

CENTRO UNIVERSITÁRIO UNIFACVEST
ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ALISSON RENAN OCHOA DE JESUS

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA CARNE MOÍDA
COMERCIALIZADA NA CIDADE DE LAGES SC

LAGES

2019

ALISSON RENAN OCHOA DE JESUS

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA CARNE MOÍDA
COMERCIALIZADA NA CIDADE DE LAGES SC

Trabalho de Conclusão de curso apresentado ao programa de conclusão de curso em Engenharia de Alimentos pelo Centro Universitário Unifacvest, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Prof.^a. Dr.^a. Nilva Regina Uliana

LAGES

2019

ALISSON RENAN OCHOA DE JESUS

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA CARNE MOÍDA
COMERCIALIZADA NA CIDADE DE LAGES SC

Trabalho de conclusão de curso
apresentado ao Centro Universitário
Unifacvest como parte dos requisitos
para obtenção do título de Bacharel em
Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Prof. Dra. Nilva Regina
Uliana

Coorientador: Prof. Dr. Lucas Ferreira

Lages, 28 de junho de 2019. Nota _____

Prof. Dra. Nilva Regina Uliana

Prof. Dr. Lucas Ferreira

LAGES, SC

2019

AGRADECIMENTOS

A minha mãe Ana Lúcia da Silva Ochoa, grande exemplo de determinação, honestidade, amor, incentivo, no qual sem ela não teria chegado onde cheguei.

À Instituição de ensino Centro Universitário Unifacvest, pela oportunidade de realização do curso de Bacharel em Engenharia de alimentos.

A Coordenação do Curso de Engenharia de Alimentos.

A Professora Dra. Nilva Regina Uliana, pelo acompanhamento, paciência, orientação e ensinamentos.

Ào Professor Dr. Lucas Gonçalves Ferreira, pela ajuda na realização das análises Microbiológicas.

A Professora Dra. Maria Benta Cassetari Rodrigues, pela colaboração na parte final do trabalho.

Às técnicas do Laboratório de Microbiologia de Alimentos, Suelen Pinheiro e Maria Cristiane de Paula Batista, pelo inestimável auxílio na realização do trabalho, mas principalmente, pela amizade.

À Técnica de Laboratório de Estágio Morgana Cristina Chaves da Silva pelo grande auxílio durante o período de estágio, meu muito obrigado, mas principalmente, pela amizade.

Aos amigos feitos antes e durante o curso de graduação, em especial à Katia Maria Grein Correa da Silva, Sonia Zanini e Vanessa Silva Rosa.

A todos que diretamente ou indiretamente me auxiliaram na realização deste trabalho.

Muito Obrigado.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Amostras de Carne moída bovina	20
Figura 2: Amostras de carne moída diluição 10^{-1}	21
Figura 3: Amostras de carne moída diluição 10^{-2}	21
Figura 4: Amostras de carne moída diluição 10^{-3}	21
Figura 5: Meios de Cultura Ágar MacConkey (A) e Caldo Lactose Bile Verde Brilhante 2% (B).....	22
Figura 6: Análise global das colônias	25

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Padrões Microbiológicos Sanitários para produtos de origem animal.....	15
Quadro 2: Número Mais Provável por gramas ou mililitros, para serie de 3 Tubos de ensaio com inócuos de 0,1;0,01;0,001 g ou mL e respectivo intervalo de Confiança de 95%	23
Quadro 3: Resultados em média das análises de NMP para coliformes totais de carne bovina moída coletada em 5 mercados, na cidade de Lages, SC, Brasil.....	24

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. JUSTIFICATIVA	11
3. OBJETIVOS	12
3.1. OBJETIVO GERAL	12
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
4.1. CARNE MOÍDA BOVINA.....	13
4.2. LEGISLAÇÃO	14
4.3 ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS QUE AFETAM A QUALIDADE DA CARNE.	17
4.4 QUALIDADE HIGIENICO-SANITARIO DA CARNE MOIDA	18
5. METODOLOGIA	20
6. RESULTADOS E DISCUSÕES	24
7. CONCLUSÃO	27
REFERENCIAS	28
ANEXO A	31

RESUMO

A carne possui um grande valor nutritivo, além de extremamente saborosa, é um dos produtos que não pode faltar na mesa de várias famílias brasileiras. Porém, certos cuidados devem ser tomados para que este produto seja consumido com segurança, pois este alimento é um ótimo meio de cultura para diversos microrganismos devido à sua alta atividade de água, pH, além de apresentar grande quantidade de substâncias nitrogenadas. Esta pesquisa tem como intuito de analisar o aspecto microbiológico da carne bovina moída comercializada na cidade de Lages, Santa Catarina, Brasil. Assim avaliando o aspecto higiênico-sanitários desses estabelecimentos (Supermercados e Mercados). Foi utilizado a técnica de Número Mais Provável e Contagem Padrão em Placas, na pesquisa de coliformes totais e termo tolerantes, e micro-organismos gram-negativos, demonstrando como resultado o comprometimento de todas as amostras analisadas. Concluiu-se que as condições higiênicas sanitárias dos estabelecimentos analisados estão em uma situação precárias e um produto final que apresentava um certo grau de risco à saúde da população, um problema que seria facilmente evitado com a correta implantação das Boas Práticas de Fabricação.

PALAVRAS-CHAVE: Carne Moída; Mercados; Supermercados; análises microbiológicas; coliformes totais; coliformes fecais; microrganismos aeróbios mesófilos.

ABSTRACT

Meat has a great nutritive value, besides being extremely tasty, it's one of the products which can't lack of in a lot of brazilian families' tables. However, some care should be taken for this product to be consumed with safety, for this food is a great culture media for several microorganisms because its high water activity, pH, and it show lots of nitrogenous substances. This research has the intent of analyzing the microbiological aspect of marketed ground beef in Lages city, Santa Catarina, Brazil. Thus evaluating the hygienic-sanitary aspect of these establishments (supermarkets and markets). The Most Probable Number and Standard Plate Count techniques were used, in the total coliforms and thermotolerant research, and gram-negative microorganisms, showing as result the compromisement of all analyzed samples. It has been concluded that the hygienic-sanitary conditions of the analyzed establishments are in precarious situation and a final product that showed a certain level of risk to population's health, a problem that would be easily avoided with the correct implantation of Good Practices of Manufacturing.

KEYWORDS: Ground Beef; Supermarkets; microbiological analyzes; total coliforms; fecal coliforms; mesophilic aerobic microorganisms

1. INTRODUÇÃO

A carne é um alimento com grande valor nutricional, comercial e social, mas apresenta uma limitada vida de prateleira. Visando a preservação deste produto, foram desenvolvidos várias formas de tecnologia para garantir a integridade da mesma (VIOTT,2006).

O mercado interno brasileiro é um dos principais destinos de sua produção, o consumo per capita de carnes chega 37,4 kg para carne bovina, exportando em torno de 1.849 toneladas para mais de 150 países, sendo que aproximadamente 18% da carne é exportada e o restante 82% é para o consumo interno (USDA, 2014). Em relação ao consumo de carne bovina em geral, a carne moída destaca-se por seu baixo custo, além da versatilidade de preparo, se tornando acessível à população de baixa renda (MOTTA, 2000).

Sua composição propicia a proliferação microbiana, o que é motivo de constante preocupação devido ao seu alto grau de perecibilidade (PARDI, 2001). A carne moída por sua vez tem maior risco de contaminação e putrefação por ter maior superfície de exposição, manipulação excessiva com baixo padrão higiênico sanitário e a um problemático sistema de conservação (MARCHI, 2012).

Assim o objetivo desse estudo foi avaliar as condições higiênicas da carne moída bovina vendida em estabelecimentos comerciais como mercados e supermercados na cidade de Lages, SC.

