

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS E AGRÍCOLA
Fevereiro - 1983

ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS E QUÍMICOS
DE PRODUTOS ALIMENTÍCIOS ELABORADOS
COM CARNES MOÍDAS, VENDIDOS NO
VAREJO NO MUNICÍPIO DE CAMPINAS.

ROGERIA COMASTRI DE CASTRO ALMEIDA

ORIENTADOR

PROF. DR. IHIEL SCHWARTZ SCHNEIDER

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola
da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do Título de
Mestre em Tecnologia de Alimentos.

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

A meu esposo Paulo

A meus pais

Hervê e Terezinha

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Ihiel Schwartz Schneider, pela orientação, incentivo e amizade durante o desenvolvimento deste trabalho.

A Paulo pela grande ajuda, apoio e esclarecimentos prestados.

A meus irmãos pela união, estímulo e apoio.

Ao Prof. Dr. Antônio de Melo Serrano pelos ensinamentos e conselhos

Aos amigos Stelito Assis dos Reis Filho e Dirceu Pereira pela colaboração e amizade.

Ao INSTITUTO "ADOLFO LUTZ" que nos forneceu sangue de carneiro para as experiências.

À CAPES e à FAPESP pela ajuda financeira.

À Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola e à Universidade Estadual de Campinas.

ÍNDICE

	PÁGINA
Índice de Tabelas.....	i
Resumo.....	iii
Summary.....	v
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Objetivo do Trabalho.....	1
1.2. Revisão Bibliográfica.....	5
1.2.1. Deterioração da carne.....	5
1.2.1.1. Processos gerais de deterioração.....	5
1.2.1.2. Origem da flora deteriorativa.....	7
1.2.1.3. Comportamento dos microrganismos em relação à temperatura.....	9
1.2.1.4. Desenvolvimento da flora microbiana a baixas temperaturas.....	11
1.2.1.5. Alterações do sabor e do odor das carnes.....	12
1.2.2. A carne moída como veículo de contaminantes.....	13
1.2.2.1. Microrganismos incriminados como responsáveis pela contaminação da carne moída.....	15
1.2.2.1.1. Coliformes fecais - <u>Escherichia coli</u>	15
1.2.2.1.2. Estreptococos fecais.....	19
1.2.2.1.3. <u>Salmonella</u> sp.	20
1.2.2.1.4. <u>Clostridium perfringens</u>	22
1.2.2.1.5. <u>Staphylococcus aureus</u>	24
1.2.2.1.6. <u>Bacillus cereus</u>	26
1.2.2.1.7. Fungos e leveduras.....	27
1.2.2.1.8. Microrganismos lipolíticos.....	29

1.2.2.2. Dados epidemiológicos sobre toxinfecções por produtos cárneos moídos.....	31
1.2.2.3. Necessidade de Padrões Microbiológicos.....	34
2. MATERIAL E MÉTODOS	
2.1. Produtos Estudados.....	40
2.2. Coleta das Amostras.....	41
2.3. Equipamento.....	42
2.4. Análises Microbiológicas.....	43
2.4.1. Preparo das amostras.....	43
2.4.2. Contagem de bactérias aeróbias a 35º e a 7ºC.....	44
2.4.3. Contagem de coliformes fecais e <u>Escherichia coli</u> ...	44
2.4.4. Contagem de estreptococos fecais.....	44
2.4.5. Determinação de <u>Clostridium perfringens</u>	45
2.4.6. Contagem de microrganismos lipolíticos.....	45
2.4.7. Determinação presuntiva de <u>Salmonella</u> sp.	46
2.4.8. Contagem de <u>Bacillus cereus</u>	46
2.4.9. Contagem de estafilococos coagulase-positivos.....	46
2.4.10. Contagem de fungos e leveduras.....	47
2.5. Análises Químicas.....	47
2.5.1. Preparo das amostras.....	47
2.5.2. Determinação de umidade.....	48
2.5.3. Determinação de proteínas.....	48
2.5.4. Determinação de lipídeos.....	48
2.6. Determinação da Relação Massa : Recheio.....	48
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	
3.1. Análises Microbiológicas.....	68

3.1.1. Contagem de microrganismos aeróbios a 79 e 35°C. ..	68
3.1.2. Contagem de coliformes fecais, <u>Escherichia coli</u> e enterococos.....	69
3.1.3. Contagem de fungos, leveduras e microrganismos lipo líticos.....	70
3.1.4. Estafilococos coagulase-positivos.....	71
3.1.5. <u>Bacillus cereus</u>	73
3.1.6. <u>Salmonella</u> sp.	74
3.1.7. <u>Clostridium perfringens</u>	77
3.2. Comparação de nossos achados microbiológicos com os padrões disponíveis.....	78
3.2.1. Produtos cárneos crus.....	79
3.2.2. Produtos recheados com carne moída pré-cozida.....	83
3.3. Composição Química e Relação Massa : Recheio.....	85
4. CONCLUSÕES.....	89
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	91

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA	PÁGINA
1. Análises microbiológicas do recheio pré-cozido de <u>pas</u> <u>téis</u>	51
2. Análises microbiológicas do recheio pré-cozido de ravi <u>óis</u>	52
3. Análises microbiológicas do recheio pré-cozido de "cape <u>lettis</u> ".....	53
4. Análises microbiológicas de croquetes não cozidos.....	54
5. Análises microbiológicas de quibes crús-congelados....	55
6. Análises microbiológicas de almôndegas cruas-congela <u>das</u>	56
7. Análises microbiológicas de hamburgueres crús-congela <u>dos</u>	57
8. Padrões microbiológicos adotados no Brasil e em <u>al</u> <u>guns</u> países e estados para carne bovina moída e produ <u>tos</u> cárneos crús.....	58
9. Relação de alguns padrões microbiológicos para pratos elaborados com carnes moídas pré-cozidas-congelados...	59
10. Distribuição, por classes, da frequência porcentual das amostras contendo microrganismos viáveis a 35º e 7º C bem como fungos e leveduras por grama de alimento....	60
11. Distribuição, por classes, da frequência porcentual das amostras contendo coliformes fecais, <u>Escherichia</u> <u>coli</u> e enterococos por grama de alimento.....	61

12. Distribuição, por classes, da frequência porcentual das amostras contendo estafilococos coagulase-positivos, <u>Bacillus cereus</u> e microrganismos lipolíticos por grama de alimento.....	62
13. Distribuição da flora microbiana de possível risco à saúde do consumidor.....	63
14. Composição química centesimal do recheio de pastéis , raviólis e "capelettis" e Relação Massa : Recheio.....	64
15. Composição química centesimal de quibes, almôndegas, hamburgueres e croquetes.....	65
16. Valores mínimos, máximos e médios da composição química dos produtos estudados.....	66
17. Relação unidade : proteína nos produtos cárneos crus.	67

RESUMO

Para investigar a qualidade microbiológica e química de alimentos elaborados com carnes moídas, 70 amostras de 12 marcas diferentes foram coletadas em estabelecimentos varejistas do Município de Campinas, S.P. ; Brasil. Deste total, 4 produtos eram refrigerados ou frescos: pastéis, raviólis, "capelettis" e croquetes, e 3 produtos congelados: almôndegas, quibes e hamburgueres. No caso das massas, com exceção dos croquetes, as análises foram efetuadas apenas no recheio.

Os seguintes microrganismos foram pesquisados: aeróbios viáveis a 35° e a 7°C, coliformes fecais e Escherichia coli, enterococos, estafilococos coagulase-positivos, Bacillus cereus, Clostridium perfringens, Salmonella sp., fungos, leveduras e microrganismos lipolíticos.

Entre os microrganismos estudados, estafilococos coagulase-positivos foram isolados de 70% das amostras de croquetes, Bacillus cereus de 90% das amostras de almôndegas, Escherichia coli de 50% das amostras de quibes e Salmonella sp. e Clostridium perfringens de 40% das amostras de quibes.

As amostras de quibe foram as que apresentaram maior frequência de microrganismos de possível risco à saúde do consumidor.

Os recheios de pastéis, "capelettis" e raviólis apresentaram as mais baixas contagens de microrganismos potencialmente patogênicos e de outros microrganismos, provavelmente, por serem pré-cozidos.

Resultados obtidos das análises de composição em proteína, lipídios e teor de umidade, e a relação massa:recheio foram muito variados, nos levando a acreditar na necessidade de padronização de produtos deste tipo.

SUMMARY

In order to investigate the microbiological and chemical quality of foods elaborated with ground beef, 70 samples covering 12 different brands were collected from retail markets (meat shops, supermarkets, groceries and pastry shops) in the county of Campinas, State of São Paulo; Brazil. Of these, 4 products were bought refrigerated or fresh: pies, raviolis, "capelettis", croquettes, and 3 were frozen products: meat balls, "keebe" and hamburgers. Of the pasta products, except for croquettes, we analysed only the stuffing.

The following microorganisms were investigated: viable aerobes at 35° and 70° C, fecal coliforms and Escherichia coli, enterococci, coagulase-positive staphylococci, Bacillus cereus, Clostridium perfringens, Salmonella sp., molds, yeasts and lipolytic microorganisms.

Of the several groups of microorganisms studied, the coagulase-positive staphylococci were isolated from 70% of the croquette samples; Bacillus cereus from 90% of the meat ball samples; Escherichia coli from 50% of the "keebe" samples, and Salmonella sp. and Clostridium perfringens from 40% of the "keebe" samples.

The "keebe" samples were the most frequently contaminated with potentially pathogenic microorganisms.

The minced meat stuffing of the pies, ravioli and "capelettis", showed the lowest counts of potentially pathogenic microorganisms, fecal contaminants and total aerobic plate count, probably due to the fact they are pre-cooked.

Proximate composition and dough: stuffing ratio showed great variations, which indicates the need for standards for those foods.

1. INTRODUÇÃO

1.1. OBJETIVOS DO TRABALHO

O consumo de alimentos industrializados ou daqueles preparados fora do lar, tem aumentado de forma progressiva no decorrer dos últimos anos. Este fenômeno se deve a diversas razões, a principal das quais está relacionada com o fato da dona de casa moderna estar se dedicando, cada vez mais, a afazeres fora do lar. Em consequência, pouco tempo lhe sobra para o preparo de alimentos à maneira tradicional, sendo obrigada a recorrer a pratos pré-elaborados, semi-prontos, ou de qualquer forma já processados, de sorte a possibilitar-lhe alimentar-se e a sua família, de maneira condizente com a evolução da sociedade moderna.

Esta é, provavelmente, uma das principais razões do aumento do consumo deste tipo de alimentos, e da importância que estes desempenham do ponto de vista de saúde pública.

A carne moída tem sido utilizada como matéria prima no preparo de muitos e variados alimentos, além de ser consumida sob várias formas. Mais recentemente, as carnes moídas tiveram seu uso e consumo grandemente aumentados entre nós, como também nos países ditos desenvolvidos pelas seguintes razões:

(1) A carne moída é uma forma de melhor e mais conveniente aproveitamento dos cortes cárneos menos nobres, notadamente das carnes de 2ª e 3ª categorias;

(2) devido ao seu elevado preço, a carne de 1ª categoria torna-se cada vez mais distante para o consumo dos segmentos da população de menor poder aquisitivo;

(3) as carnes moídas além de possibilitarem a utilização das porções menos nobres, permitem ainda a inclusão dos chamados "fillers", ou seja, de substâncias mais baratas como amidos, farinhas e derivados proteicos de soja, que desse modo, permitem baixar o preço final para o consumidor;

(4) no caso específico do Brasil, é importante salientar que as carnes moídas possibilitam, dentre os chamados ligadores a inclusão de derivados de soja, que são alimentos baratos, de elevado valor proteico, e do qual o Brasil é atualmente o segundo maior produtor do mundo;

(5) outra grande virtude deste tipo de carne é permitir a inclusão, em produtos dela elaborados, de substanciais quantidades de gorduras animais, que são, geralmente, produtos gravosos e de difícil comercialização;

(6) as carnes moídas possibilitam também a combinação de tecidos de diferentes espécies animais, como de bovinos, suínos, aves, e mesmo de carnes de equídeos, em países onde esta última carne é permitida;

(7) a inclusão de substâncias diversas no preparo de alimentos, permite, geralmente, a elaboração de produtos com novas e melhores características finais;

(8) por outro lado, as carnes moídas combinadas ou não, possibilitam ainda o emprego de substâncias melhoradoras de suas características finais como é o caso dos aglomerantes, antioxidantes, melhoradores da cor e sabor, o que em última análise, resulta em produtos com maior tempo de vida comercial;

(9) paradoxalmente, tem-se verificado que os países de maiores recursos econômicos são os maiores consumidores deste tipo

de produtos, devido, provavelmente, à conveniência destes para os consumidores e também face ao custo muito elevado das carnes de 1ª categoria;

(10) acresce que este tipo de carne ainda serve de base a uma grande variedade de produtos de preparo rápido e convenientes para a dona de casa moderna, razão pela qual seu consumo tem aumentado constantemente;

(11) finalmente, sendo alimentos que sofrem várias manobras tecnológicas no seu preparo, é natural que também sejam expostos a maiores e mais frequentes oportunidades de contaminação, devendo assim, receber cuidados especiais na sua manipulação, preparo, conservação e uso.

Apesar do aumentado consumo de produtos a base de carnes moídas, observa-se, em nosso meio, a existência de um número relativamente pequeno de estudos visando determinar a qualidade microbiológica, composição química e a relação proteína:água e proteína:gordura de tais produtos.

Inspirados nesses ditames, idealizamos a realização da presente pesquisa, que teve por finalidade atingir os seguintes objetivos:

a) Verificar as condições microbiológicas da carne moída usada no preparo de vários produtos tais como quibes, almôndegas, hamburghueses, croquetes, raviólis, "capelettis" e pastéis, vendidos em supermercados, casas de carne, mercearias e casas de massas, no Município de Campinas;

b) determinar os grandes componentes químicos da carne moída presentes nesses produtos;

c) determinar a relação massa:recheio nos produtos re

cheados;

d) comparar os resultados das análises microbiológicas com os padrões vigentes no país, no exterior e aqueles sugeridos por alguns pesquisadores.

1.2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.2.1. Deterioração da carne

1.2.1.1. Processos gerais de deterioração

A carne e seus derivados, face a sua composição, representam alimentos de fácil deterioração tanto por variada flora microbiana como pela ação de enzimas próprias ou autóctones, luz, calor e oxigênio. No caso de contaminação microbiana são necessárias condições básicas tais como temperatura adequada e contaminantes com número inicial apropriado.

As alterações nos compostos de baixo peso molecular contendo nitrogênio tem sido investigadas e, nestes ocorrem, usualmente, mudanças significativas na concentração de nitrogênio não proteico, nitrogênio volátil e α amino-grupos (38, 50, 51).

YONATHAN & WATTS (108) afirmam que as mudanças organelépticas podem estar correlacionadas com o aparecimento de rancidez em carnes cozidas, e que as proteínas ligadas a fosfolipídios constituem um componente importante se relacionadas a reações deteriorativas que se realizam durante o processamento e estocagem.

Devido ao fato das mudanças químicas serem úteis para o controle de rotina, existem numerosos esforços para usar uma ou outra destas mudanças bioquímicas como índice de deterioração. Entre outros, também foi proposto o valor de pH, porque em carnes que sofrem deterioração aeróbia, o pH quase invariavelmente aumenta para 6,5 do usual valor pós-rigor de 5,5. Entretanto, o pH não se correlaciona geralmente muito com o número de bactérias presentes segundo

alguns autores, muito embora outros relatem uma boa concordância entre os números de bactérias ou redução pelo azul de metileno e valor de pH (50).

ROBERTS, BRITTON & HUDSON (82) não encontraram qualquer relação entre a contagem de organismos viáveis a 37° ou 22°C e o teor de lipídios. O pH foi significativa e positivamente correlacionado com as contagens, ou seja, constatarem uma tendência de aumento do pH com o aumento da contagem bacteriana.

De acordo com MAXCY (58) um dos fatores mais críticos no crescimento dos microrganismos em um alimento é a disponibilidade de água expressa como Aa do microambiente. A evaporação da água ocorre na superfície da carne, onde o conteúdo de umidade é mais baixo do que no interior da mesma ou numa unidade intacta. A extensão da perda de umidade e a Aa resultante na superfície depende da diferença entre a pressão de vapor da água do alimento sobre a pressão de vapor da água pura (Aa) e a umidade da atmosfera presente. De acordo ainda com aquele autor, a água disponível na superfície das carnes afeta a difusão de nutrientes e tem um efeito seletivo no deseenvolvimento da flora.

O que acima mencionamos constitui apenas uma pequena a mostra do grande elenco de trabalhos que se encontra na literatura no que respeita a deterioração de alimentos. O que é importante ressaltar, todavia, é que nem sempre os agentes de deterioração são inofensivos à saúde humana, existindo um estreito relacionamento entre os contaminantes em geral e a possibilidade de coexistência de agentes com potencial de afetar a saúde do homem pela ingestão destes alimentos.

1.2.1.2. Origem da flora deteriorativa

O processo de deterioração de carnes frescas é extremamente complexo, nele podendo intervir variada flora microbiana dependente das condições de temperatura, presença ou ausência de ar atmosférico e, principalmente a carga contaminante inicial que é decisiva no desencadeamento do processo em si.

Os microrganismos contaminam a carne a começar do próprio animal. A pele é um dos principais elementos que, no "post-mortem", em contato com a carne pode contaminá-la pesadamente. Os contaminantes podem ser disseminados durante as diferentes fases de preparo da carcaça, no ato da sangria, na esfola, na evisceração e durante a limpeza ou toalete. A esfola tem sido incriminada como sendo a maior responsável pela contaminação superficial da carne. Como agravante, pode-se citar o fato de que os tecidos de animais sadios já podem conter alguns germes vivos, como mencionado por HESS (49). Segundo esse autor os tecidos dos animais sadios com exceção da superfície externa e tratos gastro-intestinal e respiratório, contêm, normalmente, um número muito baixo de microrganismos. Isto se deve, provavelmente, à passagem juntamente com o quilo, de alguns germes intestinais responsáveis pela digestão, à corrente linfática e, desta, aos tecidos.

De acordo com GILL, PENNEY & NOTTINGHAM (39), já foi estabelecido que os vasos linfáticos superficiais do intestino são realmente permeáveis a partículas do tamanho das bactérias, e que as bactérias patogênicas, quando presentes no intestino também podem passar rapidamente para outros tecidos corporais, por esta mesma via.

Ainda de acordo com HESS (49), após a morte do animal os mecanismos de defesa começam a perder sua eficiência, podendo então haver uma progressiva contaminação da carne, pela migração de germes do conteúdo gastrointestinal. Pode-se somar ainda a estes germes aqueles provindos das manobras do abate, originados, na sua maioria, da pele, faca de sangria, equipamentos, mãos e roupas contaminadas do pessoal envolvido no processo de preparação da carcaça.

Um outro estudo apresentado por GILL et al. (39) sobre a invasão "post-mortem" dos músculos e tecidos por bactérias do trato intestinal e realizado com o auxílio de carbono radioativo (C_{14} marcado), revelou que os animais pareciam ser imunes à sua própria flora natural intestinal, e que esta imunidade era mantida mesmo após a morte. Desta forma, a passagem dessas bactérias para o sistema linfático não resultaria necessariamente em risco imediato para o consumidor. De acordo ainda com esses pesquisadores, parece que a demora da evisceração por mais de 24 horas não conduziria à contaminação do tecido da carcaça pelos organismos usualmente presentes nos intestinos. Posteriores evidências desta hipótese foram obtidas pelo fato de que músculos e nódulos linfáticos de carcaças não evisceradas de cordeiros, com mais de 24 horas, permaneceram estéreis a 20°C. Estas hipótese e afirmações não podem ser aceitas sem mencionar que são totalmente contrárias a tudo que se conhece sobre invasão "post-mortem" do músculo animal pelos habitantes normais do trato gastro-intestinal. De qualquer maneira, o assunto continua polêmico sendo certo que os gases intestinais atravessam o trato gastro-intestinal provocando alterações de coloração das carnes adjacentes.

1.2.1.3. Comportamento dos microrganismos em relação à temperatura

Segundo INGRAM & DAITNTY (50), a deterioração das carnes frescas está diretamente relacionada, entre outros, à temperatura, pois existem diferenças significativas entre deterioração ocorrida sob condições de temperaturas elevadas e em condições de temperaturas baixas. Em temperaturas elevadas adequadas ao crescimento de bactérias mesófilas, as espécies deteriorativas predominantes são os Clostrídios, que crescem no interior da carne em continuação aos aeróbios que, pelo consumo de oxigênio favorecem estes últimos. Todavia, de acordo ainda com os mesmos autores, em condições de refrigeração, o mecanismo de deterioração é diferente porque, nesse caso, os poucos clostrídios psicrófilos, quando presentes, crescem muito lentamente, pois são apenas tolerantes ao frio.

A deterioração das carnes refrigeradas é, usualmente, causada pelo desenvolvimento de espécies aeróbias ou micro-aerófilas, predominantemente sobre a superfície e logo abaixo desta. Se as condições são tais que a superfície da carne torna-se seca de modo a inibir o crescimento bacteriano, favorecem outra classe de microrganismos como os fungos. Por outro lado, quando a superfície permanece úmida, a deterioração é causada por uma limosidade ocasionada por bactérias Gram-negativas chamadas, no passado, de associação Pseudomonas-Achromobacter (50).

