

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE RIO GRANDE

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DA INDUSTRIA-
LIZAÇÃO DE FILÊS DE CASTANHA (Umbri-
na canosai) E DE CORVINA (Micropogon
furnieri)E VISCERADA, CONGELADAS.

NEUSA RIBEIRO COSTA
ENGENHEIRO INDUSTRIAL MODALIDADE QUÍMICA

ORIENTADOR:
PROF.DR. FUMIO YOKOYA

TESE APRESENTADA À FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS E AGRÍ-
COLA DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS; PARA OBTENÇÃO DO TÍ-
TULO DE MESTRE EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, ÁREA DE PESCADO.

1978

RECEBIDA
BIBLIOTECA

Dedico este trabalho

aos meus pais e
minhas irmãs

RESUMO

Foi efetuado um estudo microbiológico das condições de processamento industrial de filês de Castanha (Umbrina canosai) e Corvina (Micropogon furnieri) eviscerada congelados. As amostras foram coletadas numa das indústrias de Rio Grande (RS), seguindo-se o fluxograma, desde o pescado no barco até o produto congelado. A indústria, como as demais deste ramo, opera com mesas metálicas com tampos de madeira, cuja higienização é feita por imersão em água contendo 50 ppm de cloro livre.

Foram verificadas as variações de carga bacteriana ao longo do processo, mediante contagem total de bactérias, número mais provável (NMP) de coliformes totais, coliformes fecais e de enterococos nos pescados.

Visando reduzir a contaminação do produto final, efetuamos a higienização dos tampos das mesas com solução de iodoform a 46 e 160 ppm de iodo livre, bem como substituímos as superfícies de madeira por chapas de aço inoxidável. Após introduzidas as alterações citadas, realizamos análises microbiológicas de controle.

O tratamento com iodoform a 46 ppm de iodo livre - apresentou maior eficiência do que o realizado com hipoclorito a 50 ppm de cloro livre, mas no que se refere a espécies bacterianas de interesse a saúde pública não houve variações sensíveis entre as duas soluções saneantes. O sistema tradicional, mesas de madeira e higienização com água a 50 ppm de cloro livre, pode ser substituído vantajosamente, sob o ponto de vista bacteriológico, pelo uso de mesas revestidas com chapa de aço inoxidável, porém resta superar os problemas técnicos-advindos desta substituição.

SUMMARY

Microbiological studies were carried out on the industrial processing conditions of Castanha (Umbrina canosai) fillets and eviscerated Corvina (Micropogon furnieri), both frozen. Samples were collected in an industry of Rio Grande (RS), following the flow diagram from the raw fish onboard the vessel to the final frozen product. The industry, like others of same kind, operates with cutting tables of hard wood surface sanitized with immersion in water containing 50 ppm of available chlorine.

Variations in the bacterial load were measured along the processing through the total bacterial count, coliforms count, fecal coliforms and enterococci in the products.

The reduction in microbial load of the final product was attempted by sanitizing table's surface with iodophor solution of 46 and 160 ppm of residual iodine, as well as by replacing wood cover by stainless steel plate.

The treatment with iodophor solution of 46 ppm of residual iodine was more effective on total microbial counts than 50 ppm of available chlorine of hypochlorite, but no sensible difference was shown on species of public health interest.

The replacement of the traditional system, v.g., wooden table and sanitation with 50 ppm of residual chlorine, with stainless steel table can be advantageous on bacteriological point of view, but the technical problems involved in stainless steel table are extremely hard to overcome.

I - INTRODUÇÃO

A castanha (Umbrina canosai) e a corvina (Micropogon furnieri) são duas das espécies de pescado de maior expressão no Rio Grande do Sul. As mesmas são capturadas durante todo o ano, sendo mais abundantes nos períodos de inverno e primavera, e amplamente utilizadas na indústria.

Conforme mostram os dados estatísticos da SUDEPE, em sua publicação nº 15, da série Documentos Opcionais, a corvina representava, em 1974, 16 % das capturas nacionais e 17 % do pescado desembarcado no Rio Grande do Sul, enquanto que a castanha neste mesmo ano, 13 %, chamando a atenção de que, desde 1972, a captura da corvina vem decrescendo, enquanto que o oposto ocorre com a castanha. Também, esta publicação indica que, em 1974, 40,6 % do pescado comercializado no Rio Grande do Sul se referia a congelados. Do total de 20.980,8 toneladas de pescado congelado em 1974, a corvina contribuiu com 24,5 % e a castanha com 15,5 %.

Em 1975, as estatísticas da SUDEPE-PDP, Rio Grande, ainda não publicadas, indicam que a corvina representou 16,8 % e a castanha 14,9 % do total capturado (102.999,8 ton) e, com relação aos pescados congelados, esta espécie atingiu 13 %, enquanto que a corvina representou 20,7 % do total comercializado (21.190,8 ton).

A captura total no Rio Grande do Sul, em 1976, foi de 117.263,1 ton, das quais 14 % e 16 % correspondem a corvina e castanha, respectivamente, tendo sido comercializadas 23.041,5 ton de pescado congelado, correspondendo a corvina 25,2 % e a castanha 15,6 %.

No primeiro semestre de 1977 tivemos uma captura de 46.060,4 ton de pescado, sendo 17,9 % relativo a corvina e 6,5 %, a castanha.

Acredita-se que haja ocorrido transformações nestes dados durante o segundo semestre de 1977, devido a grande predominância -

na captura da castanha em relação as demais espécies de pescado, principalmente se considerarmos que no primeiro semestre de 1976 tínhamos 16% de corvina contra 8,9% de castanha, tendo esta última espécie predominado no cômputo da captura anual.

Devido a importância que representam estas espécies, fez-se um estudo das condições de manipulação industrial das mesmas. É necessário certo cuidado para evitar a ocorrência de contaminação na filetagem e evisceração, uma vez que o congelamento não anulará este efeito.

Sabe-se que baixas temperaturas não exercem efeito letal sobre todas as espécies bacterianas, as quais tornam a se desenvolver após o descongelamento do produto, recomeçando o processo deteriorativo do alimento.

Visando colaborar com as indústrias e autoridades sanitárias efetuamos um controle microbiológico ao longo das linhas de processamento de filês de castanha e de corvina eviscerada, ambos os produtos congelados, do qual fazem parte contagem total de bactérias, contagens de coliformes e de enterococos.

Além disso, foram realizados estudos no sentido de se verificar as vantagens de substituir as soluções de hipoclorito por soluções de iodoform na higienização das mesas operacionais, bem como a substituição dos seus tampos de madeira por outros revestidos com chapas de aço inoxidável.

A tentativa do uso de iodoform se justifica, pois vários pesquisadores concluíram ser este composto mais efetivo do que o hipoclorito, quando aplicados em indústrias de laticínios, cervejarias (10), na desinfecção de águas (Chang, 1957) e para a limpeza e desinfecção de continentes para pescado (62). Braithwaite (10) menciona que o iodo, devido ao seu grande tamanho iônico (peso iônico 127), tem menor poder

oxidante do que o cloro (peso iônico 35,5) e por conseguinte é menos sensível a matéria orgânica. Também os iodoforos são menos afetados por variações de pH e temperatura do que as soluções de hipoclorito, sendo que os iodoforos são praticamente estáveis à matéria orgânica entre as temperaturas de 5 a 35°C.