2. JUSTIFICATIVA

Como o alto consumo de carne no Brasil vem aumentando é necessário apropriar análises, para que o consumidor não venha a adquirir produtos vencidos, adulterados ou contaminados. Um produto cárneo muito consumido é a carne moída e de acordo com a legislação, ela deve ser vendida fresca e não pode conter nenhum tipo de substância que possa causar algum tipo de transformação química em seu aspecto ou em seus padrões de identidade.

Nesse contexto, ocorre um grande levantamento de estudos e conteúdos sobre segurança alimentar e qualidade microbiológica isso vem sendo empregado em vários setores sendo um deles os produtos de origem animal como a carne.

Justifica-se a realização deste trabalho com o objetivo de obter informações seguras sobre as condições higiênicas sanitárias, onde ocorre a comercialização de carnes, realizando uma avaliação da qualidade por meio de análises microbiológicas. Fazendo com que o consumidor tenha a garantia de consumir um produto fresco e dentro de todos os parâmetros de segurança alimentar, mantendo a integridade do produto e sua qualidade para que não ocorra nenhum tipo de contaminação.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Avaliação sobre contaminação cruzada em carne moída bovina comercializada na cidade de Lages/SC.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Elencar as legislações atuais vigentes de acordo com a normativa;
- Fazer análises quantitativas de colônias de microrganismos;
- Verificar se houve contaminação na carne por análises microbiológicas;
- Avaliar se a carne está dentro dos padrões da legislação

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. CARNE MOÍDA BOVINA

Entende-se por carnes as partes musculares comestíveis de várias espécies de animais de açougue, manipuladas em condições higiênicas, onde o animal quando abatido esteja saudável e em ótimas condições, certificado por um profissional certificado (LUTZ,2008).

A carne bovina possui vários nutrientes que são necessários para o homem como proteínas, carboidratos lipídios. É uma das principais fontes de proteínas sendo um dos produtos mais consumidos no mundo. (VERRUMA-BERNARDI,2001).

O Brasil, no ano de 2018 teve um crescimento de 9% na exportação de produtos cárneos de origem bovina comprada com o ano passado, este ano o número de carne chegou na casa das 9 milhões de toneladas de carnes bovina (IBGE 2018).

Um dos produtos cárneos mais consumidos é a carne moída bovina, obtida através do processamento de sobras de corte. Define-se por carne moída, o produto cárneo obtido a partir de moagem de massa musculares de carcaças de bovinos, seguindo de imediato resfriamento ou congelamento (BRASIL, 2003).

De acordo com a sua aceitabilidade a carne moída está entre um dos produtos mais consumidos, sendo acessível para pessoas de baixa renda, além da praticidade no preparo e de inúmeras formas diferentes (MOTA, 2000.)

Com intuito de estabelecer padrões fitossanitários e manter características organolépticas, a legislação brasileira criou critérios para obtenção de carne moída bovina, segue: ingredientes obrigatórios, carnes obtidas de massas musculares esqueléticas bovinas, até 3% de água, até 15% de gorduras, - não pode conter tendões, ossos, cartilagem, gordura parcial, coágulo, nódulos linfáticos, entre outros (BRASIL,2003).

O produto deve ser obtido em local próprio para moagem, com temperatura ambiente que não deva exceder a 10°C. A carne moída deverá sair do equipamento de moagem com temperatura não superior a 7°C, e deve ser submetida, imediatamente, ao congelamento (rápido ou ultrarrápido) ou ao resfriamento. O prazo de validade do produto será estabelecido de acordo com o previsto na legislação vigente, observando-se as variáveis dos processos de obtenção, embalagem e conservação. O acondicionamento do produto deverá ser embalado em materiais adequados para as condições de

armazenamento e transporte, de modo que lhe confirmam a proteção apropriada. O armazenamento da carne moída resfriada deverá ser mantido à temperatura de 0°C a 4°C e a carne moída congelada à temperatura máxima de -18°C durante o armazenamento. (MAPA, 2003)

Os aditivos e coadjuvantes não serão permitidos. Contaminantes são normalmente os resíduos orgânicos e inorgânicos e estes devem estar ausentes, e quando presentes, em quantidades inferiores aos limites estabelecidos em regulamentação específica. (MAPA, 2003)

A carne moída, várias vezes é proveniente de outros tipos de carnes, como aquelas que já sofreram grande manipulação nos mercados e açougues, além de casos que a carne foi mantida em temperaturas ambientes por um longo período e isto acaba criando mais chances de uma contaminação no produto (RITTER., 2001). Deve ficar sempre atento que durante a moagem pode haver a passagem de resíduos de moagens anteriores (MONTEIRO, 2007).

4.2. LEGISLAÇÃO

De acordo com a lei municipal de Lages/SC, decretada pelo artigo 14 da lei 3733 do dia 14 de abril de 2011. O presente Regulamento estabelece as normas que regulam, em todo o território do Município de Lages, a inspeção e a fiscalização industrial e sanitária para produtos de origem animal, destinadas a preservar a inocuidade, a identidade, a qualidade e a integridade dos produtos e a saúde e os interesses do consumidor. Desta maneira a lei garante e qualifica todas as atribuições distintas aos produtos de origem animal, como o abate humanitário, o processamento com higienização e sanitização de dos equipamentos, além de da adição de aditivos químicos em produtos de acordo com o Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento (MAPA), seguindo as especificidades.

O MAPA instituiu necessidade de medidas que normatizem a industrialização de produtos de origem animal, que garanta condições de igualdade entre os produtores e assegure a transparência nos processos de produção, processamento e comercialização, regulamenta o comércio nacional e/ou internacional de carne moída através da normativa 83 de 21 de novembro de 2003, determinando a identidade e as características mínimas de qualidade que deverá obedecer ao produto cárneo obtida de massas musculares de carcaças de bovinos (BRASIL, 2003).

De acordo com a legislação brasileira, através da resolução RDC de nº 12 de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001), é definido como padrão de qualidade microbiológica da carne in natura, em qual se enquadra a carne moída, a ausência de *Salmonella* spp. em 25 gramas de amostra.

Segundo a RDC nº12 de 02 de janeiro de 2001, estabelece um padrão de controle de qualidade microbiológica de produtos de origem animal, deste modo auxilia na padronização dos produtos cárneos. De acordo com o quadro 1 ela estabelece o tipo de bactéria e a concentração que deve ser encontrada em 25g de produto, isto garante que se o mesmo tiver um valor acima, o produto está contaminado e não é habito para consumo (ANVISA, 2001).

Quadro 1: Padrões Microbiológicos Sanitários para produtos de origem animal

Grupo de alimentos	Microrganismo	Tolerância para amostras indicativa	Tolerância para amostras representativas			
			n	c	m	M
Carnes resfriadas, ou congeladas, "in natura", de bovinos, suínos e outros mamíferos (carcaças inteiras ou fracionadas, quartos ou cortes); carnes moídas; miúdos de bovinos, suínos e outros mamíferos	<i>Salmonella</i> sp/25g	Aus	5	0	Aus	-
Carnes resfriadas, ou congeladas, "in natura", de aves (carcaças inteiras, fracionadas ou cortes)	<i>Coliformes</i> a 45°C/g	10 ⁴	5	3	5x10 ⁴	10 ⁴
Miúdos de aves	<i>Coliformes</i> a 45°C/g	10 ⁵	5	3	10 ⁴	10 ⁵
Carnes cruas preparadas de aves, refrigeradas ou congeladas, temperadas	<i>Coliformes</i> a 45°C/g	10 ⁴	5	3	10 ⁴	10 ⁴
Carnes cruas preparadas, bovinas, suínas e de outros mamíferos, refrigeradas ou congeladas, temperadas	<i>Coliformes</i> a 45°C/g	10 ⁴	5	2	5x10 ⁴	10 ⁴
	<i>Salmonella</i> sp/25g	Aus	5	0	Aus	-
Produtos cárneos crus, refrigerados ou	<i>Coliformes</i> a 45°C/g	5x10 ³	5	3	5x10 ²	5x10 ³
	<i>Estaf.coag.positiva</i> /g	5x10 ³	5	2	10 ³	5x10 ³
	C. Sulfito redutor a	3x10 ³²	5	2	5x10 ²	3x10 ³