Ainda, de acordo com ANGELOTTI, FOTER & LEWIS (3), alimentos perecíveis podem permitir o crescimento de microrganismos responsáveis pelas toxinfecções alimentares ou de outros organismos infecciosos, se não forem devidamente protegidos desde a obten

ção da matéria prima e seu processamento, até seu transporte, armazenamento e consumo finais. Ainda de acordo com os mesmos autores, tendo em vista que o frio é um agente bacteriostático, é necessário empregá-lo com muito critério, visto como os vários agentes da toxinfecção alimentar apresentam limites de tolerância, notadamente quanto à elaboração de toxinas e que se situam na faixa de 0º a 10ºC. De qualquer maneira, é muito difícil estabelecer-se uma temperatura única de refrigeração que possa atender e proteger devidamente contra todos os tipos de germes da toxinfecção, visto como estes, como já afirmamos, crescem numa faixa não muito limitante de temperaturas. É portanto conveniente manter os alimentos o mais próximo possível de 0ºC, já que nesta temperatura a grande maioria dos agentes da toxinfecção alimentar não são capazes de elaborar toxinas e de se multiplicarem vigorosamente.

GILL & NEWTON (36) afirmam que sob condições úmidas e a baixas temperaturas, a flora microbiana da carne é usualmente constituída de organismos psicrófilos originados, na sua maioria, da pele dos animais abatidos. As espécies do gênero Pseudomonas predominam em condições aeróbias, e os representantes do gênero Lactobacillus em condições anaeróbias. Estes autores afirmam ainda que a deterioração microbiana pode ser retardada, mas não completamente evitada, pela estocagem das carnes a temperaturas entre 1º e 5ºC. É necessário, porém, que se compreenda como a flora deteriorativa se desenvolve a baixas temperaturas, ou seja: (1) Quais os organismos que podem estar presentes; (2) a natureza do meio no qual eles têm possibilidade de desenvolverem-se; (3) o efeito das alterações do meio sobre o seu crescimento e (4) as interações que podem ocorrer entre as espécies competitivas.

Ainda GILL & NEWTON (37) afirmam que na carne mantida a 20°C, sob condições aeróbias, as *Pseudomonas* psicrofílicas constituem 60% da flora deteriorativa, enquanto que a 30°C elas representam apenas 20%, sendo substituídas por espécies do gênero Acinetobacter da família Enterobacteriaceae, tanto psicrofílicos como mesófilos. A temperatura de 30°C os mesófilos apresentam-se como a flora dominante seguidos dos clostrídios que ainda são as espécies mais numerosas.

1.2.1.4. Desenvolvimento da flora microbiana a baixas temperaturas

Um estudo feito por GILL & NEWTON (36) sobre o desenvolvimento das bactérias predominantes no processo de deterioração da carne sob refrigeração, em condições aeróbias e anaeróbias, indica que em ambos os casos, o crescimento ocorre com utilização de componentes solúveis de baixo peso molecular, que são utilizados na seguinte ordem: glucose, glucose 6-fosfato (enterobactérias somente), e aminoácidos. Estes autores afirmam que a deterioração é detectada quando as bactérias começam a degradar os aminoácidos em condições aeróbias e que se encontram em abundância na superfície da carne. Pela decomposição desses aminoácidos resulta a produção de sabor e odor desagradáveis perceptíveis mesmo ao leigo. Nesse caso, o crescimento é controlado pela disponibilidade de oxigênio ou pelo acúmulo de produtos inibitórios do próprio metabolismo.

Ainda GILL (35) afirma que em condições estritamente anaeróbias, o crescimento das bactérias ou a densidade máxima celular é determinada pela taxa de difusão dos substratos fermentescíveis do interior dos tecidos. Quando a taxa de transferência de massa dos substratos fermentescíveis de dentro da carne para a superfície não é suficientemente grande para manter um crescimento loga

rítmico, esta declinará até um ponto no qual os substratos serão su
ficientes apenas para manutenção das células e o crescimento cessa
rã. O mesmo autor verificou também que a substância utilizada pelos
microrganismos em quantidades detectáveis é a glucose e, pela sua
exaustão do meio, os microrganismos recorrem principalmente aos ami
noácidos e ao ácido lático.

No caso de se estabelecerem condições limitadas de glu
cose no meio, ocorre um processo competitivo e o alto número de En
terobacter inibe o crescimento de Microbacterium thermosphactum en
quanto que o alto número de Lactobacillus inibe o crescimento de am
bas as espécies competitivas (65).

JAY (51) afirma que quando os microrganismos crescem em
um substrato composto por nutrientes simples e complexos, os nutri
entes simples são atacados de preferência aos complexos. No caso da
carne bovina fresca, também os constituintes solúveis não proteicos
são utilizados preferencialmente às proteínas da carne. O baixo con
teúdo de carboidratos, normalmente presente na carne bovina (1% ou
menos), faz com que os microrganismos deteriorativos utilizem amino
ácidos como fonte de energia.

Feita esta rápida dissertação sobre o processo de dete
rioração das carnes pode-se notar sua grande complexidade e da rele
vância do frio como elemento controlador destes fenômenos.

1.2.1.5. Alterações do sabor e do odor das carnes

DAINTY, SHAW, De BOER & SCHEPS (16) verificaram que as
alterações das proteínas ocasionadas pelo crescimento microbiano ,
nem sempre são detectadas antes do aparecimento de odor putrefativo

acompanhado ou não de limosidade superficial e confirmam a teoria de que a proteólise ocorrida durante a deterioração é, provavelmente, devida à atividade de microrganismos Gram-negativos.

Os aminoácidos livres presentes na superfície da carne são, presumivelmente, os precursores das aminas e compostos sulfurados, uma vez ocorrida a quebra das proteínas por um microrganismo fortemente proteolítico. Entretanto, no processo deteriorativo normal da carne, o mecanismo de hidrólise raramente é levado a extremos e usualmente não se sabe até que nível as proteínas são degradadas (50). Os compostos sulfurados e as aminas são os responsáveis pelo cheiro e sabor desagradáveis conferidos à carne deteriorada. Uma mudança na coloração também é observada, porém não se sabe ao certo a natureza desta alteração química. Ainda de acordo com os mesmos autores, a concentração de nitrogênio não proteico aumenta em carne estocada abaixo de 5°C, porém esse aumento é apenas detectado em quantidades significativas, quando a carne já está realmente deteriorada. Uma variedade de compostos que acompanham a deterioração da carne tem sido responsabilizada como contribuinte da condição de putrefação em carne, sobressaindo-se o indol, escatol, putrescinas, cadaverinas, H_2S e outros sulfitos, sulfetos e mercaptanos (50).

1.2.2. A Carne Moída como Veículo de Contaminantes

A carne moída ou alimentos que são com esta preparados, podem apresentar riscos aos consumidores, quando condições favoráveis ao crescimento de microrganismos lhes são oferecidas.

A literatura clássica menciona que toda vez que um ali

mento é subdividido em partículas cada vez menores, ocorre um aumento na sua superfície global, e a flora microbiana superficial se distribui entre as partículas juntamente com a flora do ambiente e daquela dos equipamentos usados como daquela proveniente dos operadores (84). Temos assim uma somatória de fatores que resultam, geralmente, no aumento da flora no interior da carne, razão pela qual alimentos deste tipo devem merecer tratamento e cuidados especiais.

ROGERS & McCLESKEY (84), RAO (77), TUOMI, MATTHEWS & MARTH (100), GRANER, MARTINELLI & CRUZ (44) e DITSCHAEVER, ARNOTT & BULLOCK (19), afirmam e confirmam que a carne moída constitui um meio altamente favorável à multiplicação microbiana, uma vez que a fragmentação dos tecidos, com resultante liberação de sucos, e a mistura das bactérias encontradas normalmente na superfície das carnes com tais tecidos macerados, resulta em material sujeito à rápida modificação, face as condições oferecidas à flora eventualmente presente.

EMSWILER, PIERSON & KOTULA (23) e DITSCHAEVER et al. (19), afirmam que a população bacteriana da carne moída vai depender da qualidade bacteriológica das aparas e dos recortes a serem moídos, da higiene durante a fabricação, do tipo de embalagem, e do tempo e temperatura durante o processamento e estocagem.

De acordo com CHESNUT, EMSWILER, KOTULA & YONG (13), as principais porções usadas na preparação de carne bovina moída ("ground beef") são as aparas da fabricação de cortes primários da carne bovina, carne de segunda categoria resultante de aparas diversas e ainda carne de vacas de descarte. Segundo estes mesmos pesquisadores a contagem de coliformes nas porções moídas provenientes da linha de aparas são altamente correlacionados com aquela do produto

final ($r = 0,92$, $P < 0,01$).

Embora ROBERTS et al. (82) afirmem que o número de bactérias na carne moída não tem qualquer relação com o tipo e tamanho do estabelecimento onde esta é exposta à venda, WESTHOFF & FELDSTEIN (106) afirmam terem encontrado diferenças significativas na qualidade microbiológica das carnes vendidas em casas de abate, estabelecimentos de processamento e casas varejistas. Segundo estes pesquisadores, as contagens microbianas mais altas foram obtidas em amostras adquiridas em casas varejistas. Em adição, SHOUP & OBLINGER (87) afirmam que as carnes preparadas tradicionalmente apresentam, geralmente, uma qualidade microbiológica inferior àquelas das operações centralizadas, onde o processo é quase todo automatizado.

Em alimentos que contêm carne moída como recheio ou em sua preparação básica, como é o caso de raviólis, esfihas, pizzas, pastéis, croquetes, "capelettis", a frequente presença de molho de tomate, modifica a acidez do produto, tornando-o mais ácido. Muito embora produtos contendo tomate não constituam, geralmente, fonte de microrganismos patogênicos, os ingredientes tais como as farinhas usadas na fabricação de massa, o queijo, e vários tipos de carnes, podem ser considerados como possíveis fontes de tais organismos (72), e segundo OSTOVAR & WARD (73), poucos relatos existem sobre a qualidade microbiológica dos produtos acima mencionados.

1.2.2.1. Microrganismos incriminados como responsáveis pela contaminação das carnes

1.2.2.1.1. Coliformes fecais - Escherichia coli

A ocorrência de contaminantes bacterianos nas carnes, tem uma variada origem, podendo provir tanto dos animais, como da água, dos operadores, ambiente e equipamentos. A exata origem destes contaminantes é de grande interesse epidemiológico e de saúde pública, e sua determinação tem sido objeto de exaustivos estudos por parte de pesquisadores de todo mundo.

A Escherichia coli tem sido usada como índice de contaminação fecal recente em águas de abastecimento e também, por analogia, como índice de contaminação em vários alimentos processados e não processados. Todavia, AYRES e HESS (apud 67) apresentam argumentos no sentido de que a E. coli tipo I (IMViC ++--) nem sempre indicaria contaminação fecal. Dentro desses argumentos ressaltam: a) E. coli pode sobreviver nos equipamentos e nas carcaças cruas, não indicando contaminação fecal direta ou recente; b) E. coli pode crescer em carnes cruas, indicando um inadequado controle de temperatura ao invés de um nível elevado de contaminação fecal; c) a mais provável fonte de E. coli sobre a carcaça animal é o contato desta com a pele durante sua limpeza.

Os coliformes pertencem aos gêneros que fermentam lactose com produção de gás dentro de 24 a 48 horas de incubação a 35°C. Foi inicialmente através desses organismos, na maioria habitantes do trato intestinal de animais de sangue quente, sugerido que todos os coliformes possuíam um igual grau de significação sanitária, e que sua presença na água resultaria de uma direta contaminação fecal ou poluição. Sobre este aspecto do problema existem inúmeros estudos e muita polêmica e, até hoje não se chegou a um real consenso (14).

A presença de coliformes nos alimentos, foi entretanto

proposta como indicadora de poluição fecal e daí como indicadora da possível presença de organismos patôgenos. Todavia, uma vez que os coliformes isolados provêm de numerosas fontes não fecais, sua presença em alguns alimentos não indica, necessariamente, contaminação fecal ou processamento em condições inadequadas do ponto de vista higiênico-sanitário. Como consequência, testes para coliformes fecais e não fecais têm sido largamente pesquisados e alguns destes adotados como indício mais preciso de poluição fecal (14).

A ocorrência de grande número de E. coli nos alimentos é considerada de importância higiênica porque, como já foi mencionado, ela pode indicar contaminação fecal e aumentar o risco de acompanhantes patógenos entéricos. Acresce ainda que algumas estirpes de E. coli são sabidamente enteropatogênicas e, desta forma, sua presença nos alimentos pode constituir risco potencial aos consumidores. A relevância da E. coli como um organismo indicador de poluição fecal em carnes frescas tem sido questionada por GOEPFERT & KIM (42), mas os níveis de E. coli são frequentemente usados como critérios de aceitabilidade em especificações em linhas de produção e em padrões alimentícios (107).

Embora exista um grande número de diferentes sorotipos no grupo da E. coli, relativamente poucos são associados com doenças no homem e nos animais. Entretanto, os sorotipos parecem ser hospedeiros muito específicos e aqueles encontrados em frequentes associações com doenças entéricas no homem não são comuns nos animais. Da mesma forma, os sorotipos comumente encontrados em infecções intestinais em suínos são raramente encontrados nos bovinos, ovinos e aves e não têm sido constatados no homem. A E. coli enteropatogênica associada com diarreia branca em bezerros e ovelhas também pare

ce ser específica, com exceção de algumas cepas que têm sido isoladas de casos de diarreia de bezerro assim como de casos de diarreia infantil (89).

Vários pesquisadores têm isolado E. coli tipos I e II de amostras de carne moída (75, 41, 40, 14), sendo que alimentos processados como quibes, hamburghueses e salsichas, analisados por REIS, VASCONCELOS & TRABULSI (79), no Brasil, apresentaram E. coli enterotoxigênica em 5,0; 7,5 e 10,0%, respectivamente, das amostras analisadas. Entretanto, o significado epidemiológico deste achado não pode ser comprovado, uma vez que os sorotipos envolvidos não foram ainda encontrados em associação com diarreia humana no local da incidência.

Quanto a correlação entre contagem global de bactérias em placas e presença de E. coli, GOEPFERT (41) analisando produtos de carne moída congelada ("patties"), não encontrou correlação entre estes dois parâmetros. Contrariamente a este último achado, MISKIMIN, BERKOWITZ, SOLBERG, RIHA Jr.; FRANKE, BUCHANAN & O'LEARY (60) afirmam ter encontrado correlação entre os níveis de E. coli e a contagem de microrganismos aeróbios em alimentos.

Em outro trabalho, GOEPFERT (40) verificou que a E. coli se encontra distribuída de forma heterogênea nos alimentos, e comentou o fato de que 36% das amostras por ele analisadas excederam o nível de 50 E. coli/g. Estas 36% amostras seriam consideradas fora do padrão legal do Estado de Oregon mas, no Estado de New York, por exemplo, estas mesmas amostras representariam 62% fora do padrão, visto seu conteúdo exceder o limite da legislação deste Estado que é de apenas 10 E. coli por grama. Ainda, segundo o mesmo autor, a presença de E. coli na carne não indica necessariamente a existência nesta de patógenos.

Do ponto de vista epidemiológico é importante conhecer-se a origem provável dos contaminantes e, segundo CHORDASH & INSALATA (14) tem-se feito esforços consideráveis para a determinação das características morfológicas, bioquímicas e fisiológicas de coliformes, coliformes fecais, estreptococos fecais, E. coli e E. coli enteropatogênica. Entretanto, ainda não existem informações definitivas sobre a ocorrência e significação precisa em saúde pública destes organismos bem como sobre o significado de sua presença em alimentos crus e/ou comercialmente processados.

1.2.2.1.2. Estreptococos fecais

Tendo em vista que a presença de E. coli não constitui prova suficiente para ser considerada como indicador fecal por excelência, tem-se procurado outros germes que melhor preencham esta finalidade. De acordo com CHORDASH & INSALATA (14), outro grupo de microrganismos que tem sido incriminado como indicador de contaminação fecal por falta de higiene na elaboração de alimentos é constituído pelos estreptococos fecais do grupo D de LANCEFIELD, também referidos como enterococos. Estes microrganismos são de origem intestinal e incluem as seguintes espécies: Streptococcus faecalis, Streptococcus faecalis var. liquefaciens, Streptococcus faecalis var. zymogenes; Streptococcus faecium e Streptococcus durans.

Os estreptococos fecais são tidos como mais resistentes que os coliformes e E. coli às condições adversas tais como refrigeração, congelamento, aquecimento e desidratação, e assim sendo parecem fornecer indicação mais segura de poluição fecal nos alimentos processados ou estocados, sob as mencionadas condições (14).

ALLEN & FABIAN (1), em um estudo comparativo entre E. coli e Streptococcus faecalis, encontraram uma forte correlação entre os níveis desses microrganismos, quando presentes.

Ainda, de acordo com CHORDASH & INSALATA (14), os estreptococos do grupo D de Lancefield, não têm sido envolvidos em doenças de origem alimentar podendo ser considerados como de pouca importância em saúde pública. OBLINGER (76) também concorda com o papel dos estreptococos, em geral, e afirma que devido à natureza resistente de muitos destes organismos, particularmente dos enterococos, eles são usados como indicadores para estimar a efetividade dos procedimentos habituais de poluição e como índice de qualidade microbiológica em geral.

DEIBEL, LAKE & NIVEN (17) mencionam a existência de duas espécies de enterococos isolados de diversas fontes, sendo uma Streptococcus faecalis e a outra Streptococcus faecium. De acordo com esses autores, o termo enterococos só deveria ser usado quando se referisse a Streptococcus faecalis e Streptococcus faecium e suas respectivas variedades.

1.2.2.1.3. Salmonella sp.

Em 1973, EDEL & GUINEE (20), revelaram que 75% dos casos de salmonelose no homem são causados por apenas três sorotipos, Salmonella typhimurium, 60%; Salmonella panama, 10% e Salmonella infantis, 6%. De acordo com aqueles autores, as salmonelas que contaminam os alimentos são as mais importantes fontes de infecção ao homem e os principais alimentos que transmitem estes microrganismos são de origem animal como carne e produtos cárneos, aves e ovos, e

ainda alimentos de origem vegetal como produtos derivados do côco.

Ainda de acordo com EDEL & GUINEE, a carne de porco constitui a mais importante fonte de infecção por salmonelas ao homem. Os suínos são infectados não apenas através da ração mas também pelo meio ambiente. A contaminação ainda é carregada pelos insetos, roedores, poeiras, pássaros ou homem. Estes animais apresentam-se geralmente com aparência clínica normal mas podem ser portadores regulares de salmonelas, embora em pequena quantidade. A infecção poderia ser evitada ou diminuída pelo uso de rações adequadas e através de medidas que previnam a contaminação ambiental.

Dados epidemiológicos de vários países indicam que as infecções por salmonelas em animais domésticos ainda são muito comuns. Neste sentido, STOLE pesquisou a ocorrência de salmonelas durante o abate de bovinos, e verificou que a incidência destas na linha de abate era originária dos próprios animais (94).

Vários pesquisadores têm isolado salmonelas de carne bovina e carne bovina moída (25, 33, 51, 88, 96, 97, 98 e 101), o que vem mostrar a importância deste alimento como possível veiculador destes agentes de infecção alimentar para o homem.

Segundo EDEL & GUINEE (20) as principais medidas a serem tomadas para prevenir a infecção no homem e nos animais por salmonelas são: 1) Reforçar as medidas de higiene nos abatedouros e plantas de processamento de carnes; 2) informar aos consumidores o perigo de ingerir carnes e produtos cárneos crus ou mal cozidos; 3) adequada higiene na cozinha; 4) medidas para impedir importação de alimentos e rações contaminadas e 5) a mais importante medida é a prevenção da contaminação de carne e produtos cárneos pela prevenção da infecção nos animais.

1.2.2.1.4. Clostridium perfringens

Alimentos acondicionados em altas temperaturas ambientais (25-40°C), ou carcaças de grandes animais que morrem sob condições naturais, são levados ao processo tradicionalmente conhecido como de putrefação, devido à ação de várias enzimas e ao desenvolvimento de populações bacterianas diversas. Em poucas horas, após a morte, antes que as condições de redução em termos de oxigênio, sejam totalmente estabelecidas nos músculos, existe oportunidade para a multiplicação bacteriana, ou seja, para as bactérias aeróbias e anaeróbias facultativas se desenvolverem. Como resultado das mudanças bioquímicas no interior do músculo, existe porém uma constante queda do potencial de oxido-redução, alcançando um nível no qual somente anaeróbios estritos tenham condições de multiplicar-se (50).

Ainda em condições ambientais de temperaturas elevadas, a primeira espécie a se desenvolver, em grande número é, costumeiramente, o Clostridium perfringens, talvez por constituir uma das espécies anaeróbias menos sensíveis à tensão em oxigênio. Esta espécie desenvolve-se com utilização dos açúcares da carne (glucose, ribose e seus derivados), podendo utilizar também substâncias outras como glicogênio e lactato. Quando as células vegetativas se multiplicam até alcançarem uma densidade aproximada de 10^8 por grama do tecido, uma notável produção de gás se inicia podendo, às vezes, ser causa de uma crepitação claramente perceptível. O tecido torna-se leve e esponjoso com parcial rotura de suas fibras pela formação de gás, devido talvez a alguma quebra anterior de proteínas pela ação de enzimas bacterianas de alto peso molecular. A coloração do músculo muda de vermelho-púrpura para acinzentado, por mecanismo cuja natureza

za não é ainda conhecida. Neste estágio, não existe ainda particularmente o cheiro ofensivo e nenhum esporo se encontra presente de modo que se a carne for bem cozida, ela se tornará estéril, podendo ser ingerida seguramente e sem aversões particulares. As mudanças acima apontadas lembram, até certo ponto, aquelas causadas no tecido do animal vivo pela gangrena gasosa, na qual C. perfringens é, naturalmente, o principal organismo responsável (50).

REY, WALKER & ROHRBAUGH (80) afirmam que a temperatura de cozimento poderá matar as células vegetativas de C. perfringens mas também poderá causar uma ativação de qualquer esporo acaso presente no alimento. Durante o resfriamento em, condições inadequadas, de grande quantidade de alimentos cozidos, como acontece em cozinhas institucionais, o alimento é exposto a um gradiente de temperaturas que pode conduzir a uma rápida multiplicação dos esporos anteriormente ativados pelo calor.

