

MICROBIOLOGIA DA CARNE MOIDA = 2. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE POR MÉTODO MODIFICADO, BASEADO NA REDUÇÃO DA RESAZURINA *

MURILO GRANER **

ALCIDES MARTINELLI F^o **

VIVALDO F. DA CRUZ ***

RESUMO

Quarenta amostras de carne (bovina) moída, provenientes de quatro supermercados da cidade de Piracicaba, SP, foram analisados quanto à contagem total de bactérias, segundo as recomendações da «American Public Health Association» (incubação das placas a 32°C por 48 horas). As mesmas amostras foram utilizadas em estudo de modificação de teste baseado na redução da resazurina, proposto para a avaliação da qualidade, sob o ponto-de-vista, microbiológico, do alimento em questão. Os resultados podem ser resumidos como segue: 1) As contagens totais foram elevadas, em geral, com diversas amostras na faixa de 10^7 a 10^9 bactérias/g; a média obtida foi de $3,0 \times 10^7$ bactérias/g. 2) Não foi constatada diferença significativa, quanto à contagem total de bactérias, entre os quatro estabelecimentos onde as amostras foram obtidas. 3) Uma correlação altamente significativa ($r = -0,91$) foi verificada entre a contagem total de bactérias e o tempo necessário à redução da resazurina até a descoloração, pelo método modificado estudado.

INTRODUÇÃO

A população microbiana existente na carne moída encontrada à venda no mercado varejista depende da qualidade, sob o ponto-de-vista microbiológico, da matéria-prima utilizada no seu preparo, do estado de limpeza do equipamento empregado, do tempo e da temperatura de armazenamento do produto. As fontes de contaminação da carne foram relacionadas e discutidas por AYRES (1955) e por FRAZIER (1967), entre outros autores. A carne moída constitui meio altamente favorável à multiplicação de bactérias, em virtude da fragmentação dos tecidos, com liberação de suco celular e da incorporação dos microrganismos (normalmente encontradas na superfície) à massa (ROGERS e McCLESKEY, 1957).

* Entregue para publicação em 5/11/1973.

** Departamento de Tecnologia Rural da ESALQ.

*** Departamento de Matemática e Estatística da ESALQ.

GRANER et al. (1971) encontraram, para a carne moída comercializada em Piracicaba, SP, contagens em geral elevadas, com diversas amostras na faixa de 10^7 a 10^9 bactérias/grama. Uma diferença significativa foi observada entre amostras provenientes de açougue, recebendo carne de matadouro municipal, e as adquiridas em supermercado, comercializando carne de gado abatido em frigorífico da região; essa diferença, favorável ao segundo estabelecimento, esteve relacionada com o horário de coleta das amostras, feita pela manhã e à tarde. Não foi verificada uma diferença significativa entre as contagens em placas feita após incubação a 21°C (72 horas) e as realizadas depois de 48 horas a 32°C .

Conforme lembrou FOSTER (1966), um número elevado de microrganismos presente na carne não significa que o alimento é, necessariamente, prejudicial à saúde do consumidor. Todavia, uma contagem bacteriana elevada poderá ser indício de um produto alterado, sob o ponto-de-vista microbiológico, ou semi-deteriorado, independentemente do efeito que o mesmo passa ter sobre a saúde do consumidor (ROGERS e McCLESKEY, 1957).

Uma extensa revisão sobre o controle e a avaliação da deterioração da carne foi publicada por DAINTY (1971). Esse autor incluiu em seu trabalho uma discussão dos métodos indiretos de estimar o número total de bactérias, baseados na redução, pelos microrganismos, de indicadores sintéticos. O tempo necessário para que haja uma mudança de coloração dessas substâncias é tomado como índice do número de células ativas e, conseqüentemente, da qualidade da carne. Todavia, pouca informação existe para esclarecer se um tempo curto, observado na redução de tais indicadores, se deve à presença de um grande número de microrganismos ou a um pequeno número de células com elevada atividade.