congelados (hambúrgueres, almôndegas, quibe e similares); produtos a base de sangue e derivados "in natura"; embutidos frescais (linguiças curas e similares)	46°C/g					
	<i>Salmonella sp/25g</i>	Aus	5	0	Aus	-
Carnes embaladas a vácuo, maturadas	<i>Coliformes a 45°C/g</i>	5×10^3	5	3	5×10^2	5×10^3
	<i>Estaf.coag.positiva/g</i>	3×10^3	5	2	5×10^2	3×10^3
	<i>Salmonella sp/25g</i>	Aus	5	0	Aus	-
Carnes embaladas a vácuo, não maturadas	<i>Coliformes a 45°C/g</i>	104	5	2	103	104
	<i>Estaf.coag.positiva/g</i>	3×10^3	5	2	5×10^2	3×10^3
	<i>Salmonella sp/25g</i>	Aus	5	0	Aus	-
Produtos cárneos cozidos ou não, embutidos ou não (mortadela, salsicha, presunto, fiambre, morcela e outros); produtos a base de sangue e derivados, processados	<i>Coliformes a 45°C/g</i>	10^3	5	2	10^2	10^3
	<i>Estaf.coag.positiva/g</i>	3×10^3	5	1	10^2	3×10^3
	C. Sulfito redutor a 46°C/g	5×10^2	5	1	10^2	5×10^2
	<i>Salmonella sp/25g</i>	Aus	5	0	Aus	-
Produtos cárneos cozidos ou não, maturados ou não, fracionados ou fatiados, mantidos sob refrigeração	<i>Coliformes a 45°C/g</i>	10^5	5	2	10^2	10^3
	C. Sulfito redutor a 46°C/g	5×10^2	5	1	10^2	5×10^2
	<i>Estaf.coag.positiva/g</i>	5×10^3	5	1	10^3	5×10^3
	<i>Salmonella sp/25g</i>	Aus	5	0	Aus	--
Produtos cárneos maturados (presuntos crus, copas, salames, linguiças dessecadas, charque, "jerked beef" e similares)	<i>Coliformes a 45°C/g</i>	10^3	5	2	10^2	10^3
	<i>Estaf.coag.positiva/g</i>	5×10^3	5	1	10^3	5×10^3
	<i>Salmonella sp/25g</i>	Aus	5	0	Aus	--
Semi conservas em embalagens herméticas mantidas sob refrigeração (patês, galantinas e similares)	<i>Coliformes a 45°C/g</i>	10^3	5	2	10^2	10^3
	<i>Estaf.coag.positiva/g</i>	5×10^2	5	1	10^2	5×10^2
	C. Sulfito redutor a 46°C/g	5×10^2	5	1	10^2	5×10^2
	<i>Salmonella sp/25g</i>	Aus	5	0	Aus	--
N) produtos cárneos salgados (lombo, pés, rabo, orelhas e similares, carne seca e similares)	<i>Estaf.coag.positiva/g</i>	10^3	5	1	10^2	10^3
	<i>Salmonella sp/25g</i>	Aus	5	0	Aus	*--
O) gorduras e produtos gordurosos de origem animal (toucinho, banha, peles, bacon e	<i>Estaf.coag.positiva/g</i>	3×10^3	5	1	5×10^2	3×10^3
	<i>Salmonella sp/25g</i>	Aus	5	0	Aus	--

similares)						
P) gordura animal hidrogenada e parcialmente hidrogenada, exceção de manteiga	<i>Coliformes a 45°C/g</i>	10 ²	5	2	10	10 ²
	<i>Salmonella sp/25g</i>	Aus	5	0	Aus	--

Fonte: ANVISA, 2001.

4.3 ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS QUE AFETAM A QUALIDADE DA CARNE.

Na hora de aderir um produto cárneo, os consumidores tendem a serem muitos exigentes e acabam sendo influenciados por alguns fatores como por exemplo a capacidade de retenção de água, coloração, quantidade de gordura e maciez (FENNEMA, 2010).

Existem vários fatores relevantes para alteração da carne e seus derivados que estão ligados com a quantidade de enzimas tissulares, além da modificação do elemento proteico, juntamente com a degradação de gorduras e carboidratos e ainda por atividade microbiológica (PARDI, 2001).

Além dos fatores citados, a carne pode ocorrer modificações atribuídas a algumas condições como a espécie, raça, genótipo, status nutricional, tratamento pré-abate e resfriamento, processamento e armazenamento do pós-morte do animal (FENNEMA, 2010).

A carne é um dos alimentos mais perecíveis, isso se dá por sua composição rica em proteínas e outros nutrientes essenciais para a nossa alimentação, e por causa disso ela é um ótimo meio para crescimento de bactérias, leveduras e bolores, pois possui uma alta quantidade de água, além do seu pH ser compatível com o ideal para desenvolvimento da maioria dos micro-organismos (ORDENEZ 2005). A alteração microbiana é caracterizada pela multiplicação dos micro-organismos, modificando as características sensoriais (DELEZARI, 1997).

Após a maturação da carne, várias características do tecido animal abatido diferem muito de músculos vivos. O pós-morte faz com que o metabolismo do músculo tenha um decréscimo no seu pH que está na margem de 7,4 até que chegue entre 5,5 a 5,9 de pH (FENNEMA, 2010).

Existem várias consequências na redução de pH são tão benéficas quanto prejudiciais para o produto, esta perceptível que a acidificação do pH pode retardar o

crescimento microbiano aumentando a sua vida de prateleira (FENNEMA, 2010). Entretanto, essa vantagem se desfaz pois com a perda excessiva de água a carne acaba perdendo qualidades sensoriais essenciais como maciez e sua capacidade de retenção de água (ORDENEZ, 2005).

4.4 QUALIDADE HIGIENICO-SANITARIO DA CARNE MOIDA

A carne, possui várias características intrínsecas, pois esta constitui excelente meio para o desenvolvimento de microrganismos, sendo que estes são responsáveis pela transmissão de bactérias patogênicas para o homem. Vários estudos realizados em diversos países têm reportado o envolvimento de bactérias do gênero *Salmonella* em surtos de enfermidade de origem alimentar em humanos (D'AOUST, 2001).

Visando a segurança dos alimentos, a contagem de coliformes totais e coliformes termotolerantes, assim como a pesquisa da presença de *Salmonella*, tem sido muito utilizada para avaliação das condições higiênico-sanitárias dos alimentos.

Coliformes totais são bastonetes Gram-negativos, não formadores de esporos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, com uma temperatura de crescimento de 35 a 37°C, por 24 a 48 horas. Estes organismos estão representados pelos gêneros da família Enterobacteriaceae, como por exemplo, as: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia* e *Klebsiella* (FRANCO, 2008). O motivo para tal agrupamento são as características em comum entre os grupos possuem (DAMER 2014).

Apesar dos coliformes abrangerem um variado gênero de espécies não entéricas, há espécies originárias do trato intestinal dos seres humanos e dos animais. Por esse motivo, após a contagem de coliformes totais, normalmente se realiza a pesquisa de coliformes termotolerantes e *E. coli*. De acordo com legislação brasileira não estabelece limite para contagem de coliformes totais em carne moída, mas por estes organismos estarem presentes no ambiente, uma contagem elevada demonstra a exposição do ambiente com condições higiênicas precárias (ROSINA; MONEGO, 2012)

Uma grande parte de contaminações na carne moída por coliformes totais e devida as condições de manipulação do alimento e do ambiente onde está sendo manipulado, enquanto a contaminação por coliformes termotolerantes e *E. coli* são indicativos de um possível contato com material fecal (JORIS, 2012).