De acordo com HAUSCHILD (47) os alimentos implicados em toxinfecções por C. perfringens não tiveram, normalmente, um tratamento adequado, ou seja, foram deixados para resfriar lentamente a temperatura ambiente ou, em grandes porções, mesmo em refrigerador; foram estocados sob refrigeração inadequada, ou então mantidos quentes por algumas horas apenas abaixo de 55°C (131°F). Estas condições permitem ao C. perfringens multiplicar-se a uma concentração crítica por volta de 10^6 células por grama de carne, concentração esta situada no limiar da periculosidade. Ainda de acordo com HAUSCHILD, o desenvolvimento de C. perfringens tipo A em alimentos parece ocorrer na seguinte sequência: (a) Ingestão do alimento contaminado com $10^6 - 10^7$ células vegetativas de C. perfringens por grama; (b) multiplicação e esporulação do C. perfringens no intesti

no delgado; (c) produção de enterotoxina nas células esporuladas; (d) liberação de toxinas por lise celular; (e) acúmulo de fluido no lúmen intestinal causada pela enterotoxina, cuja maneira de ação ainda precisa ser investigada e (f) diarréia resultante do excesso de fluido acumulado.

1.2.2.1.5. Staphylococcus aureus

É sabido que este microrganismo tem sido o mais frequentemente incriminado como causador de toxinfecção alimentar no homem (68) e a presença de estafilococos coagulase-positivos nos alimentos, em geral, representa um risco potencial, não obstante nem todos os estafilococos coagulase-positivos serem, comprovadamente, produtores de enterotoxina.

RAYMAN (78) afirma que a toxinfecção por estafilococos representa um dos maiores problemas na indústria de alimentos. Segundo este autor, dados obtidos pelo "Center of Disease Control", Atlanta (E.U.A.), mostram que o agente etiológico conhecido como sendo o maior e mais frequente causador de toxinfecção nos Estados Unidos, é o Staphylococcus aureus. A doença ocorre quando um indivíduo susceptível ingere a enterotoxina previamente produzida pelo microrganismo, em doses suficientes para desencadear os sintomas clássicos e já conhecidos de toxinfecção alimentar. Ainda de acordo com RAYMAN, é estimado que por volta de 50% da população humana abriga Staphylococcus aureus nas fossas nasais, na gargante e/ou pele, sendo desse modo difícil evitar-se a contaminação dos alimentos por este microrganismo. É ainda estimado que uma população de aproximadamente um milhão de células deste germe por grama de alimento seja

necessária para produzir enterotoxina suficiente para desencadear os sintomas da toxinfecção. Todavia, se esse nível de contaminação não for encontrado no alimento, não se deve acreditar sempre na boa qualidade deste, uma vez que, mesmo baixos níveis de contaminação inicial podem dar origem a um milhão de células dentro de três a cinco horas, se condições favoráveis à multiplicação do organismo forem oferecidas.

Em se tratando de alimentos congelados, OSTOVAR & BREMIER (72) verificaram que o modo de descongelar os alimentos tem efeito significativo sobre o número de Staphylococcus aureus, naturalmente presente. Análises efetuadas pelos pesquisadores acima citados sobre pastéis de carne, pastéis de frango e outros alimentos, mostraram que o descongelamento destes produtos a temperatura ambiente por 12 horas, resultou em um aumento de dois ciclos logarítmicos na população de Staphylococcus aureus previamente existente. Outros pesquisadores, como OSTOVAR & WARD (73) observaram, entretanto que o descongelamento de alimentos a temperaturas ambientes por 12 horas poderia resultar tanto em um aumento substancial como em uma redução da população do Staphylococcus aureus. Esta disparidade de opiniões poderia ser atribuída à natureza dos ingredientes usados na preparação dos alimentos. A presença, por exemplo, de molho de tomate nestes alimentos (pizzas, lasanhas e raviólis) certamente teria influência na inibição do crescimento e possivelmente poderia mesmo destruir as células de Staphylococcus aureus dado o baixo pH desse ingrediente.

1.2.2.1.6. Bacillus cereus

Segundo MOSSEL, KOOPMAN & JONGERIUS (61), Bacillus cereus também tem sido incriminado como agente causador de toxinfecção alimentar. Os principais alimentos envolvidos são: purê de batatas, carne moída, pasta de fígado, pratos de arroz na Indonésia, pudins e sopas. Ainda de acordo com estes pesquisadores, os alimentos implicados nestas toxinfecções alimentares apresentam geralmente um grande número de células viáveis de Bacillus cereus.

KIM, & GOEPFERT (53) afirmam que até 1970 não existia nem um simples relato bem documentado sobre a ocorrência de toxinfecção alimentar por B. cereus nos Estados Unidos. Todavia, em virtude da alta taxa de frequência do microrganismo na Hungria, por exemplo, é provável que a não constatação deste germe em epidemias nos Estados Unidos e na Inglaterra, seja reflexo da falta de atenção ou falta de cuidados nas pesquisas e exames dos alimentos suspeitos, e não propriamente pela ausência ou não ocorrência deste nos casos relatados.

De acordo com FRAZIER (29), o Bacillus cereus é incriminado como agente de toxinfecção alimentar pelo fato de produzir toxinas, provocando sintomas similares àqueles observados na toxinfecção por C. perfringens. Acresce ainda que os esporos deste microrganismo são resistentes ao calor, a maneira como o são aqueles do C. perfringens.

Segundo GOEPFERT, SPIRA & KIM (43), durante o período de 1936 a 1943, 117 de 367 casos de toxinfecção alimentar investigados pelo "Stockolm Board of Health" foram suspeitos de serem causados por aeróbios formadores de esporos. Os alimentos mais comumente en

volvidos foram carne bovina ou suína, salsichas e bolinhos de carne. Carne e produtos cárneos foram relatados como os maiores veiculadores da intoxicação por Bacillus cereus. Ainda, de acordo com os autores, um dos mais importantes aspectos das propriedades bioquímicas do B. cereus é a síntese e excreção de certas toxinas. Pelo menos três importantes toxinas extracelulares são produzidas pelo B. cereus.

A produção de lecitinase pelo B. cereus foi constatada por McGAUCHEY & CHU em 1948. Acresce ainda que filtrados de cultura de B. cereus também possuem atividade hemolítica dermonecrótica e letal para camundongos. A toxina letal do B. cereus difere consideravelmente da toxina formada pelo Bacillus anthracis não somente pelo fato da lesão na pele resultante de inoculação intradérmica ser diferente, mas porque a toxina do B. cereus é rapidamente letal para os camundongos (injeção intravenosa), enquanto a toxina do B. anthracis não tem efeito por esta via (apud 43).

A literatura apresenta um grande número de confusões e má interpretação em relação à taxonomia do gênero Bacillus. Muitos autores identificam culturas isoladas como sendo Bacillus subtilis, porém as suas descrições lembram mais aquelas do Bacillus cereus e de acordo com GOEPFERT et al. (43), isolados descritos como "anthracoid" ou "anthrax-like" podem também ser considerados como Bacillus cereus.

1.2.2.1.7. Fungos e Leveduras

De um modo geral, os fungos, em condições adequadas, podem crescer na superfície da carne, produzindo um limo superficial, lipólise, mau cheiro e sabor alterado. As espécies importantes no

caso, seriam aquelas dos gêneros Cladosporium, Sporotrichium, Oospora (Geotrichum), Thamnidium, Mucor, Penicillium, Alternaria e Monilia. Leveduras normalmente asporógenas, também podem estar presentes (29, 54, 55).

SPICHER (apud 92), discute a importância dos fungos como produtores de micotoxinas em gêneros alimentícios incluindo cereais e produtos de cereais, e afirma que a flora principal consiste de membro do gênero Aspergillus, bem como Penicillium, Cladosporium, Mucor e Spicaria.

De acordo com WALBEEK (104), as aflatoxinas são produzidas principalmente por estirpes de Aspergillus flavus que ocorrem frequentemente e são abundantes na natureza. Estes metabólitos tóxicos foram descobertos em um componente do amendoim usado em ração animal.

Um trabalho apresentado por EIROA, LEITÃO & LEITÃO (22) relata a existência de bolores em massas refrigeradas como raviolis, pizzas e pastéis, e como principais responsáveis isolaram as espécies de Penicillium e Aspergillus niger.

Acresce que muitos produtos cárneos que sofrem processo de cura por prazo relativamente longo como é o caso dos salames, são com o correr do processo de maturação, recobertos por uma flora mista de fungos cuja ação é ainda mal conhecida. Não se sabe ao certo, até o presente, qual a verdadeira ação dessa flora mista sobre o sabor dos produtos finais e, muito menos, sobre sua ação como possíveis produtores de micotoxinas.

1.2.2.1.8. Microrganismos Lipolíticos

Os lípides representados pelos triglicerídios, constituem em parte importante da composição e formulação dos alimentos. Eles requerem atenção devido ao possível aparecimento de odores desagradáveis provindos da deterioração causada, entre outros, pelas enzimas lipolíticas, intrínsecas ou bacterianas. Mesmo quando as lipases provêm de certos ingredientes ou se encontram no interior de certos alimentos, é sabido que o microrganismos, como certas bactérias em particular, constituem uma fonte importante destas enzimas e sabe-se que em preparações com carne suína, as bactérias Gram-positivas, especialmente do gênero Bacillus e estreptococos fecais, revelam uma ação lipolítica de grande importância, o que geralmente é negligenciado (63).

FRYER, LAWRENCE & REITER (31) afirmam que os microrganismos lipolíticos desempenham um papel muito importante na maturação de queijos e também na deterioração de produtos originados do leite. O mesmo se aplica no que respeita à maturação e deterioração lipolítica de produtos cárneos curados.

Segundo ANDERSON (2) a produção de lipase por representantes do gênero Pseudomonas, que é a flora dominante em alimentos refrigerados, não está bem correlacionada ao número de microrganismos presentes em alimentos. De acordo ainda com este pesquisador, a estocagem sob condições de refrigeração é aceita universalmente como um método para prolongar a vida útil dos alimentos, mas um fator limitante de tal prática é a presença de bactérias psicotróficas, onde o gênero Pseudomonas é o mais comumente incriminado. Espécies deste gênero, além de causarem deterioração em certos alimentos, ain

da têm a característica de elaborar lipases que, com o correr do tempo, mesmo em baixas temperaturas, acabam por afetar os lipídios componentes desses alimentos e, assim, tornando-os impróprios ao consumo.

As condições ótimas para a produção das lipases diferem daquelas exigidas para o crescimento bacteriano. A temperatura ótima de produção destas enzimas é geralmente mais baixa que aquela requerida pelo crescimento microbiano, não havendo, pois, relação entre o crescimento celular e a produção das enzimas (2).

A deterioração de alimentos congelados é frequentemente atribuída a reações enzimáticas causadas por enzimas como invertases, proteases e lipases, que podem ser secretadas por microrganismos antes do congelamento do alimento. Estas enzimas ainda podem estar ativas em alimentos congelados mesmo que os microrganismos estejam latentes. Microrganismos como Pseudomonas fragi, Staphylococcus aureus, Geotrichum candidum, Candida lipolytica, Penicillium roqueforti e Penicillium sp. têm sido mencionados como produtores de lipase ativa a -7° , -18° e mesmo -29°C (apud 2).

Ainda ANDERSON afirma que as temperaturas ótimas para o crescimento bacteriano e produção de lipase são 20° e 8°C respectivamente, e que a lipase é ativa a temperaturas abaixo de zero graus onde a formação de gelo diminui a atividade de água, não sendo portanto surpresa que a lipase seja também ativa em alimentos desidratados. Ainda, a pasteurização ou mesmo processos de esterilização antes da estocagem dos alimentos eliminariam as bactérias enquanto as lipases resistentes ao calor, produzidas previamente por estas bactérias, permaneceriam ativas. Desse modo, a lipase produzida pelo Pseudomonas fluorescens pode causar mudanças na qualidade de alimen

tos gordurosos durante resfriamento prolongado ou mesmo desidratação.

Diante do exposto, pode-se perceber a grande importância da flora lipolítica na conservação e guarda de alimentos carnes, mesmo sob condições de refrigeração e, principalmente daquele que contém substancial quantidade de gorduras.

1.2.2.2. Dados Epidemiológicos sobre toxinfecções por produtos carnes moídos.

O uso de aparas de carne bovina maturada ou não, aparas da desossa e a moagem desta, especialmente em áreas não refrigeradas, resulta em uma alta população bacteriana na massa final. A refrigeração é economicamente vantajosa e aconselhável do ponto de vista higiênico-sanitário, mas muitas espécies de bactérias da carne crescem nesta temperatura elaborando enzimas prejudiciais aos produtos. Para minimizar o crescimento bacteriano em carne moída, esta deve ser mantida em temperaturas de -19 a +19°C até o momento de ser consumida ou de outra forma processada. Para estocagem por maiores períodos de tempo, esta deve ser congelada o que levará, naturalmente, ao aumento do custo desta operação (76).

Bactérias e parasitas capazes de causar doenças no homem podem estar presentes, natural ou acidentalmente na carne bovina. Algumas destas não são facilmente detectáveis pelos métodos usados durante a inspeção sanitária rotineira e/ou durante as várias fases do processamento. Tais organismos são parcial ou totalmente inibidos em produtos que são adequadamente refrigerados, sendo destruídos pelo cozimento por volta de 70°C (76).

Recente estudo de dados epidemiológicos denota que a carne bovina processada adequadamente pelo calor não é responsabilizada por toxinfecções alimentares, a menos que a mesma não seja devidamente tratada ou protegida pelo frio e embalagem contra contaminações após o cozimento. Todavia, o consumo de carne moída crua ou mal cozida tem resultado em surtos de toxoplasmose e salmonelose, não sendo recomendada por autoridades competentes em saúde pública (76). No entanto, segundo EMSWILER et al. (23), o "Center for disease Control", (CDC), Atlanta, tem relatado que a carne bovina moída é raramente incriminada em surtos de toxinfecção alimentar, mesmo quando patógenos como estafilococos coagulase-positivos e Clostridium perfringens tenham sido dela isolados. Esta afirmativa contraria frontalmente conceitos de outros pesquisadores com opinião precisamente oposta. Ainda, GOEPFERT & KIM (42) concluíram que mesmo quando a carne moída é tratada de forma inadequada, os patógenos presentes podem não se multiplicar devido à presença de microrganismos deteriorativos competitivos. Segundo um trabalho apresentado por FONTAINE, ARNON, MARTIN, VERNON Jr., GANGAROSA, FARMER III, MORAN, SILLIKER & DECKER (26), o "Center for Disease Control" relatou recentemente a ocorrência de toxinfecção alimentar, provocada pela ingestão de hamburghueses crus ou mal cozidos, onde Salmonella newport foi o microrganismo responsável, fato que lança confusão e contradição sobre este problema.

HAUSCHILD (47) menciona que em contraste às doenças causadas por Clostridium perfringens tipo C, a toxinfecção causada pelo Clostridium perfringens tipo A, é relativamente moderada. Entretanto, é uma das formas bacterianas mais frequentes de toxinfecção no homem. Casos letais resultantes da doença são raros e os alimen

tos mais comumente incriminados são a carne bovina processada, aves, guisado e pastéis de carne. Ainda, segundo SERRANO (85), tendo ocorrido uma intoxicação alimentar no Brasil, num refeitório, o inquérito revelou que 88,2% das pessoas envolvidas tiveram diarreia; 74,2% dores abdominais; 16,1%, tonturas; 14% , prostração ; 9,7%, náuseas 8,6%, vômitos; 6,5%, febre. O alimento mais suspeito de ter causado a intoxicação foi uma maionese, cujos principais componentes eram corvina e batata.

MUELLER (64) refere um estudo sobre toxinfecção nos Estados Unidos, no ano de 1972, que apontou o Staphylococcus aureus como sendo responsável por 32,5% dos casos confirmados; Clostridium perfringens por 16,2% e Salmonella sp. por 31,4%. Segundo GANGAROSA & HUGHES (34), desde 1967, o primeiro ano de inspeção sistemática de toxinfecção alimentar pelo "CDC", até 1975, 2.211 surtos de toxinfecção foram detectados, nos quais o veículo de transmissão foi identificado. Setenta e oito (3,5%) destes 2.211 surtos foram causados pela carne bovina moída e os agentes etiológicos foram identificados em 18 destes casos. Salmonella e C. perfringens causaram 7 surtos cada um; os outros 4 foram causados por B. cereus e Clostridium botulinum. Uma das toxinfecções por C. botulinum foi causada pela ingestão de bolinhos de carne ("meat balls") em molho de espaguete, preparados em cozinha de restaurante. Uma outra toxinfecção foi causada pela ingestão de carne moída crua contaminada com Salmonella newport , também obtida de estabelecimento comercial. Ainda, onze (0,5%) dos 2.211 surtos, foram causados pela enterotoxina do Staphylococcus aureus e Salmonella anatum.

Não obstante as opiniões conflitantes frequentemente observadas na conclusão de diferentes pesquisadores no que concerne

ao papel da temperatura de estocagem bem como da presença de contaminantes, vê-se que a carne moída é alimento frequentemente incriminado como causador de toxinfecção alimentar no homem, devendo merecer mais estudos e cuidados e tratamento tecnológico diferenciado pelos estabelecimentos produtores bem como por parte daqueles responsáveis pela saúde pública.

Acresce ainda que nem toda contaminação microbiana se traduz por iminência de doenças ao homem havendo os tipos que, não obstante serem inócuos ao ingestor trazem prejuízos materiais, visto provocarem deteriorações irreversíveis nos produtos finais. É este duplo aspecto do problema que deve preocupar o pesquisador sendo difícil afirmar qual deles é o mais importante.

1.2.2.3. Necessidade de Padrões Microbiológicos

Um fator que vem assumindo importância cada vez maior no terreno da higiene alimentar é o "quantum" das espécies mais comuns devem ou podem ser toleradas em alimentos tais como carnes e derivados. As opiniões de vários pesquisadores são frequentemente discrepantes a respeito deste assunto. Assim é que VILLAR, MARTEACHE & LORA (102) estudando a qualidade microbiológica de pratos alimentícios pré-cozidos-congelados, como croquetes de frango, croquetes de pernil, pastéis de carne bovina, pastéis de frango e almôndegas, concluíram que estes alimentos apresentavam uma deficiência geral na qualidade microbiológica, acrescentando, porém, que os padrões espanhóis para tais alimentos eram excessivamente rígidos, com relação à contagem total de organismos viáveis - 100.000 colônias por grama de alimento.

Em se tratando de pastéis de carne, STEPHENS (93) é da opinião que os padrões microbiológicos devem ser mantidos, e os critérios usados devem ser os de uma baixa contagem total e ausência de patógenos. Ainda de acordo com este pesquisador, os estreptococos fecais, embora não ofereçam, necessariamente, perigo por ingestão, exceto quando em grande número, seriam bons indicadores de falta de higiene no processamento ou cozimento inadequado devido à sua maior tolerância ao calor e outros fatores adversos.

BURZYNSKA, FRASUNFIEWICZ & JEDRZEWSKA (apud 10) sugerem como padrões microbiológicos para carne moída, uma contagem total, a 30°C, menor ou igual a 1.000.000 de microrganismos por grama; Proteus sp. menor ou igual a 100 por g.; coliformes toleráveis em 0,001g.; anaeróbios formadores de esporos e estafilococos coagulase positivos ausentes em 0,1g. e Salmonella e Shigella ausentes em 5g.

MILEV & KOVACHEN (apud 59) com base em relatos sobre a microflora originalmente presente na carne moída, sugerem os seguintes padrões: E. coli ausentes em 0,001g.; Proteus sp. ausentes em 0,001g.; Staphylococcus aureus em 0,01g.; C. perfringens em 0,01g.; Bacillus cereus em 0,001g.; e enterococos em 0,01g.; contagem total menor ou igual a 500.000 microrganismos por grama.

No Brasil, em julho de 1978, a COMISSÃO NACIONAL DE NORMAS E PADRÕES PARA ALIMENTOS, do Ministério da Saúde, através da resolução nº 13/78 (15) estabeleceu os padrões para alimentos. Com relação à carne e produtos cárneos, foi estipulado que "as carnes expostas à venda devem apresentar-se livres de parasitas e de qualquer substância contaminante que possa alterá-la ou encobrir alguma alteração. A carne bovina, quando moída, deve conter no máximo 10% de gordura, ser isenta de cartilagens, de ossos e conter no máximo

3% de aponevroses". Ainda, as carnes cruas (frescas, refrigeradas ou congeladas, inclusive miúdos, carne moída e carnes preparadas cruas) deverão obedecer ao seguinte padrão: Contagem padrão em placas, máximo de 3×10^6 /g; bactérias do grupo coliforme de origem fecal, máximo de 3×10^2 /g e Clostridium sulfito redutores (44°C), máximo de 2×10 /g. Para produtos cárneos inclui-se o limite para Staphylococcus aureus de no máximo 10^3 /g.

No intuito de se estabelecerem padrões microbiológicos para alimentos, NORTHOLT & SCHOTHORST (apud 70) e ROELOFSEN, TAMINGA & KAMPELMACHER (apud 83), citam que é também necessário levar em consideração o tempo de aquecimento usado no preparo de almôndegas, pastéis de carne, e outros produtos similares, face o efeito do teor de gordura na retenção de calor pelo produto, o que em última análise, contribuirá numa maior segurança da destruição de germes pelo calor.

Ainda de acordo com WINSLOW (107) os padrões estabelecidos para carne fresca no varejo no Estado de Oregon (EUA) são: contagem de microrganismos aeróbios, menor ou igual a 5.000.000/g e E. coli (NMP) não mais que 50/g e para carnes processadas, a contagem de aeróbios não deve ser maior que 1.000.000/g e E. coli não superior a 10/g. Tais padrões, porém, não poderiam ser mantidos no dia a dia, mesmo em laboratório, onde cuidados especiais sejam dispensados à carne. Daí o autor deduzir que, a indústria não teria condições, no momento, de cumprir com estes padrões. Nestas condições, o Estado de Oregon poderá vir a ter dificuldades na manutenção e obediência a padrões tão rígidos.