Apesar das limitações apontadas, diversos trabalhos foram realizados utilizando diferentes indicadores do potencial de óxido-redução e, em diversos casos, boa correlação tem sido obtida entre o tempo de redução dessas substâncias e a qualidade da carne. WALKER et al. (1959) verificaram a existência de uma correlação negativa entre o tempo necessário à redução da resazurina e o número de microrganismos/cm² na superfície (pele) de carcaças de aves. A «American Public Health Association» (SHARF, 1966) incluiu, entre os métodos recomendados para o exame da carne de aves, um teste baseado no trabalho daqueles autores.

SAFFLE, et al. (1961) estudaram três métodos para a rápida detecção da deterioração da carne moída, incluindo entre eles a redução da resazurina. Esses autores verificaram que o tempo necessário à redução do indicador correlacionava melhor com valores atribuídos ao odor das amostras do que com a contagem total de bactérias.

O presente trabalho foi conduzido com os seguintes objetivos: 1) Estudar uma modificação do teste descrito por SAFFLE et al. (1961), baseado na redução da resazurina, tendo em vista a possibilidade de sua utilização para uma avaliação rápida da qualidade, sob o ponto-de-vista microbiológico, da carne moída. 2) Obter informações adicionais às relatadas por GRANER

et al. (1971), no que diz respeito à contagem total de bactérias, sobre a qualidade microbiológica da carne moída comercializada em Piracicaba, SP.

MATERIAL E MÉTODOS

Quarenta amostras de carne (bovina) moída foram obtidas em quatro estabelecimentos do tipo supermercado (A, B, C, e D) localizados na cidade de Piracicaba, SP. As amostras, consistindo em porções de 200-250 g, foram obtidas semanalmente (uma amostra de cada estabelecimento), às terças ou quintas-feiras, entre às 7 e às 9 horas, nos meses de março a junho de 1973.

A contagem total de bactérias foi realizada pelo método recomendado pela «American Public Health Association» (SHARF, 1966). Cada amostra, imediatamente após sua obtenção, foi tratada conforme descrito em GRÄNER et al. (1971), tendo a incubação das placas de Petri sido feita a 32°C por 48 horas.

O teste baseado na redução da resazurina foi conduzido de duas maneiras: 1) Conforme descrito por SAFFLE et al. (1961), utilizando-se uma solução do indicador contendo 10 mg/200 ml e dois tubos de ensaio (14 mm de diâmetro x 150 mm de comprimento) para cada amostra. 2) Diferindo da anterior pela utilização, como inóculo, em lugar de 1 g de carne moída para cada tubo, 1 ml da suspensão (1:10) preparada para a contagem total de bactérias; sobre o conteúdo de cada tubo foi ainda colocada uma camada de óleo mineral esterilizado. O tempo necessário para a redução do indicador nos tubos incubados a 30°C ao abrigo da luz foi determinado fazendo-se observações de meia em meia hora, até que o conteúdo tivesse passado de sua coloração inicial (azul-violeta), através de uma coloração rosada, para amarelado, estado este correspondente à forma incolor da resazurina. O tempo de redução em tubos contendo óleo mineral foi comparado com o tempo correspondente a tubos sem óleo.

Para efeito de análise estatística, os valores encontrados para a contagem total de bactérias ($x \cdot 10^5$ bactérias/g) foram convertidos nos respectivos logaritmos decimais ($y = \log x$); o delineamento utilizado na comparação entre os diferentes estabelecimentos foi do tipo blocos casualizados com 3 observações por parcela (GOMES, 1970). O delineamento tipo blocos casualizados com 2 tratamentos foi empregado na comparação entre os tempos necessários à redução do indicador pelo método original e pelo modificado e por este último, com e sem a adição de óleo mineral.

As médias das contagens bacterianas ($\bar{x} \cdot 10^5$ bactérias/g) para as 40 amostras analisadas foram convertidas nos respectivos logaritmos decimais ($Y = \log \bar{x} \cdot 10^5$) e estes valores foram comparados, em teste de correlação, com os valores correspondentes, em horas, do tempo necessário à redução do indicador.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O exame do quadro 1 mostra que a contagem total de bactérias variou de $2,9 \times 10^5$ bactérias/g a $2,8 \times 10^8$ bactérias/g, tendo a média geral sido de

$3,0 \times 10^7$ bactérias/g. As diferenças entre as médias de contagens correspondentes aos estabelecimentos não foram significativas. O quadro 1 e a figura 1 mostram que diversas amostras analisadas apresentaram elevadas contagens totais de bactérias, embora a ocorrência de odores francamente ácidos ou pútridos, indicativos de deterioração, não tivesse sido notada em nenhum dos casos.