O uso de chapas de aço inoxidável, no revestimento dos tampos das mesas de filetagem e evisceração, é uma de corrência do sucesso da aplicação deste material em frigoríficos e outras indústrias de alimentos e pela facilidade na sua limpeza e desinfecção.

II-REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A. Microbiologia dos Peixes e de seus Produtos

Enquanto vivo, a pele do peixe atua como uma barreira mecânica à penetração das bactérias, razão porque o seu músculo, quando recentemente capturado, é considerado estéril. Logo após a morte, o peixe perde suas defesas, tornando-se vulnerável ao ataque microbiano. O tipo de deterioração observado pode ser, em grande parte, atribuído a alterações nos tecidos dos peixes, causadas pelo ataque de tipos específicos de bactérias e dos produtos gerados pelas mesmas. A extensão da deterioração é determinada, principalmente, pela carga bacteriana inicial, pela temperatura do músculo do peixe, pelo tempo decorrido após a sua morte e tipo de procedimento sanitário praticado.

Bedford (8) concluiu que a flora marinha do Oceano Pacífico Norte, tem sua temperatura ótima de crescimento entre 20 - 25°C, existindo poucas exceções, cujo crescimento máximo ocorre a 37°C. A temperatura máxima de crescimento varia entre 25 e 45°C, sendo letais, as temperaturas de 37 a 40°C, para a maioria das espécies examinadas. As temperaturas mínimas de crescimento destas bactérias é de -7,5 e -5°C.

Griffiths (34) efetuou uma revisão bibliográfica sobre a bacteriologia dos peixes marinhos e de seus produtos e observou que vários pesquisadores identificaram na flora da superfície dos peixes marinhos os seguintes gêneros Achromobacter, Micrococcus, Pseudomonas, Proteus e Sarcina.

Notou que a flora dos intestinos e vísceras dos peixes é dependente do tipo de alimento por ele ingerido, e que durante o seu período de migração, quando não se alimenta, o seu trato intestinal é aparentemente livre de bactérias. Os mesmos pesquisadores consideraram ser improvável que nos intestinos dos peixes existisse uma flora comensal típica, similar aquela que ocorre nos mamíferos.

Os grupos de organismos que predominam nos processos de

infecção do músculo do pescado após sua captura e processamento industrial são:

Staphylococcus, Pseudomonas, Flavobacterium, Achromobacter, Escherichia, Bacillus e Serratia.

Escherichia coli não é um habitante normal dos intestinos e vísceras dos peixes marinhos. Sua ocorrência nos intestinos e músculo de peixes ou em filês indica que a captura se deu em águas poluídas ou que ocorreu contaminação durante o transporte, manipulação ou comercialização.

Reay e Shewan (53) e Tarr (62) verificaram que nos peixes predominam as bactérias dos gêneros Achromobacter, Pseudomonas, Flavobacterium e Micrococcus e menos frequentemente Sarcina, Proteus e Bacillus. No trato digestivo, além dos gêneros citados, ocorrem Clostridium, incluindo C. botulinum, C. tetani, C. sporogenes, C. capitovalis, e certas espécies não identificadas. Organismos coli-aerógenos somente estão presentes em peixes capturados em águas contaminadas, associadas com a flora intestinal normal. A distribuição genérica da flora deteriorante é muito variável, segundo os diferentes investigadores. Todavia, nota-se preponderância inicial de Micrococcus e Flavobacterium, que são gradualmente substituídas por espécies fortemente proteolíticas Pseudomonas ou Achromobacter. Esta sucessão se aplica aos teleosteos, mas não aos peixes classificados como elasmobrânquios.

A deterioração do peixe, como de outros alimentos, é usualmente uma consequência dos efeitos da autólise, oxidação e atividade bacteriana.

As variações em número e espécie de bactérias originalmente presentes no peixe e de subsequente contaminação durante a manipulação e distribuição estão sujeitos a uma série de fatores ecológicos e sazonais e, talvez, com as espécies de peixe. Além disso, o curso da deterioração também está sujeito a fatores ambientais, principalmente a temperatura.

Castell (15) efetuou o controle da contaminação de filês,

examinando 78 exemplares colhidos em duas fábricas canadenses, tendo as amostras preparadas sido inoculadas em placas, as quais foram incubadas a quatro temperaturas diferentes, 2,7°C, 7,2°C, 25°C e 37°C. As maiores contagens foram obtidas a 25°C e as menores a 37°C, conforme o quadro a seguir:

| Temperaturas de incubação das placas | Média da contagem bacteriana/g peixe | |
|---|--------------------------------------|-------------|
| | Fábrica "A" | Fábrica "B" |
| 37°F (2,7°C) | 548.000 | 618.000 |
| 45°F (7,2°C) | 637.000 | 969.000 |
| 77°F (25° C) | 963.000 | 1.315.000 |
| 98°F (37° C) | 309.000 | 315.000 |

O autor observou que os resultados acima foram obtidos - em duas das melhores fábricas do país, e que dificilmente outro alimento perecível iniciasse a jornada da fábrica ao consumidor com um "handicap" tão negativo quanto este, de possuir em média 1.000.000 de bactérias por grama.

Dyer e Dyer (29) estudando a deterioração de filês recém cortados, concluíram que: 1) Os filês recentemente cortados são estéreis, exceto por contaminação introduzida pelo contato com facas, mesas sujas, mãos dos manipuladores e outros possíveis na ocasião. Naturalmente se as mesas e facas forem limpas seguidamente, a contaminação dos filês será reduzida, pois as fontes de contaminação serão as cargas bacterianas existentes na pele e vísceras. 2) O processamento dos filês em boas condições sanitárias poderá reduzir consideravelmente a contaminação dos filês e conseqüentemente o produto terá elevado o tempo de conservação. 3) A deterioração dos filês depende da extensão da contaminação com bactérias e não está relacionada com o conteúdo inicial de TMA (Trimetil amina), a qual somente indica a palatabilidade.

Castell (16), pesquisando o efeito da extensão da contaminação dos filês na taxa de deterioração, verificou que há uma relação muito definida entre o número de bactérias no filê o tempo de sua conservação, sendo que uma grande contaminação corresponderá a uma rápida deterioração. Além disso, verificou-se que existem outros fatores, além do número de bactérias, que influenciam na velocidade de deterioração. Quando o peixe é gelado ou mantido em refrigeradores a temperaturas próximas a do gelo, as bactérias que tem interesse nos processos de deterioração são aquelas hábeis em crescer a baixas temperaturas, e estas são as que determinam o tempo de conservação do produto. As principais fontes destas bactérias são o muco e as fezes do próprio peixe e, em menor extensão, as do gelo sujo. Na prática, é impossível que plantas comerciais venham produzir filês inteiramente livres de contaminação bacteriana, mas existem muitas razões para se acreditar que a normal e abundante contaminação do peixe pode ser reduzida através de práticas que previnam, direta ou indiretamente, a transferência de bactérias da superfície do peixe para a superfície dos filês.