Altas contagens de coliformes termotolerantes indicam falhas higiênicas no processamento e na manipulação do produto dando assim a possibilidade de haver presença de microrganismos patogênicos (FRANCO, 2008).

A *salmonella ssp* são bactérias em formas de bastonetes, gram negativas, anaeróbicos facultativos, seu habitat natural é em seres humanos e animais em seu trato intestinal, a salmonela se desenvolve em ambientes cuja a atividade de água seja de 0,945 a 0,999 em torno de um pH que fica na faixa de 4,5 a 9,0 com um crescimento entre 6,5 a 7,5, sua temperatura de desenvolvimento é entre 35 a 37°C, mas elas podem se multiplicar em temperaturas de 5° até 45-47°C (HAJDENWURCEL,1998; CLIVER,1990).

Salmonella é considerada uma das principais bactérias envolvidas em surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs) e tem como reservatório o trato intestinal do homem e os animais. Essas bactérias estão amplamente disseminadas no ambiente e apresentam grande impacto na saúde e na economia mundial (JAY, 2005). De acordo com dados do Ministério da Saúde, entre os anos de 2007 a 2016 foram registrados 6.632 surtos de DTAs no Brasil, e destes, *Salmonella sp.* foi responsável por 7,5% dos casos (BRASIL, 2016).

A presença de *Salmonella sp.* na carne moída é, portanto, uma importante preocupação para a saúde pública (FERREIRA; SIMM, 2012). Por esse motivo, a RDC no 12, de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) exige como padrão para carnes e derivados a ausência de *Salmonella spp.* em 25 gramas de alimento (BRASIL, 2001).

A higiene da matéria-prima, o controle de qualidade durante o manuseio, as condições de fabricação e conservação e a limpeza dos equipamentos são fatores cruciais que estão ligados diretamente à qualidade (JAY, 2005). No caso da carne moída, a moagem é um fator muito importante onde possa favorecer a contaminação e a multiplicação de microrganismos (ALMEIDA, 2002).

5. METODOLOGIA

No período de maio de 2019 foi realizado uma avaliação de qualidade microbiológica em estabelecimentos comerciais na cidade de Lages Santa Catarina onde foi coletado algumas amostras de carne moída bovina. Foi observado alguns aspectos referentes às condições de higiene dos estabelecimentos, tais como: equipamentos, utensílios e manipuladores, assim como a temperatura de armazenamento dos produtos expostos à venda.

Para a realização das análises microbiológicas, foram coletadas quatro amostras de carne moída bovina, sendo 2 provenientes de açougues de mercados e 2 de redes de supermercados comuns na cidade. As amostras foram adequadamente acondicionadas e conduzidas ao Laboratório de Microbiologia do Centro Universitário Unifacvest, onde foram analisadas. Estas amostras foram divididas em 4 grupos: Grupo A, grupo B, Grupo C, Grupo D e grupo E como mostrado na figura 1.



Figura 1: Amostras de Carne moída bovina

Fonte: Autor, 2019.

Inicialmente foi pesado 25gramas de cada amostra como mostrado na figura 1. Após as amostras foram homogeneizadas e diluídas com 225 mL de água destilada a 0,1 %, obteve-se a diluição inicial 10^{-1} , ilustrado na figura 2. A seguir, foram preparadas diluições decimais até 10^{-3} , empregando-se 1 mL da diluição anterior e 9 mL do diluente.



Figura 2: Amostras de carne moída diluição 10^{-1}

Fonte: Autor, 2019



Figura 3: Amostras de carne moída diluição 10^{-2}

Fonte: Autor, 2019

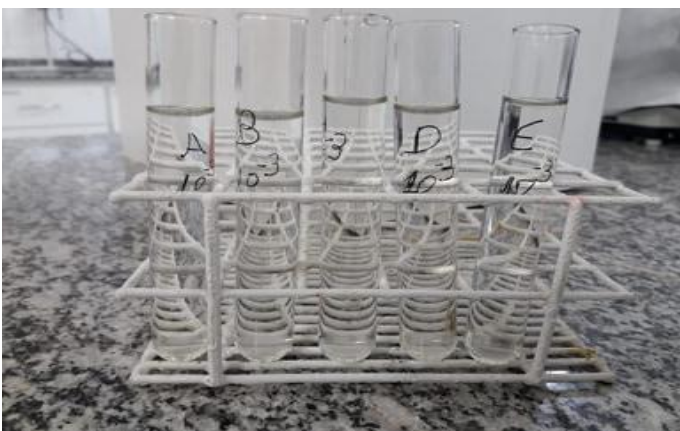


Figura 4: Amostras de carne moída diluição 10^{-3}

Fonte: Autor, 2019

Utilizou-se as técnicas de Número Mais Provável (NMP) e Contagem Padrão em Placas (CPP), conforme a Instrução Normativa nº62/2003 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Os resultados obtidos foram comparados com os limites estabelecidos na Resolução RDC nº 12/2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

Primeiramente foi Realizado a preparação de Ágar padrão para a contagem (PCA) e a análise por número mais provável (NMP) utilizando tubos de ensaio com o caldo lactose verde brilhante bile a 2%, o ágar utilizado foi Agar Mac Conkey pois neste é um meio seletivo muito utilizado para o isolamento e identificação da Enterobacterias encontrada em fezes, urina, águas residuais e alimentos. O meio também é utilizado para diferenciar coliformes de cepas enterobactérias patogênicas não fermentadoras de lactose. O caldo lactose verde brilhante bile a 2% é um meio seletivo para detecção de coliformes torais e coliformes termo tolerantes fecais em produtos de origem animal além de outros alimentos. Estes meios devem suprir as necessidades nutricionais e fisiológica do organismo, então deste modo o meio deve conter proteínas, carboidratos minerais e também um pH adequado (FORSYTHE,2013).

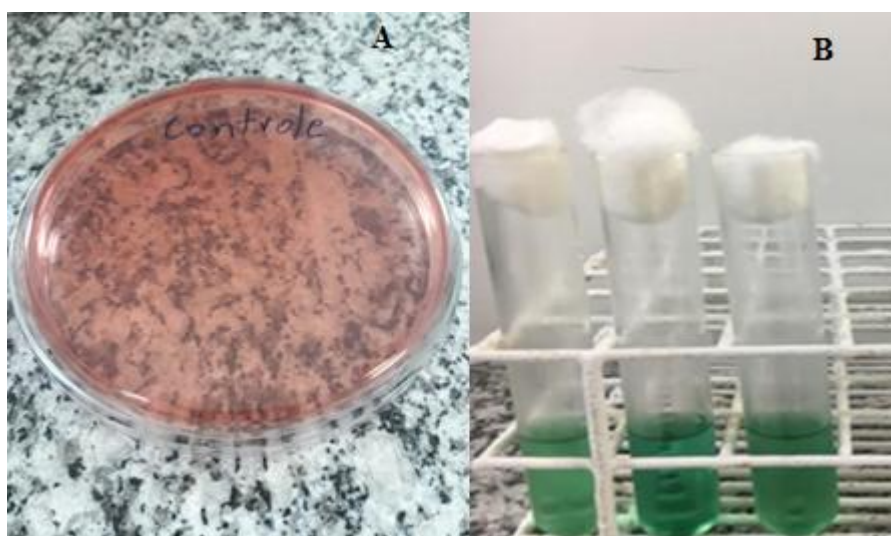


Figura 5: Meios de Cultura Ágar MacConkey (A) e Caldo Lactose Bile Verde Brilhante 2% (B)

Fonte: Autor, 2019

A partir das diluições 10^{-1} a 10^{-3} , foram inoculados com 100 uL, respectivamente, três tubos de caldo lactose verde brilhante bile a 2% com 5 mL de Caldo. Logo em seguida os tubos seguiram para incubação a 35°C por 18 horas. Foi considerado positivo aqueles que se revelaram com desenvolvimento bacteriano. Para

efeito de interpretação dos resultados, dentro dos cinco grupos inoculados inicialmente, foram consideradas três séries consecutivas, a partir da maior diluição que apresenta os tubos positivos. De acordo com o número de tubos positivos empregou-se a tabela de Hoskins, determinando assim o NMP de coliformes totais por grama da amostra de acordo como mostrado no quadro 2.