CARL (11) também discute os padrões microbiológicos estabelecidos no Estado de Oregon e afirma que embora os meses de tem

peratura mais elevada tenham um efeito significativo sobre a flora microbiana, a maioria dos produtos oferecidos à venda, apresentou uma melhora considerável na qualidade microbiológica durante os 12 meses de estudo e inspeção e, desse modo, os padrões sugeridos estariam dentro das possibilidades do varejo, desde que mantidas as condições de higiene e temperatura adequadas.

Segundo GOEPFERT & KIM (42), pesquisas têm demonstrado que os microrganismos da toxinfecção alimentar são incapazes de competir efetivamente com a flora natural da carne bovina moída crua sob uma grande faixa de temperaturas de refrigeração. Ainda de acordo com os mesmos autores, não existem evidências na literatura científica, que provem uma correlação entre a contagem total aeróbia em placas e níveis de E. coli em carne moída crua e o potencial daquele material para causar toxinfecção.

Já SHOUP & OBLINGER (87) afirmam que o frequente uso da contagem total como medida indicadora de higiene e qualidade é inefetivo e portanto de valor limitado, uma vez que altos números de aeróbios viáveis não indicam, necessariamente, um perigo potencial de organismos patogênicos, e nem sempre refletem precárias condições de higiene. Além disso, a contagem total em placas não é bem correlacionada com a deterioração, especialmente quando se considera que as alterações de um alimento pode provir da multiplicação já existentes ou da presença prévia de grandes números de contaminantes.

GOEPFERT (40) discute a inclusão de um limite para o número de E. coli nos alimentos, alegando que o microrganismo não se encontra distribuído uniformemente no produto e, devido a isto, uma amostra não é representativa de uma quantidade maior do produto. A

imprecisão da análise e a falta de homogenização na distribuição bacteriana é a razão suficiente para reconsiderar a inclusão de E. coli entre aqueles microrganismos para os quais existem limites fixos de contagem.

PIVNICK et al. (76) sugerem o uso de padrões específicos pela "International Commission on Microbiological Specifications for Foods" (ICMSF) do Canadá: Contagem de colônias aeróbias a 35°C menor ou igual a 10^7 para produtos não congelados, e menor ou igual a 10^6 para produtos congelados; E. coli menor ou igual a 10^2 ; Staphylococcus aureus menor ou igual a 10^2 e Salmonelas ausentes em porções de 25g.

Por último, entre os muitos pesquisadores que se dedicaram a este assunto, SOLBERG, MISKIMIN, MARTIN, PAGE, GOLDNER & LIBFELD (89) afirmam que todos os organismos indicadores de contaminação são razoavelmente bem correlacionados entre si e com o número de C. perfringens, mas não com outros germes patogênicos acaso encontrados em carne bovina fresca. Por outro lado em se tratando de alimentos "prontos para servir", existe uma boa correlação entre coliformes e Staphylococcus aureus, coliformes e C. perfringens, E. coli e Staphylococcus aureus e E. coli e C. perfringens. Os mesmos pesquisadores concluem que embora os testes indicativos da presença de contaminantes pareçam ser mais significativos em relação a alimentos "prontos para servir" do que em alimentos crus, eles ainda não oferecem medida de segurança, não importando qual o nível estabelecido como padrão.

Inferre-se dos estudos apresentados que, a avaliação de qualquer alimento com base nas suas características microbiológicas é tarefa extremamente delicada e requer grande soma de conhecimentos

e vivência com estes problemas, não sendo possível adotar conceitos generalizados ou rígidos por serem demasiadamente temerários.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Produtos Estudados

O material básico deste trabalho foi constituído por 70 amostras de alimentos contendo sempre carne moída na sua formulação. Estas foram coletadas em estabelecimentos varejistas na cidade de Campinas e arredores, entre 14/4/81 a 4/1/82. Destas, 40 eram constituídas de massas recheadas refrigeradas, na sua maioria, e algumas frescas ou super-geladas, e que foram obtidas em supermercados, casas de massas e/ou mercearias. As 30 amostras restantes eram de produutos cárneos congelados tendo sido obtidos em supermercados e casas de carne.

As 70 amostras acima mencionadas eram constituídas de sete diferentes produtos formando 7 lotes diferentes com 10 produtos cada um e que eram: pastéis de carne, raviólis, "capelettis" , croquetes, quibes, almôndegas e hamburgueres.

Pastéis de carne: Preparados com farinha de trigo, ovos ou não, contendo carne moída como recheio básico, temperos, condimentos e opcionalmente gordura animal, óleo, "pinga", conservador P IV (ácido sórbico) e que se encontravam, geralmente, refrigerados.

Raviólis: Preparação básica consistindo de farinha de trigo, ovos ou não, recheados com carne bovina moída, batatas opcionalmente, temperos e condimentos, e que foram obtidos refrigerados ou frescos.

"Capelettis": Preparados com farinha de trigo, ovos, recheio de carne bovina moída, temperos e condimentos e obtidos refrigerados ou frescos.

Croquetes de carne: Massa de farinha de trigo misturada com batata, carne moída, condimentos, temperos, pincelados com ovos e farinha de rosca opcionalmente, ou então recheados com carne bovina moída, temperos e condimentos, obtidos refrigerados ou congelados (super-gelados).

Quibes: Produtos a base de trigo amolecido misturado à carne bovina moída, condimentos e temperos, adquiridos congelados.

Almôndegas: Produtos a base de carne bovina moída misturada a farinha de rosca ou farinha de trigo e ovos opcionalmente, condimentos e temperos, e adquiridas congeladas.

Hamburgueres: Preparação básica consistindo de uma massa de carne moída com um pouco de farinha, temperos e condimentos e obtidos geralmente congelados.

2.2. Coleta de amostras

Conforme já mencionamos, as amostras dos produtos a base de carne moída foram adquiridas em diferentes estabelecimentos comerciais na cidade de Campinas entre os meses de abril de 1981 a janeiro de 1982. A maioria desses produtos ostentava nos seus rótulos as seguintes marcas comerciais: "Mezzani", "Bela Festa", "Terra Branca", "Pastifício Selmi", "Frangonete", "Pastitex", "Salgadinho Que Bambino", "Wilson", "Swift", "Eldoro", "Findus", "Sadia" e outras procedências não especificadas.

Todas as amostras apresentavam características organolépticas aparentemente normais quando adquiridas, assim como um bom estado de refrigeração ou congelamento, com exceção de 2 amostras; 1 de hamburguer e 1 de croquete que se apresentaram com odor já de

sagradável. O hamburguer não se encontrava em prateleira de refrigeração e não possuía embalagem adequada, ao passo que o croquete se encontrava em embalagem normal. Nosso primeiro impulso foi o de eliminar estas amostras de nossa pesquisa, todavia tendo em vista que, não obstante alterados, estavam expostos à venda, resolvemos aproveitá-los, já que poderiam ser adquiridos por qualquer consumidor me nos avisado e, assim serem consumidos.

Uma vez obtidas, as amostras eram transportadas para o laboratório da FEAA em caixa isotérmica provida de gelo, e mantidas sob refrigeração até o momento de análise. Este intervalo de tempo nunca ultrapassava 5 horas.

2.3. Equipamento

O equipamento por nós utilizado para as análises microbiológicas e que foi adaptado às nossas condições de trabalho, constou de:

- 1) Homogeneizador tipo caseiro, autoclavável;
- 2) jarra para anaerobiose de plástico rígido, e a cuja tampa se adaptaram duas torneiras do tipo usado em instalações de gás. Uma destas torneiras era destinada a tubulação conectada a bomba para obtenção de vácuo e outra destinada ao emprego de gases inertes-nitrogênio e anidrido carbônico;
- 3) autoclave vertical;
- 4) estufa para esterilização;
- 5) microscópio óptico binocular com aumento máximo de 1000 X;
- 6) contador de colônias;

7) potenciômetro;

8) luz ultra-violeta para esterilização do local de trabalho.

Além deste equipamento foram ainda utilizados: centrífuga, estufas comuns, banhos-maria, cilindros de aço fornecedores de nitrogênio e anidrido carbônico, balança analítica e demais materiais de uso corrente em laboratório.

Para as análises químicas utilizamos dessecatores com cloreto de cálcio anidro, balança analítica, potenciômetro, espectrofotômetro, centrífuga, banhos-maria, destilador e digestor de proteínas, extrator de Soxhlet para lipídios e outros materiais de uso comum em laboratório.

2.4. Análises Microbiológicas

2.4.1. Preparo das amostras

Para obtenção do recheio de carne moída de produtos tais como pastéis, raviólis e "capelettis", utilizamos colheres e espátulas previamente esterilizadas em autoclave a 121°C por 15 minutos. Onze gramas do recheio eram pesados assepticamente em placas de Petri estéreis e transferidos para o copo do homogeneizador também estéril e que já continha 99ml de água peptonada esterilizada (0,1% peptona, pH = 6,8 - 7,0) (7). O uso de apenas 11g e não 25g de amostra foi devido à pequena quantidade de carne moída contida nos produtos recheados.

Os produtos congelados foram descongelados a 5°C por 4 horas e a seguir em temperatura ambiente por mais 30 min., ou duran

te a noite no refrigerador. Os croquetes foram analisados inteiros devido a impossibilidade de separação de recheio.

Para a pesquisa de Salmonella sp., 11g das amostras foram inicialmente homogeneizados com 99ml de caldo lactosado, e incubados a 35°C por 24 horas, segundo F.D.A. (28).

2.4.2. Contagem de bactérias aeróbias a 35° e a 7°C

Quantidade de 1ml das diluições em água peptonada de 10^{-1} a 10^{-4} eram transferidas para placas de Petri estéreis, em duplicata, e a seguir o agar de contagem previamente resfriado a $\pm 45^{\circ}\text{C}$ era sobre estas vertido e então se procedia a homogeneização por movimento leve de rotação em ambos os sentidos. Placas contendo entre 30 e 300 colônias foram aproveitadas para o compute das colônias desenvolvidas, segundo a A.P.H.A. (5).

2.4.3. Contagem de coliformes fecais e Escherichia coli

Foi empregada a técnica do "Número Mais Provável", usando-se caldo lauryl-sulfato-triptose, inoculando tubos em triplicata de cada diluição e usando o agar Eosina-Azul-de Metileno de Levine para o isolamento das colônias típicas. Os testes de confirmação foram feitos pelas provas IMViC e pela incubação das amostras em caldo EC a 45°C (5 e 27).

2.4.4. Contagem de enterococos ou estreptococos fecais

Foi empregada a técnica do Número Mais Provável no meio

de Azida-dextrose, utilizando-se 3 tubos para cada diluição e a confirmação foi efetuada em Caldo-Etil-Violeta-Azida e, ainda, por observação microscópica da morfologia e propriedades tintoriais da flora presente (5).

2.4.5. Determinação de Clostridium perfringens

Por estarmos trabalhando com alimentos não suspeitos de conterem este microrganismo, optamos pelo enriquecimento prévio das amostras em Meio Fluido de Tioglicolato. O isolamento foi efetuado em agar Shahidi-Ferguson-perfringens contendo gema de ovo e os antiibióticos Kanamicina e Sulfato de polímixina-B. (86). O indicador de anaerobiose empregado foi o de azul de metileno em bicarbonato de sódio, sugerido por BAILEY & SCOTT (8) e a incubação das amostras em atmosfera contendo 90% de nitrogênio e 10% de CO₂, pela exaustão e substituição, por 3 vezes sucessivas e contínuas das jarras de anaerobiose. §

2.4.6. Contagem de microrganismos lipolíticos

Usamos a tributirina que foi preparada em nosso laboratório conforme o método de WEATHERBY, MEILVAINE & MATLIN (105). Ao meio sólido previamente esterilizado e resfriado a $\pm$ 45°C juntávamos a tributirina pasteurizada e a seguir procedíamos a homogeneização no copo do homogeneizador estéril até obtermos uma emulsão. Uma vez obtida a emulsão, esta era adicionada às placas já contendo as diluições a serem testadas quanto a presença de germes lipolíticos. A incubação foi feita a 35°C por 3 a 6 dias e a leitura dos resultados era fei

ta sobre as placas contendo entre 30 e 300 colônias apresentando halo claro de lipólise. (62).

2.4.7. Determinação de Salmonella sp.

Por não estarmos trabalhando com alimentos gordurosos , as amostras não foram sujeitas a ação de Tergitol aniônico, conforme recomendado pela "FOOD AND DRUG ADMINISTRATION". O enriquecimento das amostras provindas do caldo lactosado (pré-enriquecimento) foi efetuado em caldo selenito-cistina e o isolamento foi feito em agar verde-brilhante, agar-Salmonella-Shigella e agar-sulfito-bismuto. Colônias típicas foram repicadas para Tríplice-açúcar-ferro (TSI) após purificação e, aquelas supostamente positivas, foram testadas quanto a produção de urease em caldo uréia. Culturas negativas em caldo uréia foram consideradas como salmonelas(6 e 28).

2.3.8. Contagem de Bacillus cereus

O método de A.P.H.A. foi seguido a risca sem nenhuma modificação. Colônias típicas foram confirmadas microscopicamente pela coloração de esporos (6). O meio de isolamento usado foi o agar KG contendo gema de ovo e sulfato de polimixina-B.

2.4.9. Contagem de estafilococos coagulase-positivos

Inicialmente as diluições decimais das amostras eram distribuídas sobre a superfície de três placas contendo o meio de isolamento, agar Baird-Parker, conforme recomendado pela A.P.H.A. Esta

técnica foi porém abandonada devido ao grande volume de meio consumido, passando a usar-se inóculos de 0,1 ml em duplicata, como é usado em outros testes de semeadura em superfície (6).

As culturas isoladas e purificadas eram testadas quanto a produção de coagulase em plasma de carneiro citratado, diluído em água estéril na proporção de 1:1 (90).

2.4.10. Contagem de fungos e leveduras

Utilizamos as diluições em água peptonada já mencionadas no início deste capítulo que foram semeadas em agar batata-dextrose acidificado com ácido tântrico e as placas incubadas a temperatura ambiente. O local de incubação era previamente tratado por radiação ultra-violeta (6).

2.5. Análises Químicas

2.5.1. Preparo das amostras

Uma vez separadas as amostras para a análise microbiológica, as unidades restantes eram guardadas em refrigerador em continentes fechados ou então eram imediatamente pesadas e submetidas a secagem em estufa a 105°C, uma vez que as determinações de proteína e lipídios foram efetuadas sobre amostras secas. Para determinação de proteína as amostras secas eram trituradas e pesadas antes de serem submetidas à digestão. Para determinação de lipídios as amostras eram secas em placas de Petri contendo uma camada de areia prétratada e incinerada e estas mesmas amostras serviram para a determin

minação também da umidade. (4).

2.5.2. Determinação de umidade

De acordo com NORMAS ANALÍTICAS DO INSTITUTO "ADOLFO LUTZ" (69).

2.5.3. Determinação de proteína

Inicialmente conduzida conforme método proposto por TORTEN & WHITAKER (99). Tendo em vista porém que alguns valores por nós obtidos, não se encontravam dentro da faixa normal de valores conhecidos para proteína da carne, devido talvez à presença de carboidratos, optamos pelo método Semi-Micro Kjeldahl, conforme recomendação da A.O.A.C. (4).

2.5.4. Determinação de lipídios

De acordo com NORMAS ANALÍTICAS DO INSTITUTO "ADOLFO LUTZ" (69).

2.6. Determinação da Relação Massa - Recheio

Foi obtida através da relação entre o peso da massa resultante e o peso do recheio.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo no exame de 70 amostras de alimentos elaborados com carne bovina moída e seus achados mais importantes encontram-se apresentados nas 17 Tabelas anexas.

Nas Tabelas 1 a 7 encontram-se distribuídos, separadamente, os valores relativos às contagens dos microrganismos pesquisados por grama de recheio de pastéis, raviólis e "capelettis" e por grama dos produtos congelados bem como dos croquetes. Também o registro da possível presença de Salmonella sp. e Clostridium perfringens acha-se aí computado.

A Tabela de nº 8 apresenta a relação de alguns padrões microbiológicos existentes no Brasil e no exterior para carne bovina moída e produtos cárneos crus. A Tabela de nº 9 apresenta padrões microbiológicos adotados no exterior para pratos congelados - pré-cozidos contendo carne moída.

Nas tabelas de nº 10 a 12 encontram-se distribuídas, por classes, as contagens da flora microbiana pesquisada.

A Tabela 13 apresenta a distribuição da flora microbiana de possível risco à saúde do consumidor.

Na Tabela 14 encontra-se o resultado da análise química bem como a relação massa : recheio obtida das massas alimentícias estudadas.

Na Tabela 15 pode-se verificar a composição química centesimal dos produtos cárneos crus-congelados e dos croquetes.

A Tabela 16 apresenta os valores mínimos, máximos e médios dos principais componentes químicos presentes nos produtos estudados.

A Tabela 17 apresenta a relação umidade : proteína en
contrada nos produtos crús-congelados estudados.

TABELA 1: ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DO RECHEIO PRÉ-COZIDO DE PASTÉIS

Amostras Nº	Contagem/g de aeróbios a 35°C	Contagem/g de aeróbios a 7°C	Contagem de coli- formes fe- cais NMP/g	Contagem de <u>Escherichia</u> <u>coli</u> NMP/g	Contagem de enteroco- cos NMP/g	Contagem/g de estafi- lococos coa- gulase-posi- tivos	Contagem/g de <u>Bacillus</u> <u>cereus</u>	Contagem/g de lipolíticos	Contagem/g de Fungos e Leveduras	Presença de <u>Clostridium</u> <u>perfringens</u>	Presença Pre- suntiva de <u>Salmonella</u> sp.
1	5,00x10 ⁴	<3,00x10 ²	<3,00	<3,00	<3,00	* _____	*** _____	<3,00x10 ²	5,75x10 ²	_____	_____
2	3,40x10 ³	<3,00x10 ²	<3,00	<3,00	<3,00	_____	2,00x10 ³	<3,00x10 ²	2,93x10 ³	_____	_____
3	5,50x10 ⁴	<3,00x10 ²	<3,00	<3,00	<3,00	_____	3,00x10 ³	<3,00x10 ²	<3,00x10 ²	_____	** +
4	4,75x10 ²	<3,00x10 ²	<3,00	<3,00	<3,00	_____	1,50x10 ⁴	<3,00x10 ²	<3,00x10 ²	_____	_____
5	1,79x10 ⁴	<3,00x10 ²	<3,00	<3,00	<3,00	_____	2,63x10 ⁴	<3,00x10 ²	<3,00x10 ²	_____	_____
6	4,70x10 ⁴	<3,00x10 ²	<3,00	<3,00	<3,00	_____	_____	<3,00x10 ²	1,20x10 ³	_____	_____
7	7,90x10 ⁴	<3,00x10 ²	<3,00	<3,00	<3,00	_____	_____	<3,00x10 ²	5,40x10 ²	_____	_____
8	1,05x10 ⁵	<3,00x10 ²	<3,00	<3,00	<3,00	_____	_____	<3,00x10 ²	1,50x10 ³	_____	_____
9	1,04x10 ⁵	<3,00x10 ²	<3,00	<3,00	<3,00	_____	_____	<3,00x10 ²	2,30x10 ³	_____	_____
10	5,00x10 ³	<3,00x10 ²	<3,00	<3,00	<3,00	_____	_____	<3,00x10 ²	<3,00x10 ²	_____	_____

* Nenhum crescimento
 ** Crescimento positivo
 *** Contagem prejudicada
 NMP Número mais provável

TABELA 2: ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DO RECHEIO PRÉ-COZIDO DE RAVIÓLIS

Análises Amostras Nº	Contagem/g de aeróbios a 35°C	Contagem/g de aeróbios a 7°C	Contagem de Coli- formes fe- cais NMP/g	Contagem de Escherichia coli NMP/g	Contagem de ente- rococos NMP/g	Contagem/g de estafilo- cocos coagu- los-positi- vos	Contagem/g de Bacillus cereus	Contagem/g de lipolíticos	Contagem/g de Fungos e Leveduras	Presença de Clostridium perfringens	Presença pre- suntiva de Salmonella sp.
1	$2,25 \times 10^4$	$<3,00 \times 10^2$	$<3,00$	$<3,00$	$<3,00$	* _____	$1,70 \times 10^2$	$3,60 \times 10^4$	$<3,00 \times 10^2$	_____	_____
2	$>3,00 \times 10^6$	$<3,00 \times 10^2$	$1,100 \times 10^3$	$2,40 \times 10^2$	$<3,00$	_____	_____	$<3,00 \times 10^2$	$3,57 \times 10^4$	_____	_____
3	$5,00 \times 10^2$	$<3,00 \times 10^2$	$<3,00$	$<3,00$	$<3,00$	_____	$1,25 \times 10^2$	$<3,00 \times 10^2$	$<3,00 \times 10^2$	_____	_____
4	$<3,00 \times 10^2$	$<3,00 \times 10^2$	$<3,00$	$<3,00$	$<3,00$	_____	$1,00 \times 10^1$	$<3,00 \times 10^2$	$<3,00 \times 10^2$	_____	_____
5	$3,12 \times 10^4$	$<3,00 \times 10^2$	$<3,00$	$<3,00$	$<3,00$	_____	$5,98 \times 10^3$	$<3,00 \times 10^2$	$<3,00 \times 10^2$	_____	_____
6	$5,00 \times 10^2$	$<3,00 \times 10^2$	$<3,00$	$<3,00$	$<3,00$	_____	_____	$<3,00 \times 10^2$	$<3,00 \times 10^2$	_____	_____
7	$<3,00 \times 10^2$	$<3,00 \times 10^2$	$<3,00$	$<3,00$	$<3,00$	$2,00 \times 10^2$	_____	$<3,00 \times 10^2$	$<3,00 \times 10^2$	_____	_____
8	$>3,00 \times 10^6$	$>3,00 \times 10^6$	$<3,00$	$<3,00$	$<3,00$	_____	$7,90 \times 10^5$	$>3,00 \times 10^6$	$>3,00 \times 10^6$	_____	_____
9	$>3,00 \times 10^6$	$>3,00 \times 10^6$	$<3,00$	$<3,00$	$<3,00$	_____	_____	$9,10 \times 10^3$	$>3,00 \times 10^6$	_____	_____
10	$5,00 \times 10^2$	$<3,00 \times 10^2$	$<3,00$	$<3,00$	$<3,00$	_____	_____	$<3,00 \times 10^2$	$<3,00 \times 10^2$	_____	_____