Reay (52) mencionou que os agentes causadores das mais notáveis alterações no aroma, sabor e aparência do peixe são as bactérias comuns ao solo e águas, as quais habitam o mar e estão presentes nos peixes recém capturados, e as das superfícies com as quais entra em contato durante a manipulação normal, estocagem e distribuição. A flora é aeróbica. Os anaeróbios estritos, ainda que presentes no trato gastrointestinal, não contribuem significativamente na deterioração. Os grupos bacterianos de maior interesse são: Achromobacter, Flavobacterium, Micrococcus, Pseudomonas e Bacillus.

A maioria destes organismos marinhos são psicrófilicos, crescendo a baixas temperaturas, como $-7,5^{\circ}\text{C}$. Para a maioria, a temperatura ótima de crescimento varia entre 10 e 20°C .

Em peixes completamente deteriorados, a população bacteriana geralmente varia entre 10^6 a 10^8 por grama de limo, guelras ou músculo. Em geral, todos os grupos de bactérias marinhas deterioradoras

contêm membros que exibem atividade proteolítica, capacidade de redução do TMAO (óxido de trimetilamina), degradação de lipídios e carboidratos.

Reay (52), Reay e Shewan (53) e Shewan (56) concluíram - que a contagem bacteriana, pelos métodos de cultura, são valiosos em pesquisas e, em casos especiais, para a indicação da história sanitária da manipulação do peixe, mas lentos para testes de rotina.

Hess (37) concluiu que as contagens totais de bactérias tem seu valor por indicar as condições sanitárias de barcos e plantas, porém em limitada extensão. A contagem das bactérias que tem capacidade de reduzir o TMAO a TMA, especialmente em peixes não gordurosos, pode representar um bom indicador sanitário. Algumas bactérias que são muito ativas na redução do TMAO e causadoras de proteólise a "temperatura ambiente" são praticamente inibidas à temperatura do gelo, daí mais uma razão para que os peixes sejam resfriados com gelo moído logo após a sua captura e mantidos nesta condição enquanto não forem processados.

Sistemas de higienização das plantas de pescado, envolvendo lavagem e cloração, tem mostrado poder reduzir as chances de contaminação do alimento a um mínimo em todos os estágios de manipulação, desde o mar até o consumo. Comercialmente o resfriamento, (0°C a -1°C), do peixe é o mais prático e efetivo meio de controle do crescimento de bactérias, bem como de suas ações deterioradoras. Muitas vezes são encontrados, nos barcos, peixes, cuja temperatura é de 5°C ou mais, e este fato é um dos grandes responsáveis pela pobre qualidade do peixe descarregado. Estas temperaturas aliadas as longas viagens dos barcos pesqueiros, estendendo-se não somente alguns dias, mas algumas semanas, limitam a preservação da qualidade do peixe, fazendo com que parte do mesmo seja encaminhado para a produção de farinha. É aconselhável arrumar o peixe em finas camadas, alternadas com gelo moído, para que todo o peixe tenha sua temperatura abaixada a 0°C o mais rapidamente. A solução para o caso de longas viagens seria a de praticar o rápido congelamento a bordo.

Castell (19) concluiu que a deterioração do pescado é o resultado da atividade de grandes números de bactérias, e como medidas saneadoras indica: a) Prevenção da transferência de bactérias de outros lugares para a superfície do peixe ou do filé. b) Resfriamento mais rápido possível à temperaturas próximas a do ponto de congelamento. c) Retardar o crescimento ou atividade bacteriana, mediante o uso de preservativos químicos.

Castell (18) pesquisando a redução da contaminação bacteriana dos filés através da lavagem do peixe inteiro e pelo uso de máquina peladora adaptada concluiu que: 1) Lavando o peixe antes da filetagem, haverá uma redução na contagem bacteriana dos filés de 80 a 99 % e adicionará de 1 a 6 dias o tempo de conservação dos mesmos, quando estocados a 0°C. 2) Quase o mesmo resultado pode ser obtido usando uma peladora, que reduz a contaminação grosseira que ocorre quando o peixe tem sua pele retirada manualmente.

Ainda no que se refere a lavagem dos peixes, verificou que os filés obtidos de peixes realmente frescos e que sofreram uma lavagem eficiente tem, geralmente, seu tempo de estocagem aumentado de 4 para 6 dias. Se os peixes forem de média qualidade, seus filés se conservarão por mais dois ou tres dias, mas se o peixe já é de má qualidade, a lavagem, mesmo eficiente, não adicionará mais do que 24 ou 36 horas ao tempo de conservação quando estocados no gelo.

Liston (45) evidenciou as vantagens obtidas da lavagem do peixe e das superfícies de contato com água clorada, entre as quais, a de ajudar a reduzir a flora deteriorante, bem como reconheceu a importância que baixas temperaturas e manipulação rápida exercem no controle de bactérias deteriorantes dos peixes.

B. Contagens Bacterianas em Pescados

Castell, Anderson e Pivnick (21) e Tarr (62), pesquisando a relação entre a contagem bacteriana e a qualidade dos filés de

peixes, concluíram que as contagens bacterianas são insignificantes como medida de deterioração de filês frescos. Há uma correlação muito forte entre o número de organismos psicrófilos gram-negativos, em filês e seu tempo de conservação em estocagem a frio. Esta correlação degenera em tendência geral, a qual não pode ser sempre aplicada a amostras individuais, se as contagens usadas incluírem todos os organismos que crescem nas placas incubadas a 25°C. Contagens feitas em placas incubadas a 37°C não tem valor para a estimativa da conservação da qualidade dos filês estocados a baixas temperaturas.

Uma determinação direta do número de bactérias em músculo de peixe foi realizada em teste extremamente rápido, e seus resultados comparáveis aos obtidos em contagem de viáveis. A objeção a este método é ser aplicável só para contagens superiores a 10^5 por grama, entretanto esta carga é comum nos filês adquiridos nos mercados. Um aspecto negativo quanto ao uso de contagem de bactérias viáveis na determinação da qualidade dos filês de peixes muito frescos é que, devido a fase de crescimento estacionário inicial, não há relação entre a contagem obtida e a provável conservação da qualidade do produto. Este pesquisador considera que a contagem bacteriana, baseada no número de organismos dos gêneros Pseudomonas e Achromobacter presentes, poderá prover uma indicação mais real da qualidade do peixe do que uma contagem total.

Elliott (30) indica a contagem total de bactérias, em placas, como um teste valioso no estudo dos produtos de pescado, o qual é um índice do grau de contaminação a que o peixe esteve sujeito, e que usado em conjunto com outros testes de frescor, um índice da preservação da qualidade. Além disso, as contagens são especialmente úteis na determinação das fontes de contaminação nas linhas de processamento do pescado. Face a estas considerações, efetuou um estudo dos vários métodos recomendados para contagens totais de bactérias em produtos de pescado, estudando todas as variáveis envolvidas, individualmente e relacionando-as entre si. As variáveis analisadas foram: amostragem, homogeneização, diluente, pH do meio, temperatura e tempo de incubação.

