emerging Technologies.* v. 1, p.978-992, 2020.

SILVA, S.D. **Cor: definição e métodos de medição.** *Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos.* n. 48, p. 75-85, 1973.

SIQUEIRA, Kennya Beatriz. **O mercado consumidor de leite e derivados.** Circular Técnica Embrapa, v. 120, p. 1-17, 2019.

SOLIS, C. **Gestão e certificação da qualidade de sistemas alimentares integrados.** *Higiene Alimentar.* V. 13, nº 61, p. 91-98, 1999.

SOUSA, C. L., NEVES, E. C. A., CAMEIRO, C. A. A., FARIAS, J. B., PEIXOTO, M. R. S. **Avaliação microbiológica e físico-química de doce de leite e requeijão produzidos com leite de búfala na Ilha de Marajó – PA.** *Boletim do CEPPA,* v. 20, n. 2, 191-202, 2002.

Timm, Cláudio D; Conceição, Rita de Cássia S; Coelho, Francisco José O; Roos, Talita B; Tejada, Talita S; Quevedo, Pedro S; Hentges, Andréa; Brasil, Nathalia D. A. **Avaliação microbiológica de doce de leite pastoso / Microbiology quality evaluation of pasty doce de leite.** *Revista Instituto Adolfo Lutz.* 66(3): 275-277, set.-dez. 2007.