* Nenhum crescimento

NMP Número mais provável

TABELA 3: ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DO RECHEIO PRÉ-COZIDO DE "CAPELETTIS"

Análises Amostras No	Contagem/g de aeróbios a 35°C	Contagem/g de aeróbios a 7°C	Contagem de colifor- mes fecais NMP/g	Contagem de <u>Escherichia</u> <u>coli</u> NMP/g	Contagem de entero- cocos NMP/g	Contagem/g de estafilo- cocos coagu- lase positi- vos	Contagem de <u>Bacillus</u> <u>Cereus</u>	Contagem/g de lipolíticos	Contagem/g de fungos e leveduras	Presença de <u>Clostridium</u> <u>perfringens</u>	Presença pre- suntiva de <u>Salmonella</u> Sp.
1	$2,10 \times 10^3$	$6,00 \times 10^4$	<3,00	<3,00	<3,00	* _____	$3,60 \times 10^3$	$2,15 \times 10^3$	$<3,00 \times 10^2$	_____	_____
2	$4,20 \times 10^2$	$<3,00 \times 10^2$	<3,00	<3,00	<3,00	_____	_____	$<3,00 \times 10^2$	$<3,00 \times 10^2$	_____	_____
3	$>3,00 \times 10^6$	$>3,00 \times 10^6$	<3,00	<3,00	4,00	$3,00 \times 10^1$	_____	$2,67 \times 10^5$	$>3,00 \times 10^6$	** +	_____
4	$<3,00 \times 10^2$	$<3,00 \times 10^2$	<3,00	<3,00	<3,00	_____	$5,50 \times 10^2$	$<3,00 \times 10^2$	$<3,00 \times 10^2$	_____	_____
5	$3,90 \times 10^5$	$1,45 \times 10^3$	<3,00	<3,00	23,00	_____	$5,30 \times 10^4$	$3,00 \times 10^3$	$<3,00 \times 10^2$	_____	_____
6	$<3,00 \times 10^2$	$<3,00 \times 10^2$	<3,00	<3,00	<3,00	_____	$1,50 \times 10^2$	$<3,00 \times 10^2$	$<3,00 \times 10^2$	_____	_____
7	$<3,00 \times 10^2$	$<3,00 \times 10^2$	<3,00	<3,00	<3,00	_____	$3,60 \times 10^2$	$<3,00 \times 10^2$	$<3,00 \times 10^2$	_____	_____
8	$5,00 \times 10^2$	$<3,00 \times 10^2$	<3,00	<3,00	<3,00	_____	$3,70 \times 10^2$	$<3,00 \times 10^2$	$<3,00 \times 10^2$	_____	_____
9	$6,00 \times 10^2$	$<3,00 \times 10^2$	<3,00	<3,00	<3,00	_____	$3,80 \times 10^3$	$<3,00 \times 10^2$	$<3,00 \times 10^2$	_____	_____
10	$1,00 \times 10^3$	$<3,00 \times 10^2$	<3,00	<3,00	<3,00	$5,00 \times 10^1$	_____	$<3,00 \times 10^2$	$<3,00 \times 10^2$	_____	_____

* Nenhum crescimento

** Crescimento positivo

NMP Número mais provável

TABELA 4: ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DE CROQUETES NÃO COZIDOS

Análises Amostras Nº	Contagem/g de aeróbios a 35°C	Contagem/g de aeróbios a 7°C	Contagem de colifor- mes fecais NMP/g	Contagem de <u>Escherichia</u> <u>coli</u> NMP/g	Contagem de ente- rococos NMP/g	Contagem/g de estafilo- cocos coagu- lase-positi- vos	Contagem/g de <u>Bacillus</u> <u>Cereus</u>	Contagem/g de lipolíticos	Contagem de Fungos e Leveduras	Presença de <u>Clostridium</u> <u>perfringens</u>	Presença pre- suntiva de <u>Salmonella</u> sp.
1	$\geq 3,00 \times 10^6$	$> 3,00 \times 10^6$	$1,50 \times 10^1$	$< 3,00$	$\geq 2,40 \times 10^3$	*		$8,04 \times 10^4$	$2,00 \times 10^6$		
2	$2,03 \times 10^5$	$1,90 \times 10^4$	$< 3,00$	$< 3,00$	$9,30 \times 10^1$	$1,35 \times 10^3$	$5,10 \times 10^4$	$2,25 \times 10^5$	$< 3,00 \times 10^2$		
3	$1,12 \times 10^5$	$\leq 3,00 \times 10^2$	$< 3,00$	$< 3,00$	$9,30 \times 10^1$	$5,50 \times 10^2$	$8,25 \times 10^4$	$6,00 \times 10^4$	$< 3,00 \times 10^2$		
4	$6,05 \times 10^5$	$2,35 \times 10^5$	$\geq 2,40 \times 10^3$	$< 3,00$	$\geq 2,40 \times 10^3$	$9,25 \times 10^4$		$6,00 \times 10^5$	$4,90 \times 10^4$		
5	$\geq 3,00 \times 10^6$	$7,00 \times 10^4$	$\geq 2,40 \times 10^3$	$< 3,00$	$\geq 2,40 \times 10^3$	$6,75 \times 10^4$		$8,00 \times 10^5$	$3,70 \times 10^5$		
6	$\geq 3,00 \times 10^6$	$5,50 \times 10^4$	$< 3,00$	$< 3,00$	$\geq 2,40 \times 10^3$	$7,50 \times 10^4$		$\geq 3,00 \times 10^6$	$1,30 \times 10^5$		
7	$\geq 3,00 \times 10^6$	$3,75 \times 10^4$	$< 3,00$	$< 3,00$	$\geq 2,40 \times 10^3$	$5,75 \times 10^4$		$\geq 3,00 \times 10^6$	$4,80 \times 10^4$		
8	$7,25 \times 10^4$	$\geq 3,00 \times 10^6$	$< 3,00$	$< 3,00$	$\geq 2,40 \times 10^3$	$3,60 \times 10^3$	$3,94 \times 10^4$	$7,50 \times 10^4$	$4,50 \times 10^2$		
9	$1,02 \times 10^5$	$\geq 3,00 \times 10^6$	$< 3,00$	$< 3,00$	$\geq 2,40 \times 10^3$		$3,80 \times 10^4$	$8,50 \times 10^4$	$< 3,00 \times 10^2$		
10	$\geq 3,00 \times 10^6$	$8,75 \times 10^4$	$4,30 \times 10^1$	$4,00$	$9,30 \times 10^1$			$6,75 \times 10^5$	$4,80 \times 10^5$		

* Nenhum crescimento

NMP Número mais provável

TABELA 5: ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DE QUIBES CRÚS-CONGELADOS

Análises Amostras Nº	Contagem/g de aeróbios a 35°C	Contagem/g de aeróbios a 7°C	Contagem de colifor- mes fecais NMP/g	Contagem de <u>Escherichia</u> <u>coli</u> NMP/g	Contagem de ente- rococos NMP/g	Contagem/g de estafi- lococos coa- gulase-posi- tivos	Contagem/g de <u>Bacillus</u> <u>Cereus</u>	Contagem/g de Lipolíticos	Contagem/g de fungos e leveduras	Presença de <u>Clostridium</u> <u>perfringens</u>	Presença pre- suntiva de <u>Salmonella</u> sp.
1	$>3,00 \times 10^6$	$>3,00 \times 10^6$	$4,60 \times 10^2$	$<3,00$	$>2,40 \times 10^3$	*	$2,78 \times 10^3$	$5,75 \times 10^5$	$>3,00 \times 10^6$	_____	_____
2	$2,42 \times 10^5$	$9,00 \times 10^4$	$>2,40 \times 10^3$	$<3,00$	$1,50 \times 10^2$	_____	$7,52 \times 10^3$	$1,20 \times 10^4$	$9,90 \times 10^3$	**+(0,1g)	+
3	$6,40 \times 10^4$	$1,15 \times 10^4$	9,00	$<3,00$	$1,10 \times 10^3$	$2,10 \times 10^3$	$6,62 \times 10^3$	$2,80 \times 10^4$	$6,90 \times 10^3$	_____	+
4	$1,76 \times 10^5$	$>3,00 \times 10^6$	$>2,40 \times 10^3$	$1,10 \times 10^1$	$>2,40 \times 10^3$	_____	_____	$2,80 \times 10^5$	$3,19 \times 10^4$	+(0,1g) +(0,01g)	_____
5	$1,70 \times 10^4$	$1,47 \times 10^4$	$>2,40 \times 10^3$	$2,10 \times 10^1$	$>2,40 \times 10^3$	_____	_____	$1,75 \times 10^3$	$1,43 \times 10^3$	_____	_____
6	$4,45 \times 10^4$	$>3,00 \times 10^6$	$>2,40 \times 10^3$	$2,40 \times 10^2$	$>2,40 \times 10^3$	_____	_____	$3,50 \times 10^5$	$3,94 \times 10^4$	_____	_____
7	$>3,00 \times 10^6$	$>3,00 \times 10^6$	$>2,40 \times 10^3$	$<3,00$	$>2,40 \times 10^3$	_____	$1,72 \times 10^3$	$4,80 \times 10^4$	$>3,00 \times 10^6$	_____	_____
8	$2,27 \times 10^5$	$2,90 \times 10^4$	$6,40 \times 10^1$	7,00	$6,40 \times 10^1$	$2,00 \times 10^3$	$9,20 \times 10^3$	$2,95 \times 10^3$	$6,00 \times 10^3$	+(0,1g)	+
9	$2,96 \times 10^3$	$9,75 \times 10^4$	$9,30 \times 10^1$	$<3,00$	$9,30 \times 10^1$	_____	$7,67 \times 10^2$	$2,48 \times 10^4$	$4,50 \times 10^3$	+(0,1g)	_____
10	$6,05 \times 10^4$	$>3,00 \times 10^6$	$>2,40 \times 10^3$	$9,30 \times 10^1$	$>2,40 \times 10^3$	_____	$1,56 \times 10^3$	$1,60 \times 10^6$	$4,85 \times 10^5$	_____	+

* Nenhum crescimento

** Crescimento positivo

NMP Número mais provável

TABELA 6: ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DE ALMÔDEGAS CRUAS-CONGELADAS

Análises Amostras No	Contagem/g de aeróbios a 35°C	Contagem/g de aeróbios a 7°C	Contagem de coli- formes fe- cais NMP/g	Contagem de Escherichia Coli NMP/g	Contagem de ente- rococos NMP/g	Contagem/g de estafilo- cocos coagu- lase-positi- vos	Contagem de Bacillus Cereus	Contagem/g de lipolíticos	Contagem/g de fungos e leveduras	Presença de Clostridium perfringens	Presença pre- suntiva de Salmonella sp.
1	2,17x10 ⁴	>3,00x10 ⁶	4,60x10 ²	<3,00	2,40x10 ²	* _____	4,40x10 ³	9,50x10 ⁴	6,15x10 ⁴	_____	+
2	1,00x10 ³	>3,00x10 ⁶	1,100x10 ³	9,30x10 ¹	1,50x10 ²	5,00x10 ³	_____	3,40x10 ³	7,70x10 ³	_____	+
3	1,15x10 ⁵	4,95x10 ⁴	9,30x10 ¹	<3,00	4,60x10 ²	_____	2,00x10 ²	<3,00x10 ²	6,25x10 ²	_____	_____
4	1,90x10 ⁵	4,60x10 ⁵	7,00	<3,00	9,30x10 ¹	_____	5,01x10 ²	2,56x10 ⁴	5,00x10 ²	_____	_____
5	2,70x10 ⁴	2,70x10 ⁴	2,40x10 ²	<3,00	4,60x10 ²	_____	2,90x10 ²	1,60x10 ⁴	5,90x10 ²	** (0,1g)	_____
6	8,00x10 ⁴	6,00x10 ⁴	4,30x10 ¹	<3,00	9,30x10 ¹	_____	3,80x10 ³	3,80x10 ³	4,25x10 ²	_____	_____
7	>3,00x10 ⁶	>3,00x10 ⁶	>2,40x10 ³	4,60x10 ²	>2,40x10 ²	_____	1,39x10 ³	>3,00x10 ⁶	9,05x10 ⁴	+ (0,1g)	_____
8	8,85x10 ³	>3,00x10 ⁶	2,40x10 ²	<3,00	>2,40x10 ³	_____	9,90x10 ²	2,26x10 ⁴	8,65x10 ⁴	_____	_____
9	3,02x10 ³	2,74x10 ⁴	4,60x10 ²	1,50x10 ¹	>2,40x10 ³	_____	4,86x10 ³	5,02x10 ⁴	2,85x10 ³	_____	_____
10	5,30x10 ⁴	>3,00x10 ⁶	4,60x10 ²	9,00	1,100x10 ³	2,67x10 ³	6,62x10 ³	1,60x10 ⁵	4,17x10 ⁴	_____	+

* Nenhum crescimento

** Crescimento positivo

NMP Número mais provável

TABELA 7: ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DE HAMBURGUERES CRÚS-CONGELADOS

Análises Amostras Nº	Contagem/g de aeróbios a 35°C	Contagem/g de aeróbios a 7°C	Contagem de colifor- mes fecais NMP/g	Contagem de Escherichia coli NMP/g	Contagem de ente- rococos NMP/g	Contagem/g de estafilo- cocos coagu- lase positi- vos	Contagem/g de Bacillus cereus	Contagem/g de lipolíticos	Contagem/g de fungos e leveduras	Presença de Clostridium perfringens	Presença pre- suntiva de Salmonella sp.
1	$>3,00 \times 10^6$	$>3,00 \times 10^6$	$<3,00$	$<3,00$	$4,60 \times 10^2$	$2,00 \times 10^2$	$3,90 \times 10^3$	$1,20 \times 10^6$	$1,15 \times 10^4$	_____	_____
2	$2,45 \times 10^6$	$>3,00 \times 10^6$	$<3,00$	$<3,00$	$7,50 \times 10^1$	$2,90 \times 10^4$	_____	$8,00 \times 10^5$	$4,10 \times 10^4$	_____	_____
3	$2,10 \times 10^5$	$>3,00 \times 10^6$	4,00	$<3,00$	$>2,40 \times 10^3$	* _____	$3,00 \times 10^1$	$4,60 \times 10^4$	$<3,00 \times 10^2$	**+(0,1g)	_____
4	$>3,00 \times 10^6$	$>3,00 \times 10^6$	4,00	$<3,00$	$<3,00$	_____	$2,00 \times 10^1$	$>3,00 \times 10^6$	$2,43 \times 10^3$	+ (0,1g)	+
5	$>3,00 \times 10^6$	$>3,00 \times 10^6$	$7,50 \times 10^1$	$<3,00$	$>2,40 \times 10^3$	_____	_____	$2,35 \times 10^6$	$2,69 \times 10^3$	_____	_____
6	$>3,00 \times 10^6$	$>3,00 \times 10^6$	$4,30 \times 10^1$	$<3,00$	$>2,40 \times 10^3$	$3,00 \times 10^4$	_____	$5,60 \times 10^4$	$<3,00 \times 10^2$	_____	_____
7	$>3,00 \times 10^6$	$>3,00 \times 10^6$	$<3,00$	$<3,00$	$9,30 \times 10^1$	$1,03 \times 10^2$	$3,80 \times 10^3$	$5,05 \times 10^5$	$7,50 \times 10^3$	_____	_____
8	$2,70 \times 10^4$	$>3,00 \times 10^6$	$<3,00$	$<3,00$	$>2,40 \times 10^3$	_____	_____	$4,00 \times 10^4$	$<3,00 \times 10^2$	+ (0,1g)	_____
9	$>3,00 \times 10^6$	$>3,00 \times 10^6$	$9,30 \times 10^1$	$<3,00$	$4,60 \times 10^2$	_____	_____	$2,50 \times 10^5$	$1,25 \times 10^4$	_____	_____
10	$>3,00 \times 10^6$	$>3,00 \times 10^6$	$<3,00$	$<3,00$	$9,30 \times 10^1$	_____	_____	$3,50 \times 10^4$	$2,50 \times 10^3$	_____	_____

* Nenhum crescimento

** Crescimento positivo

NMP Número mais provável

TABELA 3: PADRÕES MICROBIOLÓGICOS ADOTADOS NO BRASIL, EM ALGUNS PAÍSES E ESTADOS PARA CARNE BOVINA MOÍDA E PRODUTOS CÂRNEOS CRÚS

Padrões Microorganismos	Brasil (16)	Estado de Oregon (EUA) (115)	Estado de Maryland (EUA) (115)	North Dakota (EUA) (115)	Canadá (ICMSF)** (81)	Portugal (19)	França (23)	Bulgária sugeridos por MILEV & KOVACHEV (63)	Polônia sugeridos por BURZYNSKA et al. (11)
Mesófilos	3×10^6 /g	5×10^6 /g	10^7 /g	5×10^6 /g	$\leq 10^6$ /g	5×10^5 /g	Máximo de 5×10^5 /g	$\leq 5 \times 10^5$ /g	$\leq 1 \times 10^6$ /g
Psicrófilos	*	_____	_____	_____	_____	10^6 /g	_____	_____	_____
Coliformes fecais	3×10^2 /g	_____	50/g	_____	_____	_____	_____	_____	_____
Enterococos	_____	_____	_____	_____	_____	Ausentes em 0,001g	_____	Ausentes em 0,001g	_____
<u>Escherichia coli</u>	_____	50/g	_____	50/g	$\leq 10^2$ /g	Ausentes em 0,01g	<100g	Ausentes em 0,01g	_____
Salmonella	Ausentes em 25g	_____	_____	_____	Ausentes em 25g	_____	Ausentes em 25g	_____	Ausentes em 5g
<u>Clostridium</u> Sulfito- reductores	2×10 /g	_____	_____	_____	_____	Ausentes em 0,01g	<30/g	Ausentes em 0,01g	Ausentes em 0,1g
<u>Staphylococcus aureus</u>	10^3 /g	_____	_____	_____	$\leq 10^2$ /g	Ausentes em 0,001g	<100/g	Ausentes em 0,01g	Ausentes em 0,1g
<u>Bacillus cereus</u>	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	Ausentes em 0,001g	_____

* Não estipulado

** "INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOODS"

TABELA 9: RELAÇÃO DE ALGUNS PADRÕES MICROBIOLÓGICOS PARA PRATOS PRÉ-COZIDOS -
CONGELADOS CONTENDO CARNE MOÍDA.

Padrões Microorganismos	Código Alimentar Espanhol	Departamento de Saúde Pública de Massachusetts (EUA)	Departamento Federal da Agricultura dos EUA.	* A.F.D.O.U.S (1969)	RAYMAN, 1955 WEISER, 1957 HUBER, 1958 KERELUK & GUNDERSON 1959. THATCHER, 1963	VILLAR et al., 1977 ^{a,b}
Aeróbios a 35°C	50.000 col./g	50.000 col./g	**	100.000 col./g	100.000 col./g	100.000 col./g
Coliformes	_____	_____	_____	_____	_____	<100 col./g
<u>Escherichia coli</u>	_____	_____	_____	_____	_____	< 10 col./g
Enterococos	_____	_____	_____	_____	_____	<1000 col./g
Patogênicos	Ausentes	_____	Ausentes	_____	_____	_____

* "ASSOCIATION OF FOOD AND DRUG OFFICIALS OF UNITED STATES"

** Não estipulado

*** apud VILLAR et al, 1977^{a,b}

TABELA 10: DISTRIBUIÇÃO, POR CLASSES, DA FREQUÊNCIA PORCENTUAL DAS AMOSTRAS CONTENDO MICRORGANISMOS VIÁVEIS A 35° E 7°C, BEM COMO FUNGOS E LEVEDURAS POR GRAMA DO ALIMENTO.