Quanto a mecânica de preparação das amostras, ficou comprovado que a homogeneização com liquidificador tipo "Waring-blendor" dá resultados muito mais reproduzíveis para contagens de colônias do que a moagem e agitação. Recomenda o uso de diluentes e copos de liquidificador a baixas temperaturas, pois poderá ocorrer uma elevação muito acentuada da mesma e conseqüente redução do número de bactérias. - Quando o material é resfriado adequadamente, a elevação da temperatura não oferecerá problemas. Foi adotado uma agitação no "Waring-blendor" durante dois minutos. Recomenda tomar uma alíquota de 150 g de amostra e 150 ml de diluente, homogeneizar e, então, preparar a diluição 10^{-1} (20 g do homogeneizado e 80 g de diluente) e séries decimais subsequentes, evitando o aparecimento de espuma. Quanto ao tempo de agitação, foi estabelecido ser de 2 a 4 minutos os que melhores reprodutibilidade oferecem, além de fixar bem a amostra, dando resultados idênticos - as placas inoculadas com o líquido sobrenadante ou com igual volume da mistura homogênea, e, somente após algumas horas de fixação, alguma inconsistência pode ser notada. O melhor diluente foi a água do mar, - quando confrontada com água destilada, água tamponada por fosfato, solução salina fisiológica e água. Quanto ao pH, o indicado foi 7,0 ou ligeiramente ácido.

No que se refere a meios de cultura, entre vários meios estudados, os que se mostraram mais adequados foram "Nutrient Agar", feito com água do mar, este mesmo meio, porém adicionado de 1,5 % de cloreto de sódio, e meio de cultura 2216 Difco. Como o segundo apresentou melhor performance frente a amostras de ostra, e a diferença entre o primeiro e o segundo quando testado com peixes ter sido mínima, o segundo foi indicado pelo autor.

As temperaturas mais indicadas para o crescimento da flora deterioradora do peixe e outras bactérias marinhas situam-se entre 20 e 25°C, e incubação durante 4 a 7 dias. As incubações a estas temperaturas dão contagens bem mais altas do que as obtidas a 37°C.

Ross e Thatcher (54) utilizaram alíquotas de 50 g e as homogeneizaram com 450 ml de água destilada estéril, em liquidificador "Waring-blendor". Para contagem total em placas utilizaram o meio de

cultura agar triptona glicose extrato de carne (agar TGE), incubando as placas a 37°C, durante 48 horas. Este meio foi empregado, não só para peixes, mas também com vários outros alimentos congelados pré-cozidos.

Larkin, Litsky e Fuller (43) confrontaram duas técnicas de preparo da amostra, i.é., 50 g de amostra e 450 ml de água esterilizada, homogeneizados em liquidificador "Waring-blendor" durante dois minutos, e alíquota de 20 g transferidas para um frasco contendo 180 ml de água esterilizada, agitando, manualmente 25 vezes. Para a contagem total em placas usaram agar TGE, incubando a 32°C. Os autores concluíram que a técnica de agitação manual pode ser empregada no exame de produtos de pescado congelado, quando são feitos exames iniciais de controle. Nos casos em que se necessita grande precisão, é necessário o uso do liquidificador, e que os procedimentos de contagem total não são aplicáveis ao exame de produtos congelados de pescado.

Raj e Liston (49) e (50) realizaram um estudo bacteriológico numa planta de processamento de pescado congelado e seus produtos. Cada amostra foi simultaneamente testada através de contagem total de viáveis a 20 e 35°C, número mais provável de coliformes, enterococos, Streptococcus hemolyticus, E. coli, Staphylococcus coagulase positiva.

Uma definida relação com base na frequência foi feita para produtos não cozidos, entre a contagem total a 35°C e a ocorrência de bactérias de significação em saúde pública, uma contagem de 10⁴ ou mais por grama é acompanhada por contagens de coliformes e enterococos de 10¹ a 10³/g, enquanto que contagens menores do que 10⁴ por grama, usualmente indicam contaminação negligível de coliformes e enterococos. As contagens a 20°C deram, geralmente, valores 10 vezes maior do que as obtidas com incubação a 35°C.

Recomendam a adoção de práticas higiênicas adequadas na indústria de alimentos, pois com isto serão minimizadas, facilmente, as altas cargas de contaminação dos produtos nela processados.

Hayward e MacCallum (36), em suas análises de filés congelados, obtidos de pescados congelados no mar e descongelados na plan-

ta de processamento, utilizaram como meio de cultura para contagem total de viáveis, executada mediante o uso de contagem padrão em placas e agar nutriente adicionado de 5 g de cloreto de sódio, pH ajustado em 7,0, a temperatura de incubação de 25°C. As amostras foram preparadas a partir de alíquotas de 100 g de filês transferidas para jarra previamente esterilizada, e homogeneizada a alta velocidade, durante 2 minutos, juntamente com 300 g de água a 0,1 % de peptona. As médias das contagens variaram entre 4.000 e 15.000 bactérias por grama.

Concluíram que o método de contagem de bactérias se mostrou útil para avaliar os aspectos sanitários durante o processamento dos filês.

Lane (41) recomenda que sejam efetuadas as seguintes análises bacteriológicas: contagem total em placas, coliformes, Salmonella, E. coli e Staphylococcus coagulase positiva. Sugere que ações remediadoras sejam tomadas se as contagens totais em placas excederem a 200.000 microrganismos por grama de produto.

O Departamento de Pesca do Canadá (26) sugere, para padronizar as análises bacteriológicas do pescado, os seguintes procedimentos: Preparo da amostra, tomando-se alíquotas de 50 g \pm 2 g, colocadas em copo de liquidificador "Waring-blendor" ou "Servall Omni-Mixer", juntamente com quantidade suficiente de água a 0,1 % de peptona para que se obtenha a proporção 1:10, homogeneizando durante 2 minutos. Após, proceder séries de diluições decimais sucessivas até 10⁵. O meio de cultura indicado foi agar TGE da Difco ou seu equivalente. Os inóculos são de 1 ml, colocados em placas estéreis, após o que são adicionados de 12 a 15 ml do meio a 42 - 45°C. O tempo entre a homogeneização da amostra e o plaqueamento não deve exceder de 20 minutos. A incubação deve ser feita a 25°C durante 72 horas \pm 4 horas. Devem ser computadas todas as colônias presentes nas placas que contenham 30 a 300 colônias. Recomendam expressar os resultados, adotando a média logarítmica das contagens individuais.

C. Presença de Coliformes e Enterococos em Pescados

Há vários anos vem sendo estudada a validade da utilização dos microrganismos pertencentes ao grupo coliforme como indicador sanitário das plantas que processam alimentos. Esta preocupação se deve a fatos como a comprovação de que vários integrantes deste grupo, como Enterobacter não são originários de fezes humanas e de animais, como ocorre com a Escherichia coli, mas do solo, água, frutas, etc., e que, por isto, tem significação duvidosa (1).

Dado a estas ocorrências, não se pode afirmar que a presença do grupo coliforme represente poluição do produto por matéria de origem fecal. Além disto, também, a sensibilidade destes organismos a variações de temperaturas, entre outros fatores, que afetam um alimento durante o seu processamento, tornam-os inadequados como indicador da qualidade higiênica de alimentos congelados.

Buscando um novo critério de medir a possível contaminação dos materiais alimentares por falta de condições higiênicas durante a sua manufatura, as atenções se voltaram para os enterococos, ou mais especificamente para o Streptococcus faecalis, o qual comprovadamente tem origem fecal, e sua ocorrência fora do corpo animal é atribuída a taxa de sobrevivência e não ao crescimento (12) e (44).