Quadro 2: Número Mais Provável por gramas ou mililitros, para serie de 3 Tubos de ensaio com inócuos de 0,1;0,01;0,001 g ou mL e respectivo intervalo de Confiança de 95%

NUMERO DE TUBOS POSITIVOS			NMP/g ou mL	INTERVALO DE CONFIANÇA (95%)	
0,1	0,01	0,001		Inferior	Superior
0	0	0	<3,0	-*-	9,5
0	0	1	3	0,15	9,6
3	1	0	240	42	1000
3	2	1	460	90	2000
3	3	2	1100	180	4100
3	3	3	>1100	420	-*-

Fonte: Bacteriological Analytical Manual Online, 2001

A Contagem Padrão em placas é o método mais utilizado para a determinação de organismo patógenos em alimentos (FRANCO, 2008). Através deste método pode se realizar contagens de grandes grupos microbianos, tais como: bactérias aeróbias mesófilas, psicrotóxicas, termófilas, bolores e leveduras, mas também é empregada na quantificação de gêneros e espécies, como *Listeria spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, com algumas variações relacionadas ao meio utilizado, temperatura e tempo de incubação, de cada microrganismo (MARCHI, 2012).

Apos a autoclavagem de 15 pares de placas de petri foi realizado a preparação do meio de cultura foi pesado 17,5 gramas de Agar MacConkey e diluído em 350 mL de água Ionizada, após isso foi direcionado para a Autoclave onde foi aquecido durante 15 mim a 120 C. Próximo a chama do Bico de Bunsen o meio foi despejado aproximadamente 20 mL de ágar em cada placa, onde foi esperado a formação de gel do meio.

Logo em seguida foi realizado a semeadura do meio com uma micropipeta de 100 Uml e com o auxílio da alça de Drigalsky foi realizado a semeadura e em seguida foi colocado em uma estufa a 35C por 24 horas.

6. RESULTADOS E DISCUSÕES

O Quadro 3 expressa o resultado encontrado nas amostras de cada diluição para a análise de NMP de coliformes totais.

Quadro 3: Resultados em média das análises de NMP para coliformes totais de carne bovina moída coletada em 5 mercados, na cidade de Lages, SC, Brasil.

NUMERO DE TUBOS POSITIVOS			NMP/g ou mL
0,1	0,01	0,001	--
--3	3	0	240
3	3	3	>1100
3	3	2	1100
3	2	3	290
3	1	1	75

Fonte: Autor, 2019

Verificou-se que em 100% das amostras coletadas foram encontrados coliformes totais, onde todas apresentaram valores alarmantes, acima de 10^3 NMP/g. É necessário ter estudos mais aprofundados para traçar um perfil microbiológico do alimento e as condições higiênicas do local, pois, de acordo com Sousa (2006), utiliza-se a pesquisa desses micro-organismos a fim de revelar defeitos no tratamento ou na manipulação dos alimentos, levando consigo um perigo potencial, mesmo não estando na amostra particular examinada ou estando em baixas quantidades, mas que podem ser provavelmente encontrados em amostras paralelas.

Na Contagem padrão de placas, não foi possível fazer uma contagem nas placas pelo número de proliferações de colônias de bactérias, mas foi possível identificar algumas colônias devido a coloração delas como mostrado na figura 6.

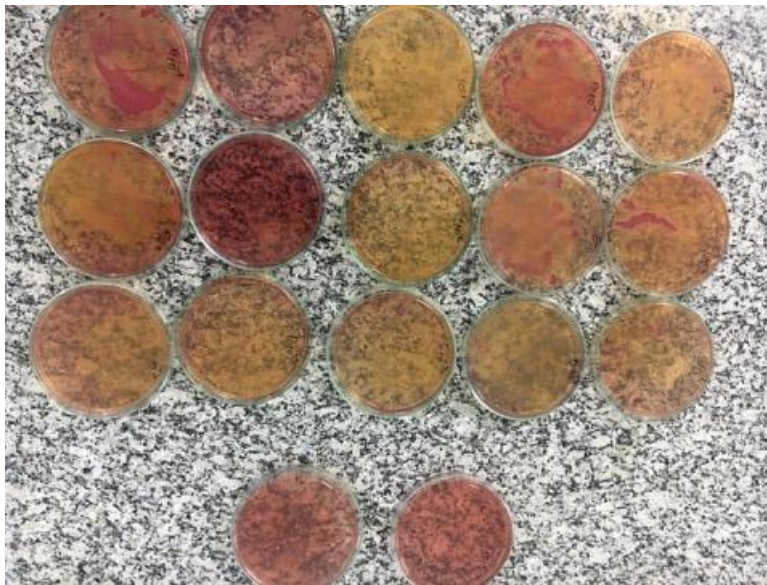


Figura 6: Análise global das colônias

Fonte: Autor, 2019

As bactérias que apresentaram coloração rosa são bactérias gram negativas fermentadoras de lactose como *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia* e *Klebsiella*. Juntamente com uma presença de salmonela onde sua forma e bastonetes, são gram negativas, anaeróbicos facultativos, onde seu habitat natural é em seres humanos e animais em seu trato intestinal.

Conseguiu-se analisar as diluições, pois cada diluição apresentou diferença na proliferação garantindo que o procedimento de diluição das amostras foi correto como mostrado no ANEXO A. Segundo o Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento (MAPA) de acordo com a normativa 83 de 21 de novembro de 2003, juntamente com a RDC de nº 12 de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001), define como padrão de qualidade microbiológica da carne in natura, em qual se enquadra a carne moída, a ausência de *Salmonella spp.* em 25 gramas de amostra.

De acordo com a legislação ela determina que Carnes resfriadas, ou congeladas, "in natura", de bovinos, suínos e outros mamíferos (carcaças inteiras ou fracionadas, quartos ou cortes); carnes moídas; miúdos de bovinos, suínos e outros mamíferos, deve ter ausência de salmonela (ANVISA 2001). De acordo com

coloração das colônias pode-se apresentar a presença de salmonela em todas amostras, sendo que as mais preocupantes foi a amostra dos Grupos A, B e E.

7. CONCLUSÃO

Segundo os resultados alcançados, concluiu-se que a carne bovina moída dos estabelecimentos analisados na cidade de Lages, SC estavam comprometidas.

Para estes estabelecimentos que tiveram resultados analisados acima do permitido verifica-se que precisa de um treinamento em Boas Práticas de Fabricação, principalmente quanto aos cuidados acerca da higienização de equipamentos, do estabelecimento e higiene pessoal dos manipuladores do alimento, ou seja, um controle de qualidade eficiente que melhore as condições precárias de manipulação, visando a saúde dos consumidores.

REFERENCIAS

ALMEIDA, A.S.; GONÇALVES, P.M.R.; FRANCO, R.M. Salmonella em corte de carne bovina inteiro e moído. **Higiene Alimentar**, v.16, n.96, p.77-81, 2002

ANVISA – **Agencia Nacional de Vigilância Sanitária**. Disponível em: <file:///C:/Users/User/Downloads/Portaria+n%C2%BA+1004%252C+de+11+de+deze mbro+de+1998.pdf> acessado em: 03 de novembro de 2018.

ANVISA – **Agencia Nacional de Vigilância Sanitária**. Disponível em: <> acessado em: 09 de maio de 2019.