CONTAGEM A 35°C					CONTAGEM A 7°C					CONTAGEM DE FUNGOS E LEVEDURAS				
Classes	$\leq 3 \times 10^2$	3×10^2 a 5×10^4	5×10^4 a 3×10^6	$> 3 \times 10^6$	Classes	$\leq 3 \times 10^2$	3×10^2 a 5×10^4	5×10^4 a 3×10^6	$> 3 \times 10^6$	Classes	$\leq 3 \times 10^2$	3×10^2 a 5×10^4	5×10^4 a 3×10^6	$> 3 \times 10^6$
Produtos	%	%	%	%	Produtos	%	%	%	%	Produtos	%	%	%	%
Hamburgueres	0	10	20	70	Hamburgueres	0	0	0	100	Quibes	0	70	10	20
Croquetes	0	0	50	50	Quibes	0	30	20	50	Raviólis	70	10	0	20
Raviólis	20	50	0	30	Almôndegas	0	30	20	50	"Capelettis"	90	0	0	10
Quibes	0	40	40	20	Croquetes	10	20	40	30	Croquetes	30	30	40	0
Almôndegas	0	50	40	10	Raviólis	80	0	0	20	Almôndegas	0	80	20	0
"Capelettis"	30	50	10	10	"Capelettis"	70	10	10	10	Hamburgueres	30	70	0	0
Pastéis	0	60	40	0	Pastéis	100	0	0	0	Pastéis	40	60	0	0

TABELA 11: DISTRIBUIÇÃO, POR CLASSE, DA FREQUÊNCIA PORCENTUAL DAS AMOSTRAS CONTENDO COLIFORMES FECAIS, Escherichia coli E ENTEROCOCOS POR GRAMA DO ALIMENTO

N M P Coliformes fecais					N M P <u>Escherichia coli</u>					N M P Enterococos					
Classes	<3,00	3,00 a 100,00	100,00 a 2400,00	>2.400,00	Classes	<3,00	3,00 a 10,00	10,00 a 100,00	>100,00	Classes	<3,00	3,00 a 100,00	100,00 a 1000,00	1000,00 a 2400,00	>2400,00
Produtos	%	%	%	%	Produtos	%	%	%	%	Produtos	%	%	%	%	%
Quibes	0	30	10	60	Quibes	50	10	30	10	Croquetes	0	30	0	0	70
Croquetes	60	20	0	20	Almôndegas	60	10	20	10	Quibes	0	20	10	10	60
Almôndegas	0	30	60	10	Raviólis	90	0	0	10	Hamburgueres	10	30	20	0	40
Raviólis	90	0	10	0	Croquetes	90	10	0	0	Almôndegas	0	20	40	10	30
Hamburgueres	50	50	0	0	Hamburgueres	100	0	0	0	"Capelettis"	80	20	0	0	0
"Capelettis"	100	0	0	0	"Capelettis"	100	0	0	0	Raviólis	100	0	0	0	0
Pastéis	100	0	0	0	Pastéis	100	0	0	0	Pastéis	100	0	0	0	0

N M P - Número mais provável

TABELA 12: DISTRIBUIÇÃO, POR CLASSE, DA FREQUÊNCIA PORCENTUAL DAS AMOSTRAS CONTENDO ESTAFÍLOCOCOS COAGULASE-POSITIVOS, BACILLUS CEREUS E MICRORGANISMOS LIPOLÍTICOS POR GRAMA DO ALIMENTO

Estafilococos coagulase-positivos						Bacillus cereus					Lipolíticos				
Classes	0,00	0,00 a 10 ²	10 ² a 10 ³	10 ³ a 10 ⁴	>10 ⁴	Classes	0,00	0,00 a 10 ³	10 ³ a 10 ⁴	>10 ⁴	Classes	≤3x10 ²	3x10 ² a 5x10 ⁴	5x10 ⁴ a 3x10 ⁶	>3x10 ⁶
Produtos	%	%	%	%	%	Produtos	%	%	%	%	Produtos	%	%	%	%
Croquetes	30	0	10	20	40	Croquetes	60	0	0	40	Croquetes	0	0	80	20
Hamburgueres	60	0	10	0	30	Pastéis	60	0	20	20	Hamburgueres	0	30	60	10
Almôndegas	80	0	0	20	0	"Capelettis"	30	40	20	10	Almôndegas	10	50	30	10
Quibes	80	0	0	20	0	Raviólis	50	30	10	10	Raviólis	70	20	0	10
Raviólis	90	0	10	0	0	Quibes	30	10	60	0	Quibes	0	60	40	0
"Capelettis"	80	20	0	0	0	Almôndegas	10	40	50	0	"Capelettis"	70	20	10	0
Pastéis	100	0	0	0	0	Hamburgueres	60	20	20	0	Pastéis	100	0	0	0

TABELA 13: DISTRIBUIÇÃO DA FLORA MICROBIANA DE POSSÍVEL RISCO À SAÚDE DO CONSUMIDOR

Microorganismos Produtos	Estafilococos coagulase-positivos ($>10^3$ /g)		Escherichia coli NMP (>100 /g)		Bacillus cereus ($>10^3$ /g)		Clostridium perfringens Presença em 0,1g		Salmonella Presença em 11g	
	Nº Amostras	%	Nº Amostras	%	Nº Amostras	%	Nº Amostras	%	Nº Amostras	%
Quibes	2	20	1	10	6	60	4	40	4	40
Almôndegas	2	20	1	10	5	50	2	20	3	30
Hamburgueres	3	30	0	0	2	20	3	30	1	10
Croquetes	6	60	0	0	4	40	0	0	0	0
Raviólis	0	0	1	10	2	20	0	0	0	0
"Capelettis"	0	0	0	0	3	30	0	0	1	10
Pastéis	0	0	0	0	4	40	0	0	1	10

TABELA 14: COMPOSIÇÃO QUÍMICA CENTESIMAL DO RECHEIO DE PASTÉIS, RAVIÓLIS E "CAPELETTIS" E
RELAÇÃO MASSA:RECHEIO

Produtos Análises Amostras No	Pastéis				Raviólis				"Capelettis"			
	Umidade %	Proteína %	Lípídios %	Relação Massa X Recheio	Umidade %	Proteína %	Lípídios %	Relação Massa X Recheio	Umidade %	Proteína %	Lípídios %	Relação Massa X Recheio
1	44,00	18,75	7,03	6,60:1	24,50	14,51	13,07	12,00:1	25,00	23,44	10,81	6,78:1
2	45,83	19,35	5,87	6,94:1	35,92	9,36	9,07	3,90:1	25,75	21,17	10,19	7,15:1
3	40,69	21,00	8,18	6,24:1	27,00	16,52	5,84	9,46:1	47,53	15,00	8,23	5,29:1
4	43,36	18,64	8,02	3,73:1	31,40	23,07	9,06	8,60:1	25,75	20,83	11,65	6,91:1
5	45,00	19,10	7,86	4,24:1	28,00	18,15	10,08	11,80:1	34,65	20,58	3,79	6,37:1
6	40,12	15,75	8,27	2,92:1	26,04	17,10	7,40	10,51:1	26,21	17,50	11,58	7,86:1
7	41,62	14,20	5,08	2,91:1	23,76	17,10	7,62	10,52:1	25,75	19,00	11,88	8,67:1
8	40,40	11,21	7,87	3,37:1	48,00	16,50	5,20	3,22:1	22,81	22,19	10,81	8,10:1
9	41,55	12,22	6,62	3,44:1	49,00	13,54	9,69	6,33:1	28,00	18,28	10,08	7,87:1
10	43,00	16,00	7,98	4,25:1	25,00	13,00	11,25	10,00:1	30,00	18,50	11,41	6,50:1

TABELA 15: COMPOSIÇÃO QUÍMICA CENTESIMAL DE QUIBES, ALMÔNDEGAS, HAMBURGUESES E CROQUETES

Produtos Análises Amostras No	Quibes			Almôndegas			Hamburgueres			Croquetes		
	Umidade %	Proteína %	Lipídios %	Umidade %	Proteína %	Lipídios %	Umidade %	Proteína %	Lipídios %	Umidade %	Proteína %	Lipídios %
1	57,00	12,36	1,68	61,00	15,71	7,80	55,32	16,11	10,28	53,07	17,45	3,01
2	69,31	8,29	2,45	58,82	16,21	7,69	67,67	16,67	4,53	53,95	14,81	4,51
3	67,22	10,75	3,60	59,70	18,20	7,11	59,63	21,26	7,92	53,51	13,75	4,56
4	59,22	9,75	2,40	60,98	14,14	7,32	63,56	17,40	6,07	52,58	8,50	1,56
5	65,03	9,83	4,71	62,36	16,94	7,38	50,40	18,73	11,57	52,39	8,95	3,53
6	52,88	13,62	4,53	63,61	14,19	7,02	48,56	13,26	12,35	51,61	8,34	2,37
7	55,77	13,13	4,25	55,88	13,11	6,37	54,92	17,64	11,72	51,76	9,42	2,81
8	57,26	14,02	4,11	54,25	12,86	7,92	56,37	14,70	7,70	51,32	9,69	2,86
9	57,09	11,66	5,15	54,37	13,90	7,02	54,92	18,28	7,80	47,16	12,14	3,11
10	56,73	15,21	2,50	59,25	13,97	5,70	55,25	19,30	6,48	53,41	14,27	6,65

TABELA 16: VALORES MÍNIMOS, MÁXIMOS E MÉDIOS DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS PRODUTOS ESTUDADOS

Composição Química %	Umidade			Proteína			Lipídios		
	Mínimo	Médio	Máximo	Mínimo	Médio	Máximo	Mínimo	Médio	Máximo
Pastéis	40,12	45,83	42,56	11,21	21,00	16,62	5,08	8,27	7,28
Raviólis	23,76	49,00	31,86	9,36	23,07	15,88	5,20	13,07	8,83
"Capelettis"	22,81	47,53	29,14	15,00	23,44	19,65	3,79	11,88	10,04
Quibes	52,88	69,31	59,75	8,29	15,21	11,86	1,68	5,15	3,54
Almôndegas	54,25	63,61	59,02	12,86	18,20	14,92	5,70	7,92	7,13
Hamburgueres	48,56	67,67	56,67	14,70	21,26	17,33	4,53	12,35	8,64
Croquetes	47,16	53,95	52,08	8,34	17,45	11,73	1,56	6,65	3,50

TABELA 17: RELAÇÃO UNIDADE - PROTEÍNA NOS PRODUTOS CÂRNEOS CRÙS-CONGELADOS

Amostras Nº	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Média
Produtos											
Quibes	4,61:1	8,36:1	6,25:1	6,07:1	6,61:1	3,88:1	4,25:1	4,08:1	4,90:1	3,73:1	5,27:1
Almôndegas	3,88:1	3,63:1	3,28:1	4,31:1	3,68:1	4,48:1	4,26:1	4,22:1	3,91:1	4,24:1	3,99:1
Hamburgueres	3,43:1	4,06:1	2,80:1	3,65:1	2,70:1	3,66:1	3,11:1	3,83:1	3,00:1	2,86:1	3,31:1

3.1. Análises Microbiológicas

3.1.1. Contagem de microrganismos aeróbios a 7°C e 35°C

O perfil da qualidade microbiológica das 70 amostras de sete produtos diferentes contendo carne bovina moída, é apresentado nas Tabelas 1 a 7 e a distribuição das frequências percentuais das amostras revelando as diversas contagens é mostrada nas Tabelas 10 a 12.

Os recheios, preparados com carne bovina moída pré-cozida (pastéis, raviólis e "capelettis") apresentaram contagens a 35°C e a 7°C mais baixas que os produtos crús-congelados bem como a dos croquetes, não obstante estes últimos fossem preparados com carne moída também pré-cozida. (Tabelas 1 a 7). As contagens mais elevadas a 35°C (maior que 3×10^6 col./g) foram constatadas mais frequentemente nos hamburques, croquetes e raviólis (Tabelas 7, 4 e 2).

Nos recheios de pastéis, raviólis e "capelettis" encontramos 83,33% das contagens de microrganismos a 7°C inferiores a 300 col./g (Tabela 10), o que era de esperar-se uma vez que estes haviam sofrido um pré-cozimento. Todavia, tendo em vista que as amostras de croquetes foram analisadas inteiras, dada a impossibilidade de separação da porção cárnea, obtivemos apenas 10% das contagens de microrganismos psicrotróficos inferiores a 300 col./g, devido, seguramente, à presença de massa crua, ovos e farinha de rosca (Tabela 4).

A análise dos produtos crus-congelados (almôndegas, quibes e hamburgueres) denotou contagens bem mais elevadas a 35°C e a 7°C do que aquela dos pré-cozidos, sendo que 100% das amostras de hamburgueres analisadas apresentaram contagens a 7°C superiores a 3×10^6 col./g e 70% dessas mesmas amostras revelaram contagens a 35°C também superiores a 3×10^6 col./g (Tabela 10).

Ainda como se pode verificar na Tabela 10, o maior contigente dos produtos estudados (37,14%) apresentou contagem a 35°C nas faixas entre 3×10^2 e 5×10^4 col./g. Todavia, estes mesmos produutos incubados a 7°C revelaram frequentemente contagens bem mais e levadas, na faixa de 3×10^6 col./g (37,14%), não obstante os recheios dos raviôlis, "capelettis" e pastéis (linhas 8, 9 e 10 da Ta**be**la nº 10) apresentassem bem menos frequentemente estes contaminantes.

Fato que chamou nossa atenção refere-se ainda à qualidade de microbiológica das amostras obtidas em estabelecimentos tais como casas de massas e casas de carne se comparadas àquelas obtidas em mercearias e supermercados.

Nas primeiras duas categorias, os produtos apresentavam geralmente contagens mais elevadas que nas segundas, haja visto os resultados obtidos nas amostras 8 e 9 da Tabela 2; amostra 3 da Ta**be**la 3; amostras 4 e 10 da Tabela 5 e amostras 7 e 8 da Tabela 6.

3.1.2. Contagem de coliformes fecais, Escherichia coli e enterococos

Em relação à contagem de coliformes fecais e E. coli, os resultados deste estudo mostraram que estes microrganismos praticamente não foram encontrados nos recheios de pastéis, "capelettis" e

raviólis. Resultados semelhantes foram obtidos na pesquisa de ente rococos, onde apenas 2 amostras de "capelettis", as de nº 3 e 5 da Tabela 3, estavam contaminadas, porém em números muito baixos. As amostras de hamburgueres não apresentaram E. coli, embora 50% delas apresentassem coliformes fecais em baixos números (menor que 100/g). O mesmo não ocorreu, entretanto, na pesquisa de enterococos nos ham burgueres, onde encontramos 90% de amostras positivas para este mi crorganismo, sendo que destas, 40% apresentaram contagens superio res a $2,4 \times 10^3$ col./g (Tabela 11).

Na pesquisa de coliformes fecais, verificamos ainda que 57,14% das 70 amostras estudadas situaram-se na faixa inferior a 3 col./g, embora 60% dos quibes se encontrassem com contagens superiores a $2,4 \times 10^3$ col./g (Tabela 11). Ainda no que respeita a ocorrência de E.coli, também verificamos que 84,28% das 70 amostras estudadas apresentaram contagens menores que 3 col./g (Tabela 11).

Em relação aos enterococos, encontramos 28,57% das amos tras com contagens superiores a $2,4 \times 10^3$ col./g, enquanto que na pesquisa de coliformes fecais encontramos 12,85% das amostras com contagens superiores a este nível e na pesquisa de E. coli encontra mos apenas 4,28% das amostras (Tabela 11). Estes resultados parecem ser devidos à maior resistência oferecida pelos enterococos às con dições adversas do meio, o que levou alguns pesquisadores a sugeri rem o emprego destes últimos como indicadores de contaminação fecal.

3.1.3. Contagem de fungos, leveduras e microrganismos lipolíticos

Os fungos e as leveduras foram isolados de todos os pro dutos analisados em nosso estudo, tendo sido constatados em maiores

números nas amostras de raviõlis e quibes. Todavia, as amostras de raviõlis adquiridas de casas de massas, sem nenhuma embalagem protetora (Tabela 2, amostras 8 e 9), apresentaram contaminação mais elevada do que aquelas obtidas em supermercados, na maioria das vezes, embaladas a vácuo. Assim é que na presente pesquisa obtivemos 45,71% das amostras com contagens entre 3×10^2 a 5×10^4 col./g (Tabela 10) o que não pode ser considerado ainda muito elevado, considerando-se a falta de embalagem em algumas amostras.

Das 70 amostras de produtos estudados no que respeita à ocorrência de germes lipolíticos, apenas 35,71% apresentaram contagens na faixa inferior a 3×10^2 col./g. Não obstante, considerando os produtos isoladamente, verificamos que 80% dos croquetes e 60% dos hamburghueses apresentaram contagens na faixa de 5×10^4 a 3×10^6 col./g (Tabela 12).

A explicação deste achado deve-se, provavelmente, ao fato de que no preparo destes dois produtos, usa-se adicionar tecido gorduroso de várias procedências, inclusive de aparas de carne resultante dos recortes das várias categorias preparados para comercialização de outros produtos mais nobres, tais como presuntos. Estes recortes de tecido gorduroso nem sempre recebem os cuidados necessários a fim de evitar contaminações das mais diversas origens, o que resulta em matéria prima, por vezes, pesadamente contaminada.

3.1.4. Estafilococos coagulase-positivos

Existe uma grande discrepância entre os vários pesquisadores sobre as técnicas mais adequadas de identificação deste microrganismo bem como quanto a seu significado quando encontrado em

alimentos.

Segundo alguns pesquisadores, algumas bactérias de significado em saúde pública, como o Staphylococcus aureus, quando presentes em carne moída adequadamente refrigerada, geralmente se encontram em números baixos, sendo seu crescimento limitado. Entretanto, quando se trata de carne não refrigerada, insuficientemente cozida ou estocada sob condições inadequadas, podem ocorrer problemas mais graves devido à grande proliferação destes microrganismos, uma vez que condições favoráveis lhe sejam oferecidas (44).

Nossa pesquisa revelou a presença de estafilococos coagulase-positivos em 70% das amostras de croquetes, enquanto que as amostras do recheio de pastéis não apresentaram este microrganismo. Um total de 13 das 70 amostras analisadas (18,54%) apresentaram contagens superiores a 10^3 col./g e 7 (10,00%) apresentaram contagens superiores a 10^4 col./g. (Tabela 12).

Também neste caso dos estafilococos poder-se-ia inferir a ação da pré-cocção do recheio dos pastéis e sua influência benêfica sobre o produto já que, ao que tudo indica, este procedimento teve por efeito eliminar os contaminantes. O mesmo não ocorreu com os croquetes que representam mistura de vários componentes crús e cozidos. Daí a razão destes últimos terem mostrado contaminação em larga escala contrariamente aos pastéis.

Não obstante não termos pesquisado a presença de enterotoxina nos produtos contendo estafilococos coagulase-positivos em números superiores aos padrões correntes, é de se supor que tais alimentos possam constituir risco potencial para o consumidor e, se mais surtos de toxinfecção não têm sido oficialmente assinalados, isto deve, provavelmente, a que os sintomas desta toxinfecção sejam

brandos e de curta duração e também à falta de um serviço epidemio-
lógico organizado e cioso em colher tais dados de forma permanente
e contínua.

3.1.5. Bacillus cereus

No que respeita ao Bacillus cereus, nossa pesquisa de
monstrou que todos os produtos estudados revelaram sua presença, sen-
do que a maior frequência de amostras positivas foi constatada nas
almôndegas (90%) e as contagens mais elevadas foram verificadas nas
amostras de croquetes (Tabela 12). Acresce ainda que 20% das amos-
tras examinadas apresentaram contagens inferiores ou igual a 10^3 col./
g; 25,71% revelaram contagens entre 10^3 e 10^4 col./g; 11,43% superio-
res a 10^4 col./g, sendo que 42,85% não apresentaram o microrganismo.
(Tabela 12).

Faz apenas alguns poucos anos que o B. cereus projetou-
se como microrganismo de certa importância no cenário daqueles que
são frequentemente mencionados como importantes do ponto de vista de
saúde pública, notadamente em microbiologia alimentar. Assim é que
alguns pesquisadores afirmam que o isolamento de grande número de
B. cereus de alimentos relacionados a certas doenças gastro-intesti-
nais, seja uma evidência presuntiva de que este microrganismo possa
ter sido o agente responsável por tais distúrbios. Na atualidade, sua
enteropatogenicidade somente pode ser comprovada pela confirmação ou
reprodução dos sintomas em pessoas que, voluntariamente ingerem cul-
tura pura do microrganismo (43). Nota-se ainda que os sintomas oca-
sionados pelo B. cereus são bastantes parecidos com aqueles provoca-
dos pelo Clostridium perfringens, o que vem complicando ainda mais

o assunto. De acordo com GOEPFERT, SPIRA & KIM (43), é importante saber a origem da síndrome para demonstrar a enteropatogenicidade do B. cereus, ou seja, se a síndrome é resultado de uma infecção ou de uma intoxicação. Ainda segundo os mesmos pesquisadores, existem poucos trabalhos com respeito a alimentos contaminados por B. cereus, mas há evidência de que este germe isolado de produtos cárneos parece estar também relacionado a presença de condimentos e temperos diversos.

Voltando a procura de interpretação de nossos achados no que respeita ao B. cereus, verifica-se que enquanto KJELLANDER & NYGREN (apud 43) encontraram em 514 amostras de alimentos, 26% de carnes contaminadas, nosso trabalho revelou uma contaminação bem mais elevada chegando ao nível de 90% em almôndegas. A possível explicação deste achado é, provavelmente, relacionada com o tipo de carne utilizada no preparo destas e, também ao tipo e quantidade de produtos amiláceos contidos no produto, visto como é de geral conhecimento que a grande fonte de B. cereus é constituída por farinhas em geral.

3.1.6. Salmonella sp.

A presença presuntiva de Salmonella sp. foi averiguada a partir do pré-enriquecimento das amostras em caldo lactosado, seguido pelo enriquecimento em caldo selenito-cistina, conforme método padronizado da F.D.A. (29). No isolamento dos microrganismos deparamos quase sempre com a presença de outras bactérias, o que exigiu que as colônias típicas selecionadas fossem repicadas, mais de uma vez, para sua purificação. Dos meios de isolamento por nós em

pregados o que nos pareceu mais seletivo foi o agar Salmonella-Shigella. As salmonelas foram isoladas presuntivamente (confirmação em TSI e caldo uréia) da maioria dos produtos analisados, com exceção dos raviólis e croquetes, aparecendo com maior frequência nas amostras de quibes (40%) (Tabela 13).

A grande enxurrada de métodos e processos de enriquecimento e isolamento de salmonelas, ao invés de ajudar, mais prejudicam o investigador, mormente o iniciante e a grande dificuldade reside na escolha de um processo mais efetivo e conveniente.

Desta forma, constata-se que vários métodos têm sido recomendados para o isolamento de salmonelas de um alimento, entretanto KAFEL & BRYAN (52) afirmam que o isolamento de salmonelas é dificultado pela presença de grande número de outros microrganismos, como é o caso em salsichas e produtos cárneos, fato por nós confirmado. Alguns pesquisadores sugerem o pré-enriquecimento das amostras em água peptonada e o enriquecimento em caldo tetracionato contendo verde-brilhante (95), enquanto outros afirmam que o pré-enriquecimento em água-peptonada tamponada seguido do enriquecimento em caldo selenito-cistina, resulte em taxas mais altas de isolamento do microrganismo (101). ERDMAN (25) e SILLIKER & GABIS (88) afirmam que a escolha do meio de enriquecimento dependerá, no caso, do sorotipo envolvido, e que o pré-enriquecimento das amostras é necessário, principalmente quando o alimento apresenta alto teor de umidade.