Em contraste com os integrantes do grupo coliforme, os enterococos tem sido apontados como excepcionalmente resistentes a baixas temperaturas e a condições adversas (11).

Em 1949, Burton (11) concluiu, examinando vegetais congelados, que para o controle dos produtos, antes do congelamento ou mesmo após sete dias de estocagem do produto congelado, era mais expressivo o índice de coliformes, todavia, passado este período o índice de enterococos deva uma informação mais exata sobre as condições de higiene do produto, devido a alta sensibilidade do grupo coliforme a baixas temperaturas, enquanto que o número de enterococos permanecia quase constante, mesmo após um ano de estocagem a -20°C .

Allen e Fabian (1) e (2) estudaram a viabilidade da E. coli e do Streptococcus faecalis, obtidos de culturas puras, em vários alimentos, os quais diferiam em composição química, valor nutritivo, grau de acidez, consistência e teor de umidade. Para estas verificações utilizaram como meios de cultura para a E. coli caldo lauryl sulfato triptose e caldo lactosado, incubados por 16 a 36 horas a 30°C, observando a percentagem de gás formado e após repicando para caldo lactosado bilis verde brilhante para teste confirmativo; enquanto que para o Streptococcus faecalis foram empregados tubos contendo caldo azida dextrose, observando a formação de turbidez após 16 a 36 horas de incubação, aplicando, após, a técnica de coloração de Gram. Para esta verificação dividiram os alimentos em tres grupos, de acordo com o pH, grupo I - pH 6,7 a 4,8, grupo II - pH 4,8 a 3,5 e grupo III - pH 3,8 a 2,8. Concluíram que as melhores possibilidades de aplicar o teste para E. coli, a fim de determinar a qualidade sanitária, ocorre com os alimentos do grupo I, pois os organismos permaneceram viáveis após os 7 dias de estudo. Para os alimentos do grupo II não houve crescimento de E. coli tão bom quanto para o caso anterior, e para o grupo III, houve somente pequena formação de gás com 16 horas e as reações positivas ocorreram somente um dia ou no máximo por dois dias. Os Streptococcus faecalis permaneceram viáveis durante um tempo maior do que a Escherichia coli quando inoculados em alimentos do grupo III (maionese, suco de laranja, etc.). Todavia o critério de turbidez não é praticável, pois tubos considerados negativos, pela técnica de Gram resultaram positivos para Streptococcus faecalis, e outros, apesar da turbidez, não tinham confirmadas pela coloração de Gram a presença deste microrganismo. Assim os Streptococcus faecalis não mostraram vantagens em viabilidade em diferentes alimentos, exceto para os mais ácidos, especialmente o suco de laranja e maionese, enquanto observaram somente uma leve diferença entre a viabilidade da Escherichia coli e do Streptococcus faecalis em alimentos menos ácidos, dentro dos limites de tempo do estudo.

Larkin, Litsky e Fuller (42) investigaram o efeito da estocagem congelada sobre a Escherichia coli, Streptococcus faecalis e Streptococcus liquefaciens, quando inoculados em vagens e concentrado de laranja, mencionando que, segundo MacCleskey e Boyd (1949) quando examinaram siri congelado, o número de bactérias coliformes decrescia durante a estocagem, mas que o número de enterococos permanecia inalterado. O material inoculado com Streptococcus faecalis e Streptococcus liquefaciens foi mantido estocado a $-17,7^{\circ}\text{C}$, $-20,5^{\circ}\text{C}$ e $-28,8^{\circ}\text{C}$ durante 400 dias. Os resultados mostraram que os números de Streptococcus permaneceram constantes durante a estocagem congelada. O produto inoculado com E. coli foi mantido 217 dias a $-17,7^{\circ}\text{C}$, tendo mostrado um sensível decréscimo durante este período. Devido aos resultados dos experimentos, concluíram que o Streptococcus faecalis pode ser usado vantajosamente, em preferência as bactérias coliformes, como bactérias indicadoras em alimentos congelados.

Dussault(28) pesquisou o efeito do congelamento sobre as bactérias coliformes e métodos de sua detecção em filês e blocos de peixe congelado. Este pesquisador diz que a investigação de bactérias coliformes se justifica pelo fato delas serem frequentemente associadas com outros tipos patogênicos, tais como as responsáveis pelas febres tifóide e paratifóide, desinteria e outras desordens intestinais, sendo relativamente fácil a sua identificação e a sua presença, uma indicação quase certa de contaminação por excreção do homem e outros animais. Os filês e blocos de pescado foram submetidos a congelador de placas e mantidos congelados por duas semanas a seis meses. O autor concluiu que as bactérias coliformes não são eliminadas pelo congelamento rápido, ou estocagem a baixas temperaturas, ainda que um apreciável grau de redução possa ser obtido, se a concentração inicial não for muito elevada. Estas conclusões dão uma especial significação à detecção das bactérias coliformes em produtos de pescado congelado, i.é., se um pequeno grau de contaminação é verificado no produto congelado, significa que o produto foi altamente contaminado quando manufaturado, e que, na planta de processamento deve ter havido condições sanitárias inadequadas.

Para o seu trabalho Dussault utilizou, inicialmente, o método chamado "placa de contato", que consistiu em colocar seções da superfície (aproximadamente uma polegada quadrada) dos filês ou blocos descongelados sobre a superfície de placas contendo agar eosina azul - de metileno (EMB). Após um contato de 30 segundos, os pedaços eram removidos e as placas incubadas a 37°C, observando o aparecimento de colônias características. Este teste se mostrou bastante falho, o que o levou a experimentar o método do "cotonete", que consistiu em esfregar a superfície dos filês ou blocos de pescado descongelados com um cotonete estéril. Este cotonete foi transferido para tubo contendo caldo lactosado e incubado a 37°C. Para confirmar a presença de coliformes, além da formação de gás, foram aplicados testes específicos. Uma comparação entre estes dois métodos mostrou ser o "método do cotonete" mais digno de confiança, porém apresenta uma dificuldade, que é o fato de ser um teste qualitativo, não dando idéia sobre o grau de contaminação do produto.

Neste mesmo ano, Larkin, Litzky e Fuller (43) estudaram a incidência de enterococos e coliformes em produtos de pescado congelado. As amostras foram preparadas de forma a comparar a eficiência dos processos de agitação manual e homogeneização em liquidificador "Waring-blendor". Foram examinados produtos crus e pré-cozidos, cada amostra foi preparada pesando 50 g de peixe, transferindo-o para um copo, juntamente 450 ml de água destilada e esterilizada, homogeneizando em liquidificador "Waring-blendor" durante dois minutos. Para o processo de agitação manual, as amostras foram de 20 g, adicionadas de 180 ml de água esterilizada e agitadas, vigorosamente, 25 vezes. O NMP de coliformes foi obtido adicionando porções de 10,1 e 0,1 ml, respectivamente, dos materiais misturados, em séries de cinco tubos contendo caldo lactosado e confirmados em tubos contendo caldo lactosado bilis verde brilhante, observando a formação de gás dentro de 48 horas, após as quais foram efetuadas estrias em placas com agar EMB. O NMP de enterococos foi obtido pelo mesmo procedimento usado para coliformes ,

um estudo de detecção e enumeração de organismos indicadores de contaminação fecal em alimentos marinhos. As contagens consistentemente elevadas de enterococos, comparadas com os baixos e irregulares números de coliformes obtidos nas mesmas amostras, são uma evidência de que os enterococos são melhores indicadores de contaminação em alimentos congelados, o que também foi confirmado por Inslata, Witzeman e Sunga (39).