BAÚ, T. R, et al. **Avaliação da qualidade química e microbiológica de salsichas tipo Viena. Revista Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária. **Instrução Normativa n83, de 21 de novembro de 2003**. Disponível em:<http://oc4j.agricultura.gov.br/agrolegis/do/consultaLei?op=viewTextualecodigo=4317> Acesso em: 15 abr. 2019.

CLIVER, D.O. **Foodborne diseases**. California: Academic Press, 1990.

CONCEIÇÃO, F. V. E. da; GONÇALVES, E. C. B. de A. Qualidade físico-química de mortadelas e carnes moídas e conhecimento dos consumidores na conservação destes produtos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas: 2009.

DAMER, J.R.S.; DILL, R. E.; GUSMÃO, A. A.; MORESCO, T. R.; **Contaminação de carne bovina moída por escherichia coli e salmonella sp**. Revista Contexto e Saúde. Editora Unijuí. 2014.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENNEMA, O.R. **Química de Alimentos de Fennema**. Trad. Brandelli et al. Porto Alegre: Artmed, 2010.

D'AOUST, J.; MAURER, J., BAILEY, J.S. Salmonella species. In: DOYLE, M.P.; BEUCHAT, L.R.; MONTVILLE, T.J. (Ed.). Food microbiology: **fundamental and frontiers**. 2.ed. Washington: ASM, 2001.

DELEZARI, I. Microbiologia de Carnes. **Boletim do Instituto de Tecnologia de alimentos**, Campinas, 1977.

FERREIRA, R; SIMM, E. M. Análise microbiológica da carne moída de um açougue da região central do município de Pará de Minas-MG. **SynThesis Revista Digital FAPAM**. 2012.

FORSYTHE, Stephen J. **Microbiologia da segurança de alimentos**. Porto Alegre. Artmed,2013.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2008.

HAJDENWURCEL,J.R. **Atlas de microbiologia de alimentos**. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora, 1998.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análises de alimentos**. 4ª ed. (1ª Edição digital), 2008.

JAY, J.M. **Microbiologia moderna de los alimentos**. 3rd ed. Zaragoza: Editorial Acribia, 2005.

JORIS, M.A.; VANROMPAY, D.; VERSTRAETE, K.; REU, K.; ZUTTER, L.; COX, E. Use of antibody responses against locus of enterocyte effacement (LEE) – Encoded antigens to monitor enterohemorrhagic *Escherichia coli* infections on cattle farms. **Appleid and Environmental Microbiology**, 2013.

MARCHI, P. G. F. de. **Jaboticabal estudo Comparativo Do Estado De Conservação De Carne Moída Através De Métodos Microbiológicos E Físico-Químicos** Jaboticabal: São Paulo, 2012. **sertação** (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva) - UNESP, Campus de Jaboticabal.

MATURIN,L.J.; PEELER, J.T. Aerobic Plate Count. In: Bacteriological Analytical Manual. 8 ed. Arlington, AOAC International, 1995.

MONTEIRO, V.J.O. et al , 2007- Avaliação da qualidade microbiológica de linguiças artesanais produzidas e comercializadas na cidade de Umuarama, PR. **Revista Higiene Alimentar**, vol. 21, n 155, página 44, 2007.

MOTTA, M. R. A. et. al. Avaliação microbiológica de amostras de carne moída comercializada em supermercados da região oeste de São Paulo. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.14, n.78/79, p.59-62, 2000.

ORDÓÑEZ J.A. **Tecnologia de Alimentos. vol 2**. Trad. Fátima Murad. Porto Alegre: Artmed, 2005

PARDI, C. M. et al. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. Goiânia: UFG, v.1,2001.

PIROLA, S. S. **Listeria spp. em carne bovina pré-moída**: isolamento, sorologia, sensibilidade das cepas aos antimicrobianos e relação com a presença de sulfito de sódio. Rio de Janeiro, 2006. 114 p. **Dissertação** (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) - Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro.

ROSINA, A.; MONEGO, F. Avaliação microbiológica da carne bovina moída nas redes de supermercados de canoinhas-SC. **Revista Interdisciplinar**. 2013.

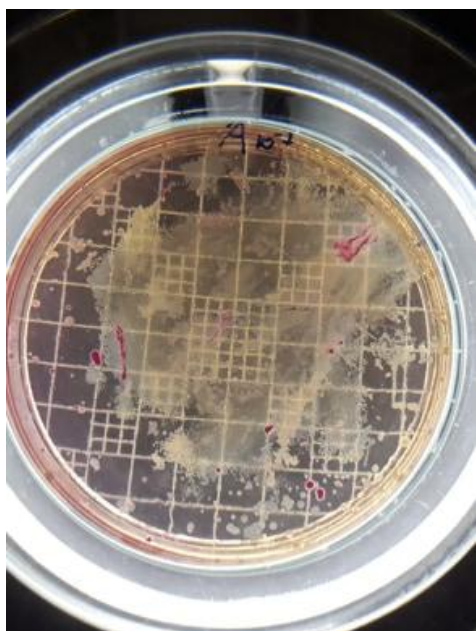
SOUSA, C. P. Segurança alimentar e doenças veiculadas por alimentos: utilização do grupo coliforme como um dos indicadores de qualidade de alimentos. **Revista APS**. 2006.

USDA - **Departamento De Agricultura Dos Estados Unidos. Estatísticas**. Disponível em: <>Acessado em: 15 de agosto de 2018.

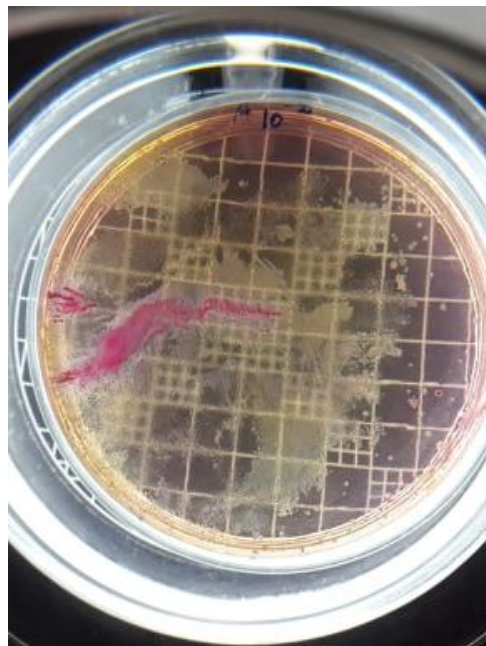
VERRUMA-BERNARDI, M. R. Avaliação da perda térmica em diferentes tipos de carne bovina para elaboração de bifés. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.15, n.80/81,p.93, jan./fev.2001.

VIOTT, A., STOLBERG, J.; PELIZER, M.R. **Qualidade microbiológica e físico-química de salame tipo coloniais da região do Alto Uruguai Catarinense**. **Revista Higiene Alimentar**, v.20 n°138, janeiro/ fevereiro de 2006.