No teste baseado na redução da resazurina, podemos notar, pelo exame do Quadro 2, que o emprego do método original de SAFFLE et al. (1961) conduziu a valores para o tempo de redução geralmente discordantes entre dois tubos preparados a partir da mesma amostra, o que não ocorreu quando foi utilizada a modificação em estudo. Não houve diferença significativa entre os dois procedimentos, pelo teste F. Dados contidos no Quadro 2 mostram ainda que a utilização de uma camada sobrenadante de óleo mineral resultou em valores menores para o tempo de redução do indicador, em relação aos valores encontrados para os tubos sem óleo; a diferença foi significativa ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste F.

Uma correlação altamente significativa ($r=-0,91$) foi obtida entre a contagem total de bactérias e o tempo necessário à descoloração da resazurina (Quadro 3 e Figura 2). Os valores encontrados para este tempo foram da mesma ordem dos observados por SAFFLE et al. (1961), embora a correlação relatada pelos mesmos tivesse sido inferior ($r=-0,80$). A quantidade de amostra utilizada para cada tubo no caso do presente trabalho, pelo método modificado, foi aproximadamente igual à décima parte da empregada

Quadro 1 - Contagem total de bactérias ($\times 10^5$ bactérias/g); os valores apresentados são médias resultantes da contagem de 3 placas.

SEMANAS	ESTABELECEMENTOS			
	A	B	C	D
1	256,0	543,3	2823,3	2783,3
2	19,8	76,0	116,3	220,7
3	196,3	153,0	98,7	149,3
4	94,3	550,0	20,6	63,3
5	32,0	202,7	1046,7	47,0
6	42,3	79,7	1176,7	126,7
7	2,9	134,3	56,3	12,1
8	95,7	155,3	226,7	42,7
9	64,7	11,1	7,9	21,1
10	224,7	124,0	11,5	31,7
Médias	102,87	202,94	558,47	349,79