Raj e Liston (49) concluíram em seus estudos com culturas puras inoculadas em homogeneizado de peixe, esterilizado e submetidos a processos cíclicos de congelamento e descongelamento, que os alimentos de origem marinha exercem um efeito protetor sobre as bactérias. E. coli, Staphylococcus aureus, Salmonella typhimurium, Streptococcus pyogenes e Streptococcus bovis sobreviveram após 5 ciclos de congelamento, em número suficiente para constituir um risco potencial à saúde pública.

Raj e Liston (50) estudaram o efeito do processamento sobre as bactérias, de interesse em saúde pública, em alimentos marinhos congelados, sendo as amostras colhidas nas plantas de processamento e na rede de distribuição ao consumidor. Neste controle, realizaram contagens totais de bactérias a 20°C e 35°C, NMP (Série de tres tubos) de coliformes, enterococos, Streptococcus hemolyticus, E. coli, Staphylococcus coagulase positiva, presença de Salmonella, Shigella e anaeróbios formadores de esporos. Verificaram que o processo de evisceração introduz uma significativa contaminação por coliformes, enterococos e Staphylococcus coagulase positiva e que as amostras congeladas obtidas no varejo mostraram resultados similares aos obtidos nas plantas de processamento.

Varga e Anderson (64) concluíram, pela taxa e correlação de coliformes e enterococos em amostras de lagostas e de filés de pescado, que estes microrganismos são originados das superfícies de trabalho imprópriamente higienizadas, onde eles sobrevivem e se multiplicam, e não por poluição fecal. Entretanto, a presença de coliformes e enterococos em filés e lagostas reflete a qualidade sanitária da planta de processamento dos pescados e não da contaminação fecal direta destes -

exceto que no presuntivo se utilizou caldo azida dextrose e para o confirmativo caldo etil violeta azida.

Os autores concluíram que os procedimentos de teste para isolar os enterococos são mais simples e os resultados mais significativos do que aqueles das bactérias coliformes. A técnica de agitação manual pode ser utilizada em exames de rotina, mas em casos onde grande exatidão é desejada, se faz necessário o uso do liquidificador "Waring-blendor".

Geldreich et al. (33) realizaram pesquisa utilizando doze culturas de coliformes com diferentes tipos de IMViC, testes envolvendo produção de indol, reação com vermelho de metila, Voges-Proskauer e utilização de citrato, as quais foram inoculadas em meio EC (Hajna e Perry, 1943) e incubados em banho de água por 24 horas a $45^{\circ}\text{C} \pm 0,3$. O objetivo foi observar a correlação existente entre o teste rápido do meio EC e o método tradicional de aplicação de testes bioquímicos. Testes positivos foram obtidos em 92,7 % de E. coli variedade I (IMViC +++-), 21,8 % de E. coli variedade II (IMViC -+--) e 83,7 % quando considerando as bactérias coliformes comumente designadas de origem fecal. Os tipos não fecais de culturas de coliformes mostraram 7,8 % de testes positivos. A alta percentagem de cultura de IMViC tipo (+++-) , que ocorreram a 45°C , sugerem uma forte relação com a E. coli variedade I. Fontes de amostra contendo coliformes EC positivos devem ser cuidadosamente inspecionadas para uma possível contaminação de origem fecal.

O procedimento do caldo EC, como descrito, parece ser adequado para uma enumeração rápida de E. coli, não só para a água, como para outros tipos de trabalho de controle.

Buttiaux (13) verificou que os enterococos tem alta especificidade como índice de contaminação fecal e que a sua investigação é fácil pelo uso de meios seletivos, concluindo que associados com bactérias coli-aerógenas, os enterococos justificam a diagnose de contaminação fecal em matérias alimentares.

Raj e Liston (48) e Raj, Wiebe e Liston (51) realizaram

produtos. A alta resistência dos enterococos a desinfecção explica a sua predominância sobre os coliformes fecais.

D. Padrões Microbiológicos Para Pescados

Elliott e Michener (31) efetuaram uma revisão dos trabalhos que apontavam padrões microbiológicos para vários alimentos congelados, entre eles pescados. Com relação a peixes, só há indicação de padrões para contagem de aeróbios viáveis, sendo que Griffiths e Stanby (1934) sugeriram 1.000.000 bactérias por grama como um limite, pois acima deste número o peixe é considerado deteriorado e não comestível. Fitzgerald (1949), Fitzgerald e Conway (1937) e Nickerson *et al.* (1959) sugeriram 100.000 bactérias por grama, sendo que os últimos indicam, também, 150.000 bactérias por grama para procedimentos de contagens diretas.

Chiodi (23) considera que um filê tenha sido trabalhado em boas condições higiênico-sanitárias e que, além disso, se aplicou uma técnica e cadeia de frio adequadas para a sua conservação, quando a contagem microbiana, em meios de cultivo, não ultrapassa a 25.000 germens aeróbios por grama de carne e os do grupo coliforme não superem 2 germens por grama de carne.

Lane (41) sugere que ações remediadoras sejam tomadas, se a contagem total em placas exceder a 200.000 organismos por grama, se o NMP de coliforme for superior a 360 por grama e o de E. Coli 50 por grama, se houver mais de 5 Staphylococcus coagula-se positiva por grama e se o produto não estiver livre de Salmonella.

Shewan (57) menciona os padrões sugeridos pelo "Codex Alimentarius", que são: Contagem total de viáveis, a 35°C, no máximo 10⁵/grama, coliformes (NMP) máximo 200/grama, E. coli (NMP) máximo 100/grama e Staphylococcus aureus no máximo 100/grama. Consultando várias fontes, Shewan montou um quadro com sugestões de padrões microbiológicos para peixes e produtos de pescado, onde temos para peixes não congelados: Contagem total de viáveis, a 35°C, 250.000 organismos/grama,

menos de 20 E. coli/grama, menos de 100 Staphylococcus coagulase positiva e ausência de Salmonella. Os padrões alemães para peixes não cozidos obedecem a tres graus, sendo grau I o pescado que contenha no máximo - 250.000 organismos/grama, grau II máximo de 500.000 organismos/grama , 10 coliformes/grama e ausência de Staphylococcus aureus, Salmonella e Shigella, grau III máximo de 1.000.000 organismos/grama e 30 coliformes /grama, ausência de Staphylococcus aureus, Salmonella e Shigella, a temperatura de incubação para a contagem de viáveis é de 35°C. Já a Polônia estabeleceu que, para filês não cozidos, a contagem de viáveis a 35°C não deve exceder a 200.000 organismos/grama, coliformes no máximo 10/grama e ausência de Staphylococcus aureus.

Nickerson e Sinskey (47) sugeriram contagens máximas de bactérias para alguns alimentos, entre eles filês de pescado, estipulando que a contagem máxima de viáveis por grama deve ser de 100.000, enquanto que a contagem microscópica máxima/cm² deve ser de 2.000.000.