No que respeita à presença de salmonelas nos produtos por nós estudados, é de se pensar que, em verdade é assunto que deve merecer ponderação.

Tendo em vista que, por circunstâncias alheias a nossa vontade, fomos compelidos a utilizar 11g do produto a ser estudado

e não 25g como seria recomendável, era de se esperar uma ocorrência menor de amostras positivas do que se utilizássemos 25g. A constatação de salmonelas em quase todos os produtos, nos leva a ponderar da necessidade de estudos mais aprofundados porque, a dar crédito a estes resultados, as condições higiênicas da produção destes alimentos seriam inaceitáveis em qualquer país mais exigente a este respeito. Mesmo os quibes com frequência de 40% e almôndegas com 30% para salmonelas (Tabela 13) tampouco representam produtos satisfatórios tendo em vista o pequeno peso das amostras utilizadas (11g).

Diante dos resultados acima citados é evidente que o aumento do consumo de alimentos processados e também a proliferação de pequenos estabelecimentos dá uma nova dimensão ao problema de Salmonella sp., bem como ao de outros microrganismos causadores de toxinfecção alimentar, como Staphylococcus aureus e Clostridium perfringens. Desta forma, quando uma indústria ou fábrica de processamento adota uma higiene deficiente de elaboração, permitindo a contaminação de produtos já elaborados, ocorrerá uma grande distribuição nos alimentos de contaminantes como salmonelas.

Uma outra razão para o frequente envolvimento de alimentos processados em surtos de salmonelose pode provir do fato de o controle microbiológico dos alimentos não acompanhar devidamente o rápido desenvolvimento dos novos processos de produção, embalagem e distribuição dos alimentos (81).

Pode-se presumir, portanto, que as carnes e produtos cárneos sejam alimentos mui frequentemente implicados em surtos de toxinfecção por salmonelas, o que não será de admirar, uma vez que os animais são os principais reservatórios naturais destes microrganismos. Carnes curadas para lanches e carnes cozidas não têm sido res

ponsabilizadas devido, provavelmente, à presença de sal, de nitrito e nitrato e/ou produtos da defumação e outros preservativos que podem inibir a reprodução, o crescimento ou até a própria sobrevivência dos contaminantes. Neste ponto, parece-nos lícito citar RIEMANN (81) que afirma a possibilidade de existirem duas maneiras de proteção contra infecção por salmonelas: prevenir a exposição ao patógeno ou imunizar o hospedeiro. Entretanto, os métodos correntes de controle objetivam evitar a exposição ao microrganismo, que é prática mais exequível.

3.1.7. Clostridium perfringens

Este microrganismo vem assumindo nos últimos anos grande importância, uma vez que ele tem sido associado à toxinfecção alimentar no homem pela ingestão de alimentos por ele contaminados.

Nessa pesquisa demonstrou a presença de Clostridium perfringens em algumas amostras de quibes, hamburghueses e almôndegas (produtos crus-congelados) e em apenas uma amostra de quibe sua presença se fez notar em quantidade de até 0,01g do alimento (Tabela 5).

Do mesmo modo que ocorre com as salmonelas o isolamento de Clostridium perfringens de alimentos é muitas vezes dificultado pela concomitante presença de várias outras espécies de bactérias (32). O que realmente também aconteceu nesta nossa pesquisa. Dentre os vários processos de isolamento deste germe preconizado pelos diferentes pesquisadores (24, 86, 46, 45, 48, 57, 80, 91), o isolamento e enriquecimento do material suspeito em meio fluido de tiogliconato e subsequente semeadura em agar Shahidi-Ferguson-perfringens contendo Kanamicina e sulfato de Polimixina-B foi por nós adotado

com bons resultados.

Comparando os resultados por nós obtidos àqueles conseguidos por LADIGES et al. (56), verifica-se que enquanto este autor obteve resultados positivos em 47,40% das amostras de carne bovina moída, nós constatamos a presença deste microrganismo em apenas 12,85% das 70 amostras analisadas.

Quanto a constatação de C. perfringens em apenas quibes almôndegas e hamburgueres crus-congelados, sua elucidação é uma incôgnita. Poderíamos pensar na ação do frio ou baixas temperaturas sobre os germes de competição, sua destruição ou redução e assim campo livre para o crescimento de C. perfringens. A segunda hipótese, seria a esporulação das formas vegetativas como meio de proteção do C. perfringens e que apareceriam nos meios de cultura utilizados.

3.2. Comparação de nossos achados microbiológicos com os padrões disponíveis

Desde há vários anos, agências governamentais têm mostrado interesse em estabelecer padrões microbiológicos para os diferentes produtos alimentícios, inclusive aqueles de carnes moídas e produtos destas derivados.

Em julho de 1978, a COMISSÃO NACIONAL DE NORMAS E PADRÕES PARA ALIMENTOS (CNNPA) do Ministério da Saúde, através da resolução nº 13/78 (16) estabeleceu padrões para alimentos. Com relação à carne e produtos cárneos, foi estipulado que estas quando expostas à venda devem apresentar-se livres de parasitas e de qualquer substância contaminante que possam alterá-las ou encobrir alguma alteração. Assim é que a carne bovina, quando moída, deve con

ter no máximo 10% de gordura, ser isenta de cartilagens, de ossos e conter no máximo 3% de aponevroses. Ainda, as carnes cruas, compreendendo carnes frescas, refrigeradas ou congeladas, inclusive miúdos, carne moída e carnes preparadas, deverão obedecer ao seguinte padrão:

-Contagem padrão em placas.....máximo de 3×10^6 /g.

-Bactérias do grupo coliformes de

origem fecal.....máximo de 3×10^2 /g.

-Clostridium sulfito-redutores(44°C)....máximo de 2×10 /g.

Para produtos cárneos, porém, é ainda estabelecido o limite de no máximo 10^3 /g para Staphylococcus aureus.

Para alguns dos microrganismos pesquisados em nosso estudo ainda não foi estabelecido limite de tolerância no Brasil e, por esta razão, as contagens obtidas serão também comparadas aos padrões microbiológicos adotados em outros países.

3.2.1. Produtos cárneos crus

Em produtos cárneos por qualquer forma preparados, a contagem total de microrganismos aeróbios pode servir, como realmente serve, de índice de controle higiênico no seu preparo, conservação, transporte e armazenagem. Existem casos, em que a contagem total não pode representar condições de higiene do alimento, como em iogurte, pickles, chucrutes e outros alimentos fermentados. Comparações feitas entre a contagem total, coliformes e enterococos como índice de higiene de alimentos, mostraram, muitas vezes, que a primeira dava maior segurança que os outros dois. A principal vantagem do uso da contagem total é que ela indica a vida útil de comercialização do

produto.

Pelo exame da Tabela nº 8, onde vários padrões são sugeridos para carnes moídas e produtos cárneos, podemos verificar que 66,67% dos produtos crus por nós analisados (30 amostras) estavam dentro do padrão proposto pela CNNPA do Brasil para contagem a 35°C enquanto que 63,33% das mesmas amostras se encontravam dentro do padrão proposto por Portugal, França, Bulgária (sugerido por MILEV & KOVACHEV), Polônia (sugerido por BURZYNSKA et al.) e Canadá, o que equivale a uma coincidência praticamente total.

Dos três produtos cárneos crus-congelados, é de destacar-se que as almôndegas foram as que apresentavam contagens mais baixas a 35°C, com 90% destas inferiores ao padrão proposto pelo Brasil. As contagens mais altas foram obtidas nas amostras de hambúrgueres, onde apenas 30% destas se encontravam dentro do padrão brasileiro e apenas 20% dentro dos outros padrões mais rígidos.

Quanto as amostras de quibes, 80% delas enquadravam-se dentro dos padrões adotados pelos diversos países.

Ainda, observamos grande discrepância no que diz respeito à presença de E. coli em alimentos, sua significação sanitária e higiênica, bem como sobre seu inter-relacionamento com a flora entérica patogênica. No meio científico existem pontos de vista, por vezes, opostos ou conflitantes, o que redundava em uma certa confusão a respeito. Mesmo no que tange à presença quantitativa de E. coli há diferenças de opinião dentre os estudiosos de um mesmo país e também entre os vários países. Talvez seja esta a razão pela qual está-se delineando movimento no sentido de se procurar outro germe ou germes com melhores qualificações para se constituírem em indicadores de poluição fecal, como é o caso dos enterococos. Todavia, ainda

não se chegou ao ponto para, com segurança, nos oferecer uma indicação sobre o significado do que seria realmente um índice ideal neste aspecto.

Em relação à carga de coliformes de origem fecal, observamos que 65% dos produtos crus-congelados estavam dentro do padrão brasileiro e apenas 47,5% dentro do padrão proposto pelo Estado de Maryland, nos EUA.

Muitos investigadores consideram os enterococos como sendo os mais indicados que os coliformes para denotar a qualidade dos alimentos, especialmente em se tratando de alimentos congelados. Isto porque, foi verificado que nos alimentos congelados os enterococos figuram em maior número e que a baixa numérica destes durante o armazenamento em temperaturas baixas (-10° e -20°C) é mais lenta que aquela dos coliformes.

Nossa pesquisa mostrou que 43,33% das 30 amostras de produtos crus apresentaram contagens superiores a $2,4 \times 10^3$ col./g; 30% compreendidos entre 100 e $2,4 \times 10^3$ col./g; e 23,33% inferiores ou igual a 100 col./g de enterococos. Ainda podemos notar que, de um modo geral, as contagens de enterococos eram mais elevadas que as de coliformes fecais, o que, de certa maneira confirma que estes parecem ser mais viáveis que os coliformes.

Na falta de padrão nacional para enterococos, fomos compelidos a nos utilizarmos de padrões de outros países como Portugal e Bulgária, tendo verificado que 50,00% de nossas amostras se enquadravam nos padrões adotados pelos citados países.

Em relação à contagem e verificação de microrganismos de possível ação patogênica, observamos que as amostras de quibes foram as que apresentaram maior frequência de Clostridium perfringens

(40%) e Salmonella sp. (40%) (Tabela 12) e aquelas de almôndegas revelaram maior incidência de Bacillus cereus (90%).

Este último, ou seja, o Bacillus cereus, foi isolado em 20 das amostras estudadas, tendo sido detectado com maior frequência nas amostras de almôndegas, conforme já mencionado. É de notar-se ainda que embora as almôndegas tenham apresentado a maior incidência, 40% das contagens obtidas estavam dentro do padrão sugerido por MILEV & KOVACHEV da Bulgária, enquanto apenas 20% e 10% de hamburques e quibes, respectivamente, se enquadravam em tal padrão.

Com respeito a presença de Clostridium perfringens, constatamos que apenas uma das amostras de quibe, ou seja 3,33%, não se encontrava dentro das normas microbiológicas adotadas em Portugal e Bulgária, ao passo que pelo padrão proposto pela Polónia, 30% do total das amostras neste não se enquadravam.

Quanto a possível presença de representantes do género Salmonella, verificamos que 26,67% das amostras continham o microrganismo. As percentagens mais elevadas de amostras positivas corresponderam aos quibes e almôndegas, 40% e 30% respectivamente. Parece-nos oportuno mencionar que 3 amostras de quibes e todas as almôndegas que continham salmonelas pertenciam a uma mesma e afamada marca comercial, empresa com produtos de grande distribuição no mercado nacional. Considerando que a empresa industrial responsável pela elaboração destes últimos produtos é enquadrada no grupo daquelas que apresentam melhores instalações industriais, modernas práticas tecnológicas e condições higiénico-sanitárias as mais satisfatórias a contaminação por salmonelas de seus produtos talvez seja devido à presença de algum manipulador portador não aparente em algum ponto chave da linha de processamento e que se constitui em disseminador involuntário destes germes. De qualquer forma, os produtos em que

se constatou a presença de salmonelas se encontram fora do padrão proposto não só pelo Brasil mas também por outros países, os quais apresentam em comum a exigência de ausência destes microrganismos em 25g do alimento.

Finalmente, no que respeita a presença de estafilococos coagulase-positivos, que é o microrganismo mais frequentemente incriminado como agente causador da toxinfecção no homem, constatamos que apenas 3,33% de todos os produtos crus-congelados que apresentaram o microrganismo se enquadravam dentro das normas do Brasil e Portugal; nenhuma dentro do padrão preconizado pela Polônia, Bulgáaria, França e Canadá, embora 73,33% das amostras examinadas não apresentassem o microrganismo.

3.2.2. Produtos contendo recheio de carne pré-cozida

As pesquisas de C. perfringens, estafilococos coagulase-positivos, Salmonella sp. e B. cereus por nós efetuadas nas amostras de alimentos contendo recheio de carne moída pré-cozida, revelaram que 67,50% destes recheios eram contaminados por esses microrganismos. Convém destacar que os croquetes estudados revelaram a maior contaminação por microrganismos desta flora, chegando a apresentar estafilococos coagulase-positivos em 70% das amostras analisadas, embora não tenham apresentado Salmonella sp. e C. perfringens e uma baixa incidência de B. cereus.

Em termos gerais, o predomínio em frequência pertenceu ao B. cereus, que foi encontrado em maiores números nas amostras de croquetes.

Se compararmos os dados obtidos no estudo destes produto

tos com os padrões adotados em alguns países e sugeridos por alguns pesquisadores para pratos pré-cozidos congelados contendo carne moída, verifica-se que apenas 32,5% das nossas amostras se encontravam dentro do padrão adotado pelo Código Alimentar Espanhol e pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, que recomenda ausência de germes patogênicos nesse tipo de alimento (Tabela 9).

Em relação à contagem de microrganismos aeróbios a 35°C 70,00% dos recheios estavam dentro da norma espanhola também proposta pelo Departamento de Saúde Pública de Massachusetts (EUA). Exce-tua-se o caso das amostras de croquetes, nenhuma das quais se enquadrava neste padrão. Em relação ao padrão proposto pela AFDOUS, por RAYMAN e outros pesquisadores (Tabela 9), encontramos 76,67% dos recheios e 10% dos croquetes dentro dessas normas.

Na contagem de E. coli, 96,67% dos recheios e 100% dos croquetes estavam dentro do padrão proposto por VILLAR et al. e no caso dos enterococos, 100% dos recheios e apenas 30% dos croquetes se enquadravam dentro do padrão sugerido pelos mesmos pesquisadores.

A constatação de produtos positivos para a flora patogênica, mormente em produtos cozidos, nos deixou bastante preocupados e, uma das explicações eventualmente encontradas para este fato seria, talvez, a ocorrência de porções aparentemente cruas neste recheio, como foi o caso dos croquetes, raviólis, "capelettis" e pastéis. Este fato parece-nos muito inquietante visto como produtos pré-cozidos infundem certa tranquilidade ao consumidor. Outro fato observado e que poderia oferecer algum subsídio no sentido de explicar, mesmo que parcialmente, este índice de contaminação por germes potencialmente perigosos é que grande parte dos produtos estudados, foi adquirida fresca ou refrigerada e apenas algumas poucas amos

tras de croquetes ditas super-geladas achavam-se estocadas em congelador, sempre aberto e, provavelmente, com temperaturas não das mais aconselháveis para este tipo de alimentos.

Não obstante, apenas 4% das amostras de pastéis contivessem microrganismos potencialmente patogênicos, como Salmonella sp., estes resultados continuam bastante preocupantes, sobretudo, pelo que estes alimentos, notadamente os croquetes, representam palpável perigo potencial para a saúde do consumidor.

Como atenuante para esta situação devemos mencionar que estes produtos são habitualmente submetidos a algum processo culinário pelo qual o calor é utilizado de várias formas. No entanto, não nos é possível garantir que face ao tempo e temperatura aplicados, o centro geométrico destes produtos seja realmente atingido no grau necessário. É necessário lembrar todavia que alimentos, mesmo aquecidos, podem ser danosos desde que contenham toxinas termoestáveis previamente elaborados.

Este trabalho deverá servir, pois, de alerta não só às autoridades responsáveis pela saúde humana mas também para os industriais que, baseados nos dados oferecidos, poderiam traçar um programa mais realístico de controle de qualidade dos produtos que oferecem à venda.

3.3. Composição química e Relação massa : recheio

O conceito de Controle de Qualidade sofreu, com o avanço da Era Industrial, evoluções e modificações que o tornaram hoje, um dos fatores decisivos para a sobrevivência de uma empresa (12).

Na Indústria da Carne, em particular, nota-se um menor

avanco do Controle de Qualidade em relação às outras indústrias em geral. Percebemos que, na maioria da vezes, este controle é visto como uma sofisticação desnecessária para uma empresa média ou pequena ou então um setor cuja função é apenas inspecionar ou reprovar os materiais fora do padrão, agindo como uma forma de controlar o pessoal da linha de produção (12).

No passado, a segurança alimentar não constituía maior problema. Os alimentos eram produzidos por seus próprios consumidores ou por vizinhos próximos. Mas a industrialização, a urbanização e a especialidade da produção mundial massificada de alimentos acarretaram uma série de novos problemas. Hoje, a cadeia que se estende desde a produção até o consumo é muito mais longa e tortuosa. Tornou-se necessário recorrer a mais aditivos, e a tecnologia criou novos aditivos para prolongar a vida comercial dos alimentos, melhorar seu sabor e modificar sua cor ou consistência (9).

Nosso estudo revelou que a composição química centesimal apresentada pelos produtos em geral foi bastante variada. Nas amostras de recheio de pastéis e raviólis os valores proteicos encontrados situaram-se na faixa de 11,21 a 21,00% para os pastéis e de 9,36 a 23,07% para os raviólis (Tabela 16). Os "capelettis", quibes, almôndegas, hamburgueres e croquetes apresentaram o teor numa faixa mais estreita de variação e seus valores com exceção dos quibes e croquetes (valores muito baixos) (Tabela 15), estavam mais de acordo com o que seria de se esperar em produtos deste tipo.

Constatamos também muita oscilação nos valores encontrados para umidade e o produto que apresentou valores mais correlacionados entre si foi o recheio de pastéis, contrariamente aos raviólis. O teor lipídico também não estava muito constante e algumas a

mostras apresentaram-no superior ao índice de 10% que é recomendado para carne moída, aqui no Brasil, não obstante de aplicação muito difícil.

Em virtude das variações encontradas, achamos conveniente sugerir que a fiscalização atue no sentido de melhorar a qualidade de tais produtos, adotando para tal uma padronização adequada e dentro das possibilidades reais dos produtores.

Deparamos ainda com resultados semelhantes aos da composição química quando na determinação da relação massa : recheio dos pastéis, "capelettis" e raviólis. Os "capelettis" foram os que apresentaram menor variação nesta relação (Tabela 14). As amostras de pastéis apresentaram-se com o valor mínimo de 2,91:1, e valor máximo de 6,94:1, enquanto as de raviólis de 3,22:1 e 12,00:1 (Tabela 14). Observando ainda a Tabela 14, podemos notar que 100% das amostras de "capelettis" e 80% das amostras de raviólis apresentaram uma relação massa : recheio maior que 5:1, ou seja, mais de 5 partes de massa para apenas 1 parte de recheio.

Algumas amostras continham no recheio pedaços de massas misturados à carne e também, algumas vezes, batatas e outros ingredientes. Ainda observamos que as amostras embaladas quase sempre não traziam em seus rótulos a data de fabricação ou validade, bem como a citação dos ingredientes usados na sua elaboração.

No que se refere à relação umidade-proteína dos produtos crus-congelados (Tabela 17), observa-se também uma grande variação nesta relação, como é o caso da amostra 2 de quibe onde esta cifra foi de 8,36 ao passo que a amostra 10 deste mesmo produto revelou 3,73. O mesmo, mas em grau menor, foi verificado nas almôndegas e hamburgueres. Estes dados também sugerem a necessidade de se ela

borarem padrões para esta relação, das mais importantes do ponto de vista de nutrição, porquanto para o consumidor é sempre mais interessante obter produtos com mais proteínas e menos água.

4. CONCLUSÕES

Nas condições do presente estudo parece-nos lícito apresentar as seguintes conclusões:

1. A maioria dos produtos, objeto desta pesquisa, revelou condições higiênico-sanitárias fora dos padrões estabelecidos;

2. das 70 amostras de produtos analisados, 31 revelaram-se positivas para a presença de coliformes fecais, enquanto apenas 11 para Escherichia coli;

3. quanto aos recheios dos pastéis, ravióis e "capelettis", estes apresentaram contagens microbianas mais baixas que os outros produtos estudados, devido, provavelmente, ao fato de serem pré-cozidos;

4. os hamburgueres apresentaram as mais altas contagens microbianas tanto a 35º como a 7ºC, sendo que apenas 30% das primeiras se enquadravam no padrão brasileiro;

5. com respeito aos croquetes, estes apresentaram estafilococos coagulase-positivos em 70% das amostras examinadas; enterococos em 100%; Bacillus cereus em 40% e microrganismos lipolíticos na sua totalidade. Alguns destes também se revelaram positivos para coliformes fecais;

6. os quibes foram os alimentos que apresentaram contaminação com maior risco potencial para o consumidor. Foram os produtos mais al

tamente contaminados por E. coli e mais frequentemente por Clostridium perfringens e Salmonella sp. Estes também apresentaram altas contagens de fungos e leveduras;

7. a maneira dos quibes, as almôndegas também revelaram contagem geral das mais elevadas, tendo demonstrado ainda presença de E. coli no mais alto nível em uma das amostras; enterococos, B. cereus, C. perfringens, Salmonella sp., flora lipolítica, fungos e leveduras;

8. os produtos cárneos crús apresentaram maior carga de microrganismos potencialmente patogênicos, se comparados aos recheios de massas e croquetes;

9. de um modo geral, os produtos adquiridos em estabelecimentos de menor porte apresentaram qualidade microbiológica inferior;

10. com relação à composição química centesimal dos grandes componentes, ficou demonstrada uma grande variação, principalmente no teor proteico e lipídico, variação esta incompatível com o interesse do consumidor;

11. a relação massa : recheio denotou desequilíbrio e mesmo ausência quase que total de recheio, principalmente nos raviólis;

12. estes resultados, além de denotarem a má qualidade de certos produtos, sugerem ainda a necessidade do estabelecimento de padrões não só de qualidade mas também no que se refere à quantidade dos componentes percentuais desses alimentos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALLEN, C.H. & FABIAN, F.W. — Comparision of Escherichia coli and Streptococcus faecalis as test organism to determine the sanitary quality of food. J. Milk Food Technol., 17: 237-242, 1954.
2. ANDERSON, R.E. — Microbial lipolysis at low temperatures. Applied and Environmental Microbiology, 39: 36-40, 1980.
3. ANGELOTTI, R.; FOTER, J.M. & LEWIS, K.H. — Time-temperature effects on Salmonellae and staphylococci in foods. Behavior in refrigerated foods. Am. J. Public Health, 51: 76-88, 1961.
4. A.O.A.C. — Official methods of analysis of the Association Official Analitycal Chemists. 11th ed., Washington, D. C., 1970. 1015p.
5. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. — Recomended methods for examination of foods. 2nd ed., Washington, D.C., Sharf, J.M., 1966. 257p.
6. ————. — Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Washington, D.C., 1976. 680p.
7. ASSOCIATION OF FOOD AND DRUG OFFICIALS, U.S. — AFDOUS, XXX (nº 1), 1966.
8. BAILEY, W.R. & SCOTT, E.G. — Diagnostic microbiology. The C.V. Morby Company, 2nd ed., Saint Louis, 1966.
9. BLOMBERG, B. — Vigilância e segurança dos alimentos.. Higiene alimentar, 1: 24-27, 1982.