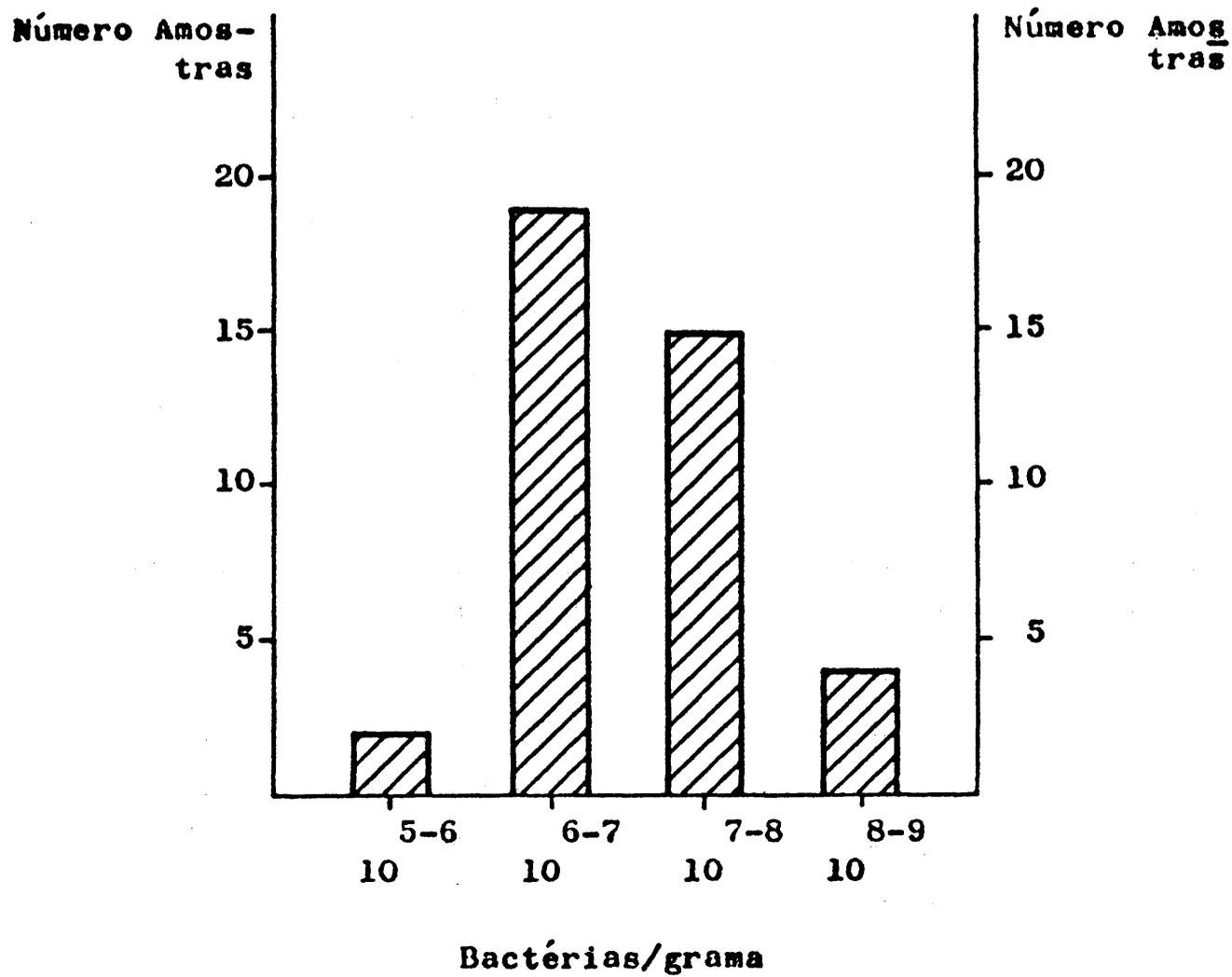


Figura 1 - Frequências de contagens totais de bactérias obtidas para 40 amostras de carne moída provenientes de 4 supermercados.

Quadro 2 — Tempo (horas) de redução do indicador na comparação (I) do método original (SAFFLE et al, 1961) com o modificado e (II) do método modificado com e sem óleo mineral. Cada valor apresentado corresponde à observação de um tubo de ensaio.

I		II	
Original	Modificado	Com óleo	Sem óleo
9,0 – 9,5	9,0 – 9,0	5,0 – 5,0	5,5 – 5,5
4,5 – 6,5	6,5 – 6,5	4,0 – 4,0	4,0 – 4,5
3,0 – 5,5	5,5 – 5,5	8,0 – 8,0	8,0 – 8,0
3,0 – 3,5	5,0 – 5,0	6,0 – 6,5	6,5 – 6,5
6,5 – 7,5	4,5 – 4,5	7,5 – 8,0	8,0 – 8,5
4,5 – 7,0	5,5 – 5,5	5,0 – 5,0	5,0 – 5,5
4,5 – 6,0	6,0 – 6,0	4,0 – 4,0	4,0 – 4,0
6,0 – 6,5	6,0 – 6,5	6,5 – 6,5	6,5 – 6,5
7,5 – 7,5	6,0 – 6,5	7,0 – 7,0	7,0 – 7,5
8,0 – 9,5	8,5 – 9,0	6,0 – 6,0	6,0 – 6,0
6,27	6,32	5,95	6,15

no método original; todavia, o inóculo foi preparado a partir de uma quantidade de amostra onze vezes maior, o que contribui para explicar os melhores resultados obtidos pelo método modificado, inclusive no que diz respeito à concordância de valores entre tubos correspondentes à mesma amostra.

Ao contrário do que foi realizado por SAFFLE et al. (1961), que prepararam as amostras de carne moída a partir de carne não moída, no caso do presente trabalho as quarenta amostras utilizadas foram obtidas do comércio varejista local, refletindo, assim, as condições nele existentes quanto aos fatores importantes na determinação da qualidade do produto, sob o ponto-de-vista microbiológico.