Neufeld (46) informa que os Laboratórios de Inspeção de Pescado do Departamento de Pesca e Silvicultura do Canadá, Região do Pacífico, examinaram os efeitos das normas bacteriológicas específicas em relação ao melhoramento da qualidade de produtos pesqueiros frescos, congelados, empanados, etc., durante um período de 11 anos.

Os parâmetros comumente adotados em sua inspeção de alimentos frescos e congelados foram: a) Contagem padrão em placas a 25°C, incubação durante 72 horas, máximo de 100.000 bactérias/grama. b) Contagem de coliformes fecais expressa como número mais provável (NMP)/ 100 gramas, máximo 230/100 gramas.

No que se refere a filês congelados foi verificado que durante o período de 1959 a 1968, 83,4 % dos filês apresentaram contagem total de 1×10^5 bactérias/grama, 9,7 % de 5×10^5 /grama; 4,2 % - 1×10^6 /grama e 2,7 % mais de 1×10^6 /grama. Neste mesmo período 90,1 % das amostras continham menos de 20 coliformes fecais/100 gramas, 7,8 % cerca de 100 coliformes fecais/100 gramas e 2,1 % possuíam mais de 230 coliformes fecais/100 gramas.

Confirmando a necessidade de padrões microbiológicos e de um sistema de inspeção mais aperfeiçoado, mostraram, mediante o quadro a seguir, a melhora da qualidade dos filês ocorrida entre 1958 e 1968.

Contagem padrão em placas (média geométrica) em filês - de pescado, expresso em percentagem.

| C.P.P./g | 1958 | 1959 | 1960 | 1961 | 1962 | 1963 | 1964 | 1965 | 1966 | 1967 | 1968 |
|--------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| $<2,5 \times 10^5$ | 28,1 | 50,0 | 69,2 | 88,5 | 82,8 | 75,5 | 84,6 | 78,7 | 84,9 | 84,6 | 91,0 |
| $5,0 \times 10^5$ | 9,4 | 20,0 | 15,4 | 11,5 | 6,9 | 16,3 | 11,0 | 12,6 | 9,6 | 9,1 | 2,3 |
| $>5,0 \times 10^5$ | 62,5 | 30,0 | 15,4 | 0,0 | 10,3 | 8,2 | 4,4 | 8,7 | 5,5 | 6,3 | 6,7 |
| Total de amostras | 32 | 40 | 26 | 26 | 29 | 49 | 91 | 207 | 239 | 175 | 177 |

O autor chama a atenção de que em 1968 somente 6,7% dos filês examinados excederam de 500.000 bactérias/grama e que esses correspondiam a amostras coletadas em uma só planta, a qual estava apresentando problemas em sua nova linha de processamento de filês.

Entre as várias conclusões deste trabalho destacam-se as seguintes: 1) A contagem padrão em placas, quando aplicada como um padrão numérico, melhora marcadamente a qualidade dos produtos. Que estes mesmos padrões, quando mandatórios e aplicados adequadamente, são mais efetivos em assegurar concordância do que os padrões sugeridos.

2) Não faz sentido aplicar o mesmo padrão para contagem em placas a todas as categorias de produtos sem considerar as condições em que foi processado, as quais podem influir na contagem.

3) Os padrões para coliformes fecais, para pré cozidos e para produtos crus foram estabelecidos em menos de 20/100 gramas e menos de 230/100 gramas, respectivamente. Os produtos que obedecerem a estes números são considerados como tendo sido trabalhados sob condi -

ções sanitárias satisfatórias.

4) A contagem de coliformes totais não deve ser usada para diferenciar entre produtos da pesca manufaturados sob condições sanitárias boas ou insatisfatórias, mas sim a de coliformes fecais.

E. Uso do Cloro como Desinfetante na Indústria de Pesca dos

A Câmara de Pesquisa de Pesca do Canadá (6) concluiu - que apesar dos desinfetantes clorados não serem ideais para todos os fins, por reagirem com a matéria orgânica presente e com o ferro, o cobre e o alumínio, entre outros metais, causando ou acelerando a sua corrosão, ainda são os desinfetantes mais utilizados para o tratamento de águas. Águas de portos tratadas de forma a conter 5 a 10 ppm de cloro residual, são consideradas satisfatórias para a lavagem de peixes.

O autor sugere várias concentrações de cloro, conforme a utilização da água, as quais estão especificadas no quadro a seguir:

| Uso | Cloro livre (ppm) |
|--|-------------------|
| Água de lavagem (do mar ou doce) | 1 - 10 |
| Água para enxague de mãos | 100 |
| Água para limpeza de superfícies lisas de madeira (tampas novos de mesas) | 300 - 500 |
| (pias, sanitários e objetos de vidro) | 50 - 300 |
| Água para limpeza de superfícies rugosas (tampas de mesas usados, concretos) | 1000 - 5000 |

Castell, em 1947, verificou que são necessários mais ou menos 200 ppm de cloro residual livre para afetar o aroma dos filês e mais ou menos 2.000 ppm para afetar a sua cor, após uma imersão de 5 minutos.

Hurley (38) propôs que toda a água usada na planta de processamento de pescado seja clorada. Durante o processamento deve

manter um residual de 5 a 10 ppm de cloro, enquanto que nos períodos de limpeza este resíduo deverá ser de 25 ppm. Este pesquisador mostrou que o uso de água contendo 5 ppm de cloro residual livre em todos os estágios de lavagem do peixe, através da linha de filetagem, reduz a carga bacteriana em mais ou menos duas vezes mais do que todos os outros métodos prévios.

Spencer (58) estudou os problemas de limpeza e desinfecção de caixas de madeira usadas para o transporte do pescado, o que é extremamente difícil devido, principalmente, a natureza porosa da madeira. É necessário, além da lavagem com água e escova, o uso de um bom desinfetante, e as soluções contendo hipoclorito pelo menos 1000 ppm de cloro livre ou compostos de amônio quaternário em concentrações adequadas apresentaram-se razoavelmente satisfatórios.

Shannon, Clarck e Reinbold (55) pesquisaram a resistência de enterococos, pertencentes a 50 linhagens diferentes, frente ao cloro. Os resultados mostraram que o cloro pode ser usado efetivamente como um agente saneante contra enterococos. Uma exposição, de suspensões em água tamponada, a 100 ppm de cloro livre resultou em completa destruição em 0,25 minutos. Uma concentração inicial de 10 ppm de cloro resultou numa destruição variável, após 2 minutos de exposição; concentrações de 5 ppm ou menos, durante 30 minutos, jamais destruiu completamente qualquer uma das 50 linhagens estudadas. A acidificação da solução clorada é importante para a efetividade da ação germicida. Com uma concentração de 10 ppm de cloro livre e pH 5,8 não foram observados sobreviventes após 2 minutos, enquanto que com esta mesma concentração, mas a pH 8,4, houve um número apreciável de sobreviventes após 2 minutos de exposição.

F. O uso dos Iodoforos como Agentes Saneantes

O iodo tem seu uso limitado nos trabalhos de desinfecção das indústrias, devido, principalmente, a sua insolubilidade em água,

sua capacidade em corroer metais, além de ser cáustico, quando em contato com a pele. Os iodoforos são complexos de iodo com substâncias tenso-ativas, nos quais o iodo, além de tornar-se solúvel em água, perde a sua agressividade, não apresentando ação corrosiva, nem causando irritação a pele. Como a substância tenso-ativa do complexo é também um agente umectante, o iodo terá sua penetração facilitada, bem como melhora sua performance germicida. São considerados desinfetantes não seletivos, bactericidas e não meramente um bacteriostático, atuando sobre as bactérias, vírus, leveduras e fungos.