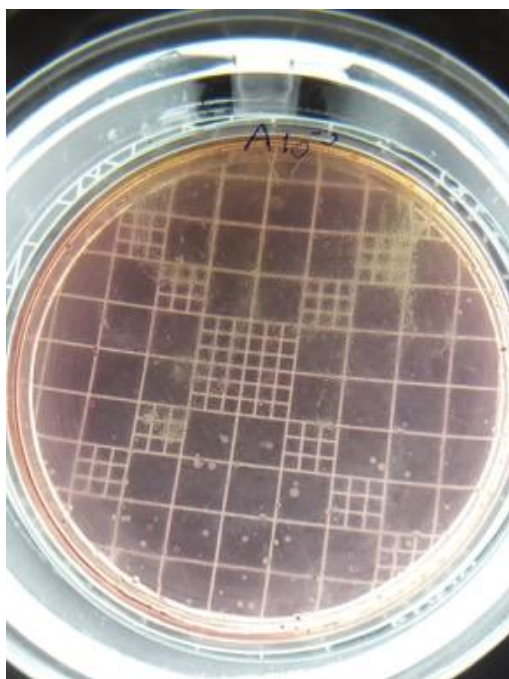
ANEXO A
Grupo A



Diluição 10^{-1}

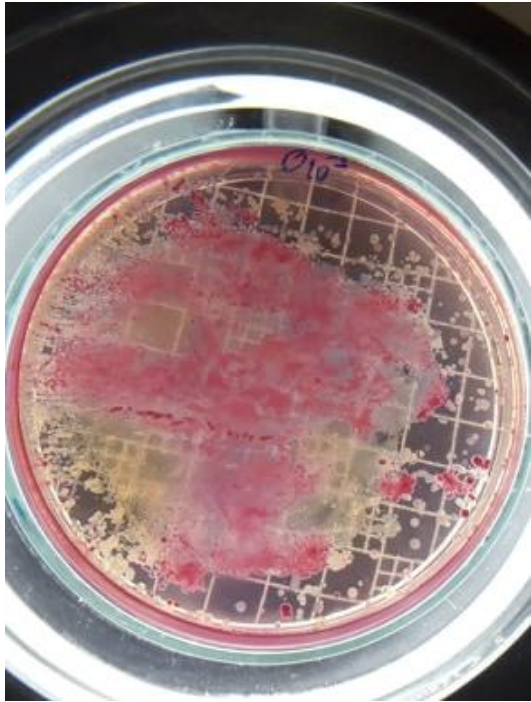
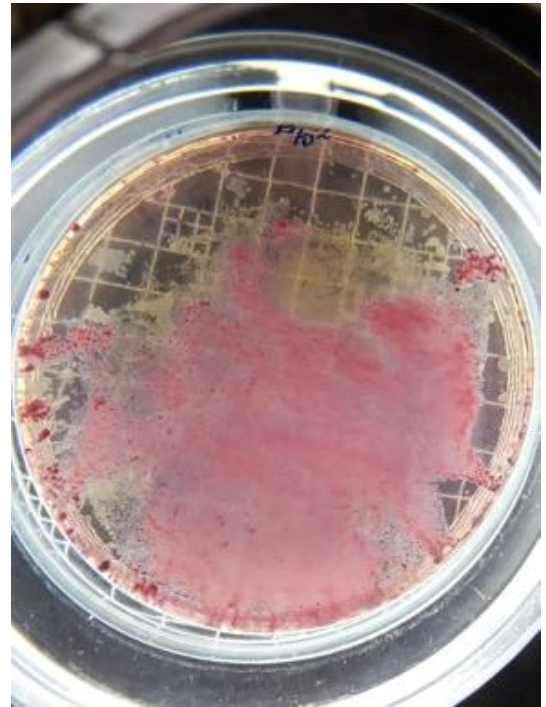
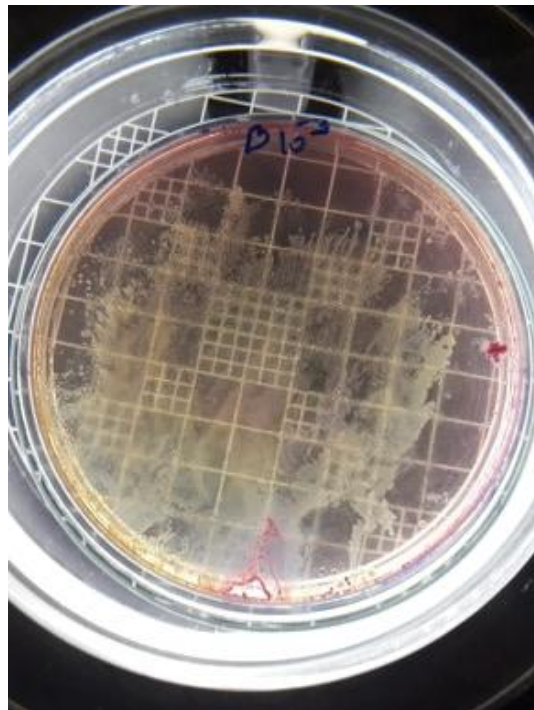


Diluição 10^{-2}

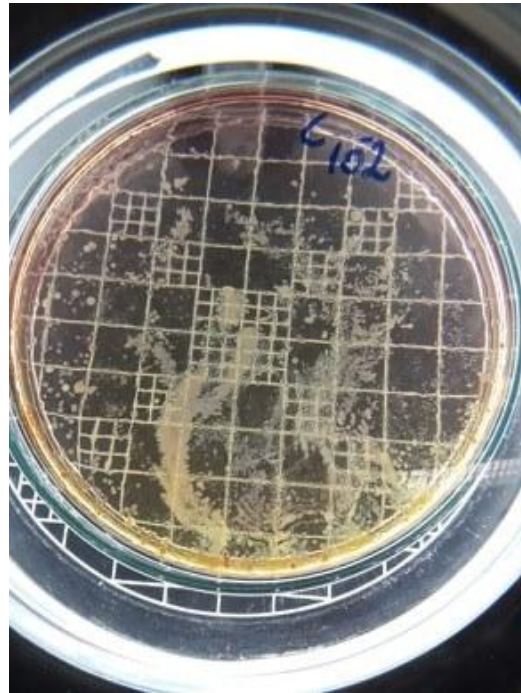
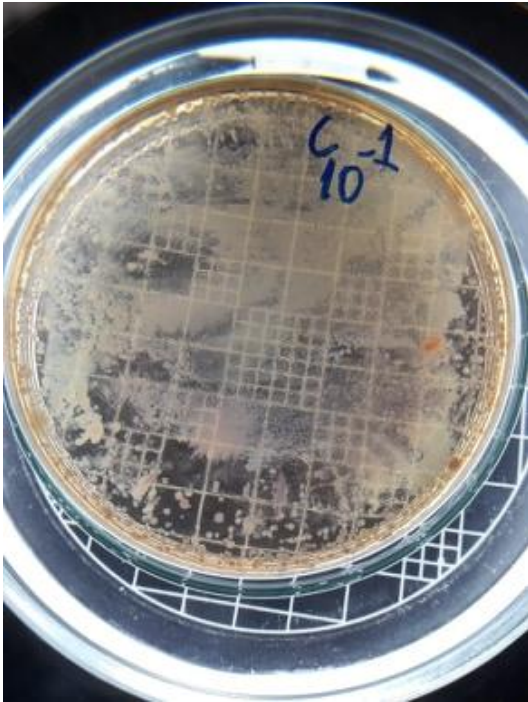
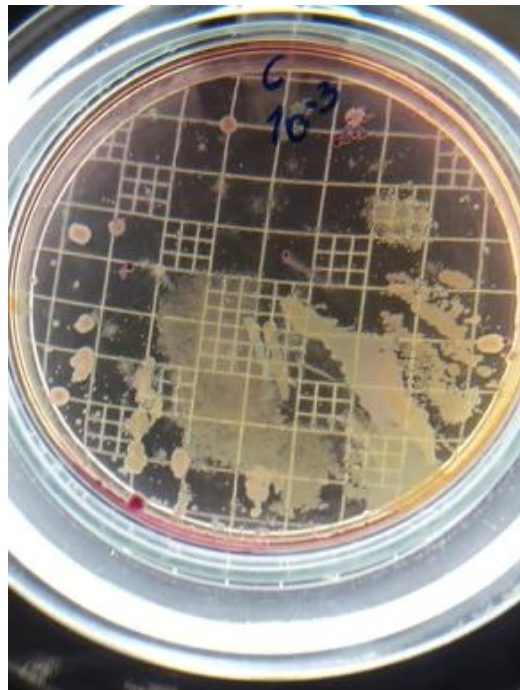