Se o número de microrganismos presentes na carne moída é tomado como índice da qualidade da mesma, e tendo havido uma correlação negativa, significativa ao nível de 1% de probabilidade entre a contagem total de bactérias e o tempo de redução da resazurina no presente estudo, pode-se então sugerir o teste em questão para uma avaliação da qualidade microbiológica daquele

alimento. Nas condições em que a carne é comumente encontrada no comércio varejista, atualmente, e nas condições em que foi conduzido o teste, uma tentativa de classificação é apresentada a seguir:

Tempo (hr) de redução	Condição da Amostra
> 7,5	Aceitável
> 4,0 e \leq 7,5	Questionável
\leq 4,0	Inaceitável

WALKER et al. (1959), em seu trabalho com carcaças de aves, consideraram o tempo de redução da resazurina até a forma incolor excessivamente longo, utilizando como ponto final uma coloração que descreveram como rosa fluorescente. No presente trabalho, a redução completa do indicador foi escolhida, em virtude do aparecimento nos tubos, logo após o início da incubação, de uma coloração rosada, provavelmente resultante de uma redução parcial do indicador. A mudança da coloração, nos tubos, de rosa para incolor era brusca e permitia a determinação do ponto final sem margem para dúvidas.

Quadro 3 — Tempo (horas) de redução do indicador pelo método modificado, com óleo; os valores apresentados são médias resultantes da observação de 2 tubos.

SEMANAS	ESTABELECIMENTOS			
	A	B	C	D
1	6,50	3,50	4,00	3,50
2	9,00	6,50	5,50	5,00
3	6,00	4,50	5,50	6,00
4	5,00	4,00	8,00	6,25
5	7,75	5,00	4,00	6,50
6	7,00	6,00	3,50	5,50
7	10,00	6,25	6,25	8,75
8	7,00	5,50	5,50	7,00
9	7,00	8,50	9,25	7,00
10	7,50	5,00	9,00	8,00
Médias	7,27	5,47	6,05	6,35