10. BURZYNSKA, H; FRASUNKIEWICZ, B; JEDRZEJEWSKA, H.;
 JUCHNOWICZ, I.; LEWICKA, J.; NOWOTKO, S.; WALUKIEWICZ-
 WASILEWSKA, J. & VORROITER, J. — Bacterial contamination
 of refrigerated minced meat. Roczniki Panstwowego
Zakladu Higieny, 20: 271-280, 1969. Apud: Food Science
and Technol. Abstract (vol.1,nº 12, S 883, 1969, em polo
 nês).

11. CARL, K.E. — Oregon's experience with microbiological
 standards for meat. J. Milk Food Technol., 38: 483-489,
 1975.

12. CASTRO, C. de. — Controle de qualidade na indústria de car
 ne. Higiene Alimentar, 1: 1-2, 1982

13. CHESNUT, C.M.; EMSWILER, B.S.; KOTULA, A.W. & YOUNG, E.P. —
 Bacteriological quality of ingredients used in ground
 beef manufacture. J. of Animal Science, 44: 213-217,
 1977.

14. CHORDASH, R.A. & INSALATA, N.F. Incidence and pathological
 significance of Escherichia coli and other sanitary
 indicator organisms in food and water. Food Technology,
32: 54-56, 1978.

15. COMISSÃO NACIONAL DE NORMAS E PADRÕES PARA ALIMENTOS. — Re-
 solução nº 13/78. D.O. da União, 25/7/78. p. 11.616-17.

16. DAINTY, R.H.; SHAW, B.G.; De BOER, KLASKA, A. & SCHEPS, E.
 S.J.—Proteins changes caused by bacterial growth on beef.
J. Appl. Bacteriol., 39: 73-81, 1975.

17. DEIBEL, R.H.; LAKE, D.E. & NIVEN, C.F. Jr. — Physiology of
 the enterococci as related to their taxonomy. J.
Bacteriol., 86: 1275-1282, 1963.

18. DELAZARI, I. — Microbiologia de Carnes. Microrganismos causadores de deterioração da carne e produtos cárneos. Bol. da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas, 49: 3-39, 1979.
19. DITSCHAEVER, C.L.; ARNOTT, D.R. & BULLOCK, D.H. — Bacteriological quality of raw refrigerated ground beef. J. Milk Food Techn., 36: 375-377, 1973.
20. EDEL, W.; GUINEE, P.A.M.; van SCHOTHORST, M. & KAMPELMACHER, E.K. — Salmonella cycles in foods with special reference to the effects of environmental factors, including feeds. Can. Inst. Food Sci. Techn. J., 6: 64-67, 1973.
21. EECKOUTTE, M. — Qualité bacteriologique des viandes hachées. Revue de Médecine Vétérinaire, Tome CXXIX, (10): 1277-1288, 1978.
22. EIROA, M.N.V.; LEITÃO, M.F.F. & LEITÃO, R.F.F. — Determinação de fatores microbiológicos relacionados à conservação de massas alimentícias. Bol. do Instituto de Tecnologia de Alimentos. Campinas, (48): 87-95, 1976.
23. EMSWILER, B.S.; PIERSON, C.J. & KOTULA, A.W. — Bacteriological quality and shelf life of ground beef. Appl. and Environmental Microbiol., 31: 826-830, 1976.
24. EMSWILER, B.S.; PIERSON, C.J. & KOTULA, A.W. — Comparative study of two methods for detection of Clostridium perfringens in ground beef. Appl. and environm. Microbiol., 33: 735-737, 1977.
25. ERDMAN, I.E. — ICMSF methods studies. IV. International collaborative assay for detection of Salmonella in raw meat. Can. J. Microbiol. 20: 715-720, 1974.

26. FONTAINE, R.E.; ARNON, S.; MARTIN, W.T.; VERNON, T.M. Jr.; GANGAROSA, E.J.; FARMER, J.J. III; MORAN, A.B.; SILLIKER, J.H. & DECKER, D.L. — Raw hamburger: An interstate common source of human salmonellosis. Am. J. of Epidemiology, 107: 36-45, 1978.
27. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION — Bacteriological analytical manual for foods. Assoc. Offic. Anal. Chemist. Washington, D.C., FDA, 1976.
28. — — Bacteriological analytical manual for foods. Assoc. Offic. Anal. Chemist. Washington, D.C., 1977. p. VI-1-VI-19.
29. FRAZIER, W.C. — Food Microbiology. New York, McGraw-Hill, 1967. 537 e 450 pp.
30. FRUIN, J.T. — Types of Clostridium perfringens isolated from selected foods. J. Food Protection, 41: 768-769, 1978.
31. FRYER, T.F.; LAWRENCE, R.C. & REITER, B. — Methods for isolation and enumeration of lipolytic organisms. J. Dairy Sci. 50: 477-484, 1967.
32. FUZI, M. & CSUKÁS, Z. — New selective medium for the isolation of Clostridium perfringens. Acta Microbiol., Acad. Sci. Hung., 16: 273-278, 1969.
33. GABIS, D.A. & SILLIKER, J.H. — ICMSF methods studies II. Comparison of analytical schemes for detection of Salmonella in high-moisture foods. Can. J. Microbiol., 20: 663-669, 1974.
34. GANGAROSA, E.J. & HUGHES, J.M. — A public health perspective of microbial standards for meats. Assoc. of Food and Drug Officials, U.S., 41: 23-28, 1977.

35. GILL, C.O. - Substrate limitation of bacterial growth at meat surfaces. J. Appl. Bacteriol., 41: 401-410, 1976.
36. GILL, C.O. & NEWTON, K.G. - The ecology of bacterial spoilage of fresh meat at chill temperatures. Meat Science, 2: 207-217, 1978.
37. GILL, C.O. & NEWTON, K.G. - Growth of bacterial on meat at room temperatures. J. of Appl. Bacteriol., 49: 315-323, 1980.
38. GILL, C.O. & PENNEY, N. - Penetration of bacteria into meat. Appl. Environ. Microbiol., 33: 1284-1286, 1977.
39. GILL, C.O.; PENNEY, N. & NOTTINGHAM, P.M. - Effect of delayed evisceration on the microbial quality of meat. Appl an Environ. Microbiol., 31: 465-468, 1976.
40. GOEPFERT, J.M. - The aerobic plate count, coliform and Escherichia coli content of raw ground beef at retail level. J. Milk Food Technol., 39: 175-178, 1976.
41. GOEPFERT, J.M. - Aerobic plate count and Escherichia coli determination on frozen ground beef patties. Appl. and Environ, Microbiol., 34: 458-460, 1977.
42. GOEPFERT, J.M. & KIM, H.U. - Behavior of selected food-borne pathogens in raw ground beef. J. Milk Food Technol., 38: 449-452, 1975.
43. GOEPFERT, J.M.; SPIRA, W.M. & KIM, H.U. - Bacillus cereus: Food poisoning organisms. A Review. J. Milk Food Technol., 35: 213-226, 1972.

44. GRANER, M.; MARTINELLI, A. Jr. & CRUZ, V.F. da - Microbiologia da carne moída. I. Contagem total de bactérias. Anais da E.S.A. "Luis de Queiroz", XXVIII: 217-226, 1971.
45. GREEN, J.H. & LITZKY, W. - A new medium and "mimic" MPN method for Clostridium perfringens isolation and enumeration. J. Food Science, 31: 610-614, 1966.
46. HARMON, S.M.; KAUTER, D.A. & PELLER, J.T. - Improved medium for enumeration of Clostridium perfringens. Appl. Microbiol., 22: 688-692, 1971.
47. HAUSCHILD, A.H.W. - Food poisoning by Clostridium perfringens. Can. Inst. Food Sci. Technol. J., 6: 106-110, 1973.
48. HAUSCHILD, A.H.W. & HILSHEIMER, R. - Evaluation and modification of media for enumeration of Clostridium perfringens. Appl. Microbiol., 27: 78-82, 1974.
49. HESS, E. - Hygiene during meat production. In: HOBBS, B. C. & CHRISTIAN, J.H.B. - The Microbiological Safety of Food. New York, Academic Press, 1973. 487p.
50. INGRAM, M. & DAINITY, R.H. - Changes caused by microbes in spoilage of meats. J. Appl. Bacteriol., 34: 21-39, 1971.
51. JAY, J.M. - Mechanism and detection of microbiol spoilage in meats at low temperatures: A Status Report. J. Milk Food Technol., 35: 467-471, 1972.
52. KAFEL, S. & BRYAN, F.L. - Effects of enrichment media and incubation conditions on isolating Salmonellae from ground meat filtrate. Appl. and Environ. Microbiol., 34: 285-291, 1977.

53. KIM, H.U. & GOEPFERT, J.M. - Enumeration and identification of Bacillus cereus in foods. Appl. Microbiol. 22: 581-587, 1971.
54. KOBURGER, J.A. - Fungi in Foods. IV. Effect of plating medium pH on counts. J. Milk Food Technol., 35: 659-660, 1972.
55. KOBURGER, J.A. & FARHAT, B.Y. - Fungi in foods. VI. A comparision of media to enumerate yeast and molds. J. Milk Food Technol., 38: 466-468,
56. LADIGES, W.C.; FOSTER, J.F. & GANZ, W.M. - Incidence and viability of Clostridium perfringens in ground beef. J. Milk Food Technol., 37: 622-623, 1974.
57. MARSHALL, R.S.; STEENBERGEN, J.F. & McCLUNG, L.S. - Rapid technique for the enumeration of Clostridium perfringens. Appl Microbiol., 13: 559-563, 1965.
58. MAXCY, R.B. - Surface microenvironment and penetration of bacteria into meat. J. of Food Protection, 44: 550-552 , 1981.
59. MILEV, M. & KOVACHEV, A. - Microbiological and biochemical studies of semi-manufactured meat products. I. Microflora of minced meat. Veterrinarnomeditsinski Nauki, 7: 53-62, 1970. Apud: Food Science and Techn. Abstract (vol.2 n97, 5629, 1970 - em búlgaro).
60. MISKIMIN, D.K.; BERKOWITZ, K.A.; SOLBERG, M.; RIHA, W.E. Jr. ; FRANKE, W.C.; BUCHANAN, R.L. & O'LEARY, V. - Relationships between indicator organism and specific pathogens in potentially hazardous foods., J. Food Sci., 41: 1001-1006, 1976.

61. MOSSEL, D.A.A.; KOOPMAN, M.J. & JONGERIUS, E.- Enumeration of Bacillus cereus in foods. Appl. Microbiol., 15: 650-653, 1967.
62. MOSSEL, D.A.A. & QUEVEDO, F. - Control Microbiologico de los Alimentos. Lima, Univ. Mayor de San Marcos, 1967. 95p. (Serie de monografias del CLEIBA, 1).
63. MOUREY, A. - Donnés sur la quantité et la dés bactéries lipolytiques dans des produits a base de viande. Ann. Nutr. Alim., 32: 843-856, 1978.
64. MUELLER, D.C. - Microbiological safety and palatability of selected vended burgers. J. Milk Food Techn., 38: 135-137, 1975.
65. NEWTON, K.G. & GILL, C.O. - The development of the anaerobic spoilage flora of meat stored at chill temperatures. J. of Appl. Bacteriol., 44: 91-95, 1978.
66. NEWTON, K.G.; HARRISON, J.C.L. & SMITH, K.M. - Coliforms from hides and meat. Appl. and Environ. Microbiol., 33: 199-200, 1977.
67. NG, L. & STILES, M.E. - Enterobacteriaceae in ground meats. Can. J. Microbiol., 24: 1574-1582, 1978.
68. NISKANEN, A. & AALTO, M. - Comparision of selective media for coagulase-positive enterotoxigenic Staphylococcus aureus. Appl. and Environ. Microbiol., 35: 1233-1236, 1978.
69. NORMAS ANALÍTICAS DO INSTITUTO ADOLFO LUIZ. - Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 2ª ed., São Paulo, Instituto Adolfo Lutz, 1976. v. 1.

70. NORTHOLT, M.D. & SCHOTHORST, M. van - Some aspects of the bacteriological quality of meat croquettes.
Voedingsmiddelentechnologie, 3: 53-56, 1972. Apud:
Food Science and Techn. Abstract (vol.4, nº 7, S871, 1972).
71. OBLINGER, J.L. - Recovery of Streptococci from a variety of foods: A comparison of several media. J. Milk Food Techn., 38: 323-326, 1975.
72. OSTOVAR, K. & BREMIER, M.J. - Effect of thawing on growth of Staphylococcus aureus in frozen convenience foods items. J. Milk Food Techn., 38: 337-339, 1975.
73. OSTOVAR, K. & WARD, K. - Detection of Staphylococcus aureus from frozen and thawed convenience pasta products. Lebensm. Wiss u. Techn., 9: 218-219, 1976.
74. PELCZAR, M.; REID, R. & CHAN, E.C.S. - Microbiologia. Trad. de Pereira, M.A.M., São Paulo, McGraw-Hill do Brasil, 1981, v. II, p. 694. Original inglês.
75. PIERSON, C.J.; ENSWILER, B.S. & KOTULA, A.W.- Comparison of methods for estimations of coliforms, fecal coliforms and enterococci in retail ground beef. J. of Food Protection, 41: 263-266, 1978.
76. PIVNICK, H.; ERDMAN, I.E.; COLLINS-THOMPSON, D.; ROBERTS, G.; JOHNSTON, M.A.; GONLEY, D.R.; LACHAPELLE, E.; PURVIS, U.T.; FOSTER, R. & MILLING, M. - Proposed microbiological standards for ground beef based on a Canadian survey. J. Milk. Techn., 39: 408-412, 1976.
77. RAD, B.R. - Bacteriological quality of comminuted meats. The Indian Vet. J., 47: 637-642, 1970.

78. RAYMAN, M.K. - Current concepts in the identification of Staphylococcus aureus in foods. J. Inst. Can. Sci Techn. Aliment., 9: A77-A78, 1976.
79. REIS, M.H.L.; VASCONCELOS, J.C. & TRABULSI, L.R. - Prevalence of enterotoxigenic Escherichia coli in some processed raw food animal origin. Appl. and Environ. Microbiol., 39: 270-271, 1980.
80. REY, C.R.; WALKER, H.W. & ROHRBAUGH, P.L. - The influence of temperature on growth, sporulation and heat resistance of spores of six strains of Clostridium perfringens. J. Milk Food Techn., 38: 461-465, 1975.
81. RIEMANN, H. - Curso de Intoxicação e Infecção Alimentar. Trad. Yokoia, F.; Leitão, M.F.F. e Delazari, I. Campinas, Fundação Centro Tropical de Pesquisas de Alimentos, 1972. 211 p. Original Inglês.
82. ROBERTS, T.A.; BRITTON, C.R. & HUDSON, W.R. - The bacteriological quality of minced beef in the U.K. J. Hig. Camb., 85: 211-217, 1980.
83. ROELOFSEN, M.; TAMMINGA, S.K. & KAMPELMACHER, E.H. - The temperature curve and death rate of Salmonella utrecht during heating of minced meat. Voedingsmiddelentechnologis, 4: 8-9, 11-13, 1973. Apud: Food Science and Techn. Abstract, (vol.6, nº 4, S 440, 1974).
84. ROGERS, R.E. & McCLESKEY, C.S. - Bacteriological quality of ground beef in retail market. Food Technol., 11:318-320, 1957.

85. SERRANO, A.M. - Incidência de Clostridium perfringens em alimentos, um surto de intoxicação e evidenciação da prova de lecitinase. Campinas, 1976 (Tese de doutoramento - FEAA, Univ. Estadual de Campinas).
86. SHAHIDI, S.A. & FERGUSON, A.R. - New quantitative, qualitative, and confirmatory media for rapid analysis of food for Clostridium perfringens. Appl. Microbiol., 21: 500-506, 1971.
87. SHOUP, J.G. & OBLINGER, J.L. - Microbiological evaluation of retail ground beef: Centralized and traditional preparation. J. Milk Food Techn., 39: 179-183, 1976.
88. SILLIKER, J.H. & GABIS, D.A. - ICMSF methods studies. V. The influence of selective enrichment media and incubation temperatures on the detection of Salmonellae in raw frozen meats. Can. J. Microbiol., 20: 813-816, 1974.
89. SOLBERG, M.; MISKIMIN, D.K.; MARTIN, B.A.; PAGE, G.; GOLDNER, S. & LIBFELD, M. - Indicator organisms, food-borne pathogens and food safety. Association of Food & Drug Officials, U.S., 41: 9-21, 1977.
90. SOUNIS, E.L. de M. - Curso Prático de Microbiologia. São Paulo, McGraw-Hill do Brasil, 1967, 267 p.
91. SOUTHWORTH, J.M.L. & STRONG, D.H. - Comparision of media for the isolation of Clostridium perfringens from food. J. Milk Food Techn., 27: 205-209, 1964.
92. SPICHER, G. - Ocorrencia of aflatoxin in bakery products. Getreid, Mehl und Brot, 28: 172-176, 1974. Apud: Food Science and Techn. Abstract (vol. 6, nº 12, M1700, 1974).

93. STEPHENS, R.L. - Bacteriological standards for foods: A retail point of view. Chemistry and Industry, 220-222, 1970.
94. STOLE, A. - Spreading of Salmonellae during cattle slaughtering. J. of Appl. Bacteriol., 50: 239-245, 1981.
95. THOMASON, B.M. & DODD, D.J. - Comparison of enrichment procedures for fluorescent antibody and cultural detection of Salmonellae in raw meat and poultry. Appl. and Environ Microbiol., 31: 787-788, 1976.
96. THOMASON, B.M. & DODD, D.J. - Enrichment procedures for isolating Salmonellae from raw meat and poultry. Appl. and Environ Microbiol. 36: 627-628, 1978.
97. TIWARI, N.P. & MAXCY, R.B. - Impact of low doses of gamma radiation and storage on the microflora of ground red meat. J. Food Sci., 36: 833-834, 1971.
98. TIWARI, N.P. & MAXCY, R.B. - Comparative growth of Salmonella and coliforms, and other members of the microflora of raw and radurized ground beef. J. Milk Food Techn., 35: 455-460, 1972.
99. TORTEN, J. & WHITAKER, J.R. - Evaluation of the biuret and dye-binding methods for protein determination in meats. J. Food Science, 29: 168-174, 1964.
100. TUOMI, S.; MATTHEWS, M.E. & MARTH, E.H. - Behavior of Clostridium perfringens in precooked chilled ground beef gravy during cooling holding and reheating. J. Milk Food Techn., 37: 494-498, 1974.

101. VASSILIADIS, P.; PAPADAKIS, J.A.; KARALIS, D. & TRICHOPOULOS, D.
Enrichment in Muller-Kauffman's broths Rappaport's broth
from buffered peptone water in the isolation of SALMONELLAE
from minced meat. J. Appl. Bact., 40: 349-354, 1976.
102. VILLAR, L.M.P.; MARTEACHE, A.H. & LORA, R.P. - Calidad
microbiologica de platos precocinados congelados españo-
les, elaborados con productos carnicos. I. Microorganismos
indicadores. Anal. Bromat., XXIX-1: 13-34, 1977^a.
103. VILLAR, L.M.P.; MARTEACHE, A.H. & LORA, R.P. - Calidad
microbiologica de platos precocinados congelados españo-
les, elaborados con productos carnicos. II. Estafilococos
patogenos, Clostridium perfringens y Salmonelas. Anal.
Bromat. XXIX-2: 135-148, 1977^b.
104. WALBEEK, van W. - Fungal toxins in foods. Can. Inst. Food
Sci. Technol. J., 6: 96-104, 1973.
105. WEATHERBY, L.S.; McILVAINE, L. & MATLIN, D. - Butyric. J.
of the Am. Chemical Society, 47: 2249-2253, 1925.
106. WESTHOFF, D. & FELDSTEIN, F. - Bacteriological analysis of
ground beef. J. Milk Food Techn., 39: 401-404, 1976.
107. WINSLOW, R.L. - A retailer's experience with the Oregon
bacterial standards for meat. J. Milk. Food Techn., 38:
487-489, 1975.
108. YONATAN, M.T. & WATTS, B.M. - Oxidation of tissue lipids in
cooked pork. Food Research, 25: 538-543, 1960.