Diluição 10^{-3}

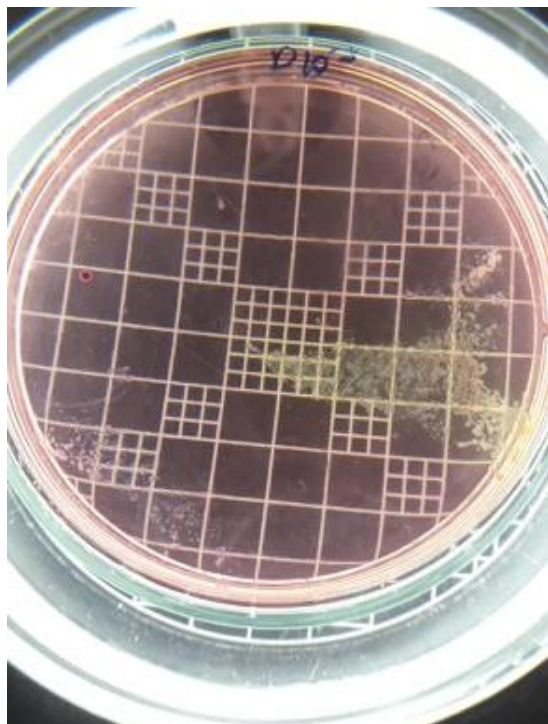
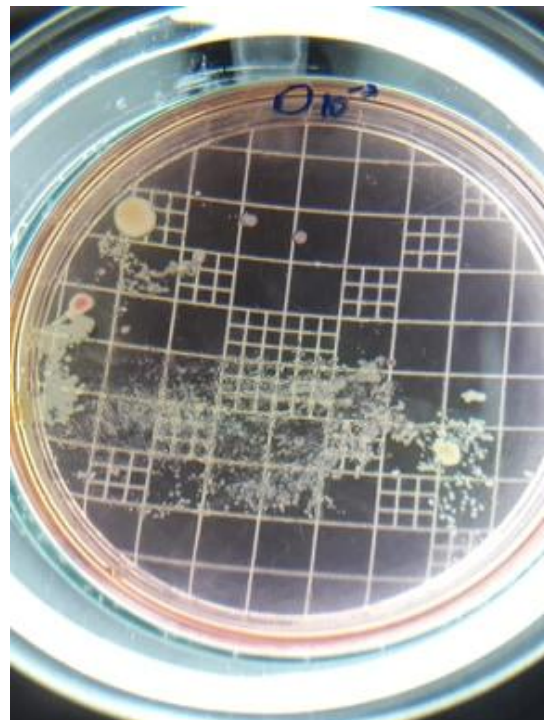
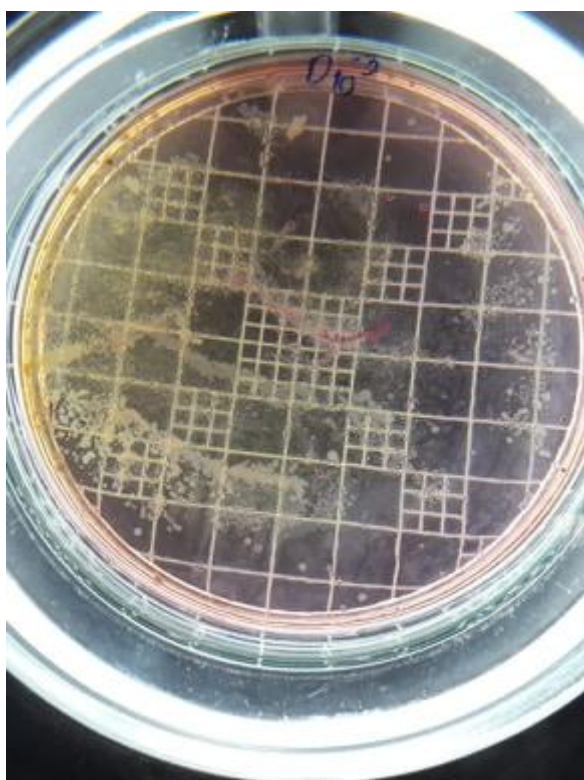
Grupo B

Diluição 10^{-1} Diluição 10^{-2} Diluição 10^{-3}

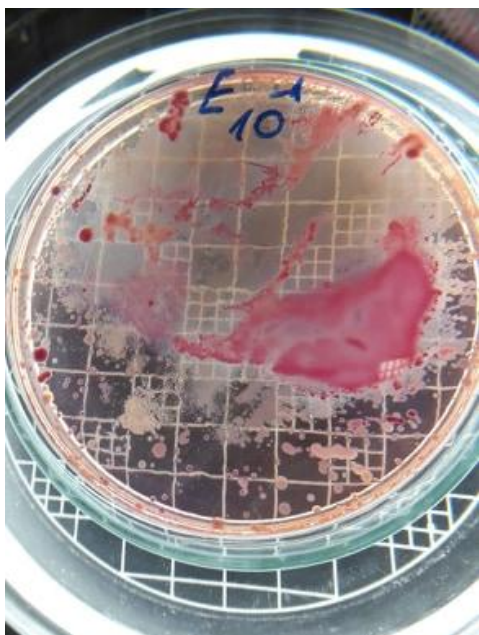
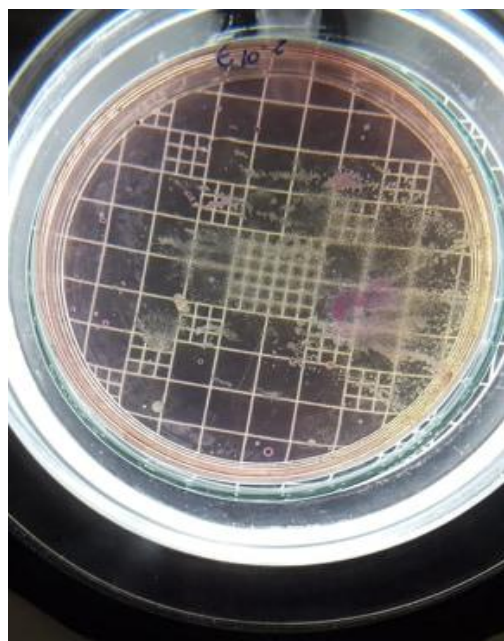
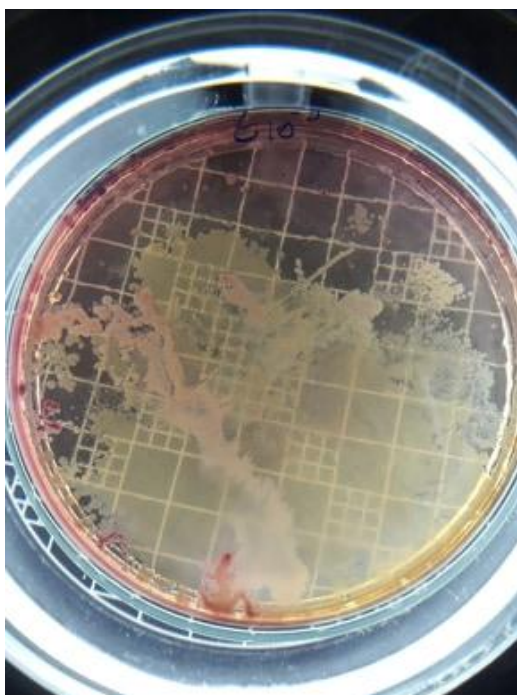
Grupo C

Diluição 10⁻¹Diluição 10⁻²Diluição 10⁻³

Grupo D

Diluição 10^{-1} Diluição 10^{-2} Diluição 10^{-3}

Grupo E

Diluição 10^{-1} Diluição 10^{-2} Diluição 10^{-3}