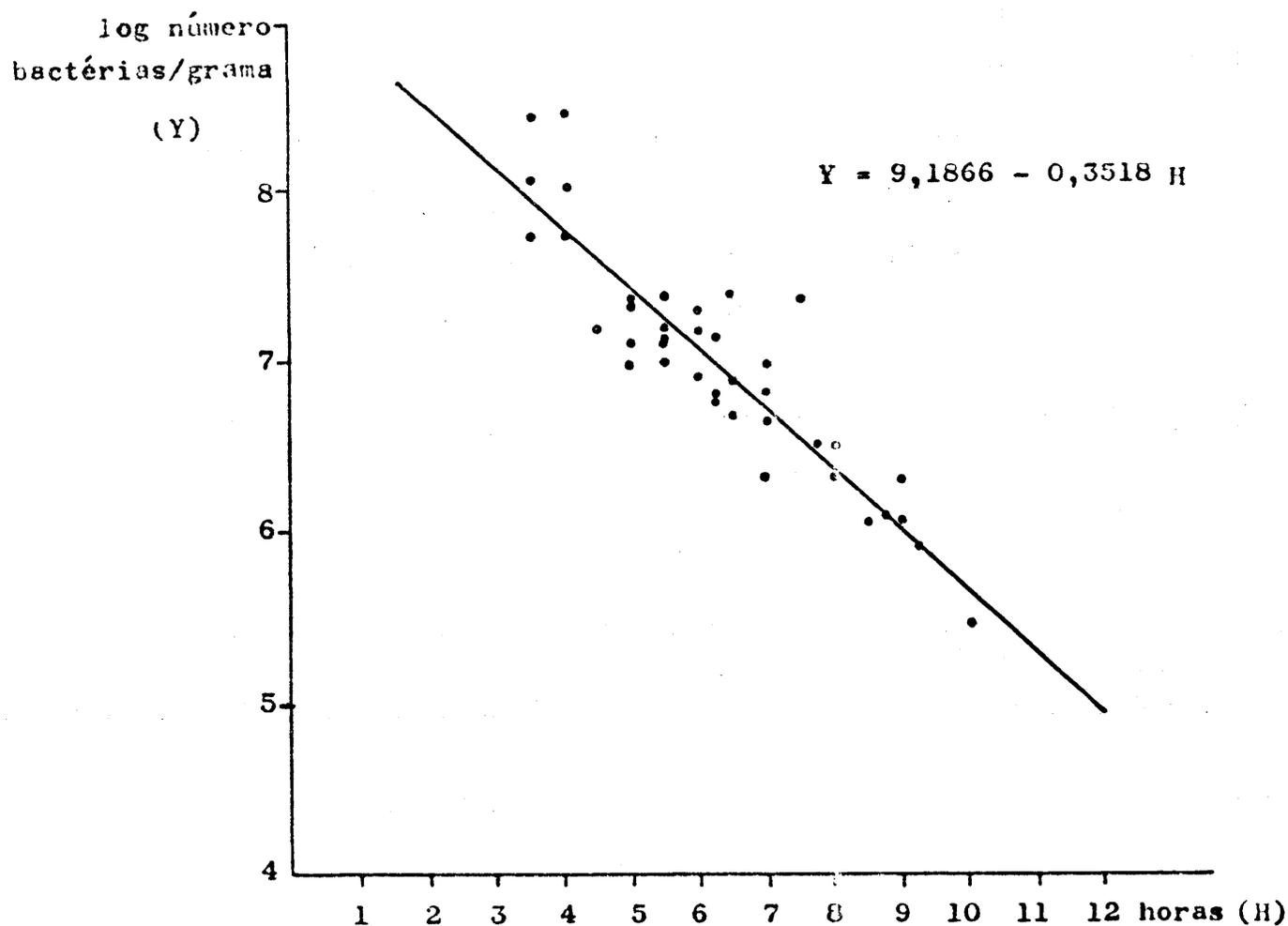


Figura 2 - Relação entre contagem total de bactérias e tempo de redução do indicador.

SUMMARY

MICROBIOLOGY OF GROUND BEEF = II. A MODIFIED RESAZURIN REDUCTION TEST FOR DETERMINATION OF QUALITY.

Forty samples of ground beef were taken at four supermarkets in the city of Piracicaba, SP. Total bacterial counts were determined using a procedure recommended by the American Public Health Association; the plates were incubated at 32°C (48 hours). A modified procedure based on resazurin reduction for the determination of ground beef microbiological quality was studied. The results can be summarized as follows = 1) Total counts were generally high, with several samples in the range 10^7 to 10^9 cells/gram; the average count was $3,0 \times 10^7$ cells/gram. 2) The differences between counts related to any two supermarkets were not statistically significant. 3) Resazurin reduction to colorless was significantly correlated with total bacterial counts ($r = -0,91$).

LITERATURA CITADA

- AYRES, J. C. 1955 — Microbiological implications in the handling, slaughtering, and dressing of meat animals. *Adv. Food Research* 6 = 110-161.
- DAINTY, R. H. 1971 — The control and evaluation of spoilage. *J. Food Technol.* 6 = 209-224.
- FOSTER, E. M. 1966 — Microbiological standards for foods. Proceedings of the Meat industry Research Conference, Universidade de Chicago, 111 pp. 87-95.
- FRAZIER, W. C. 1967 — Food McGraw-Hill Book Company, New York, N. Y. pp. 252-282.
- GOMES, F. P., 1970 — Curso de Estatística Experimental. Livraria Nabel, S. Paulo, SP.
- GRANER, M., A. MARTINELLI F^o e V. F. DA CRUZ. 1971 — Microbiologia da carne moida: 1. Contagem total de bactérias. *Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" XXVIII* = 217-226.
- ROGERS, R. E. e C. S. McCLESKEY. 1957 — Bacteriological quality of ground beef in retail markets. *Food Technology* 11 = 318-320.
- SAFFLE, R. L., K. N. MAY, H. A. HAMID e S. D. IRBY. 1961 — Comparing three rapid methods of detecting spoilage in meat. *Food Technology* 15 (11): 465-467.
- SHARF, J. M., ed. 1966 — Recommended Methods for the Microbiological Examination of Foods. American Public Health Association, Inc., New York, N. Y. pp. 111-118.