Os iodoforos tem efeito germicida ótimo em pH baixo (2,3 a 3,0), caindo marcadamente em meio alcalino. Em meio ácido e temperaturas baixas, entre 5 e 35°C, os iodoforos não são afetados por matéria orgânica, sendo adequado e seguro para trabalhar com água à temperatura ambiente.

Bartlett e Schmidt (7) mencionam uma comparação entre o iodo livre em um complexo iodo tenso-ativo com o cloro livre de hipoclorito efetuada por Ortenzio (1955) em que ficou comprovado serem aproximadamente iguais as soluções contendo 25 ppm de iodo livre e 200 ppm de cloro livre, enquanto que a solução contendo 12,5 ppm de iodo livre é ligeiramente inferior a 100 ppm de cloro e a solução cuja concentração é 6,25 ppm de iodo é ligeiramente inferior a 50 ppm de cloro.

Os autores concluíram que nestes compostos a maior parte do iodo permanece livre e titulável, enquanto suas propriedades são modificadas pelo agente tenso-ativo que aumenta a estabilidade em suas soluções aquosas diluídas, ocorre eliminação de tingimento e redução da irritação da pele e dos olhos, devido a isto tem crescido suas aplicações no campo do saneamento.

A combinação iodo tenso-ativo proporciona uma eficiente ação antimicrobiana contra uma variedade de organismos testes usualmente utilizados para a avaliação de desinfetantes, saneantes e detergentes saneantes.

Segundo Braithwaite (10) os iodoforos são relativamente não tóxico, não corrosivo, inodoro, insípido, bem como estável em condi

ções ácidas.

Nickerson e Sinskey (47) mencionam que os iodoforos são ativos tanto sobre bactérias Gram positivas, quanto Gram negativas, e também frente a fungos e vírus. Ainda que muito mais ativo do lado ácido do que na neutralidade, estes compostos tem atividade microbicida - em pH neutro ou alcalino. Há um pequeno ou ligeiro efeito germicida residual quando estes compostos são aplicados. O cloro, por sua vez, é efetivo sobre ambas as bactérias Gram positivas ou Gram negativas. Segundo os autores, a Administração de Drogas e Alimentos dos Estados Unidos aprovou somente o cloro ou compostos que o liberem e o iodo, - sob a forma de iodoforos, para saneamento dos equipamentos, devido a sua superior qualidade, o último composto está em primeiro lugar como agente saneante, enquanto que o cloro está em segundo.

Para a higienização das mãos de manipuladores de alimentos os iodoforos podem estar em primeiro lugar e o cloro em segundo , especialmente devido a formar compostos menos irritantes a pele.

Segundo o Serviço de Saúde Pública dos Estados Unidos , são equivalentes como saneantes, os tratamentos de imersão, durante 1 minuto, de um equipamento em uma solução contendo 50 ppm de cloro residual, cuja temperatura é de pelo menos 23,9°C e pela imersão do mesmo equipamento, durante 1 minuto, em uma solução de iodofor, contendo no mínimo 12,5 ppm de iodo livre, cujo pH seja 5,00 ou mais baixo, e temperatura não inferior a 23,9°C.

O Laboratório da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP (63) efetuou uma série de ensaios para testar as propriedades detergentes e desinfetantes do IOSAN, um iodofor fabricado pela Ciba-Geigy Química Ltda., quando usado para limpeza de contentores para leite, pescado, etc. Para esta finalidade, foram realizadas dosagens do conteúdo microbiano das caixas antes e depois da lavagem normalmente efetuada no entreposto de pesca de Santos (S.P.), paralelamente comparando estes resultados com os obtidos após a utilização, como desinfetante, de solução aquosa de IOSAN a 0,5 % (\pm 85 ppm de iodo livre). A média dos resultados das contagens globais, antes do tra-

tamento, foi de $20,9 \times 10^5$ microrganismos/ml da solução de Ringer, utilizada no enxague das caixas, e após o tratamento $4,9 \times 10^2$ microrganismos/ml. Foram, também, verificados os teores de coliformes, que de 6×10^5 /ml passou a $1,4 \times 10^2$ /ml, enterococos que passou de $9,2 \times 10^5$ /ml para $2,3 \times 10^2$ /ml, e fungos, que variou de $2,8 \times 10^5$ /ml para $0,2 \times 10^2$ /ml.

A Ciba-Geigy (24), fabricantes do iodofor IOSAN, recomenda a utilização das seguintes concentrações:

7,5 - 15 ml/10 l de água (12,5 - 25 ppm de iodo ativo) para limpeza e desinfecção de superfícies lisas, ligeiramente contaminadas.

15 - 30 ml/10 l de água (25 - 50 ppm de iodo ativo) para limpeza em circulação, pulverização ou lavagem em tanques.

30 - 45 ml/10 l de água (50 - 75 ppm de iodo ativo) para limpeza e desinfecção com margem extra de segurança. Especialmente recomendado para uso industrial.

45 - 90 ml/10 l de água (70 - 150 ppm de iodo ativo) para tratamento de superfícies porosas ou difíceis de limpar.

III-MATERIAL E MÉTODOS

1 - MATERIAL

A. Matéria-prima

As matérias-primas utilizadas foram castanha (Umbrina canosai) e corvina (Micropogon furnieri), coletadas numa das indústrias de pescado da cidade de Rio Grande (RS), a qual possui frota pesqueira própria e terminal de descarga junto à planta industrial. O tempo de captura foi em média 8 a 9 dias, podendo ocasionalmente serem obtidas amostras com 3 a 4 dias de captura, sendo mantidas, até o desembarque, em urnas com regular quantia de gelo em escamas. Esta matéria-prima após descarregada é submetida a seguinte rotina:

- a) Imersão em tanque com água do mar.
- b) Transporte em esteira transportadora até o interior da fábrica.
- c) Lavagem, em lavador cilíndrico, rotatório, com água clorada a 1,1 ppm de cloro residual.
- d) Classificação manual por uma equipe de operárias, que, após classificar, colocam os peixes em caixas plásticas, encaminhando-as para pesagem.
- e) Descamagem mecânica, em descamador rotatório, que age por abrasão, tendo renovação constante de água a 1,1 ppm de cloro residual.
- f) Filetagem ou evisceração. Este processo é efetuado em mesas com tampo de madeira, sobre o qual existe uma torneira de água clorada a 1,1 ppm de cloro residual, que é mantida aberta durante toda a jornada de trabalho. Estas mesas são dotadas de esteiras transportadoras, sobre as quais deslizam as caixas de pescado inteiro, pescado já eviscerado ou seus filês e na parte inferior o sistema de transporte de

resíduos, deixando-os cair em um parafuso sem fim subterrâneo.

g) Lavagem dos filês e pescados eviscerados com água clorada a 1,1 ppm de cloro residual.

h) Acondicionamento dos filês em tabletes e do eviscerado em bandejas, para serem congelados.

i) Congelamento dos filês em tabletes, efetuado em congelador de placas ("Plate Freezer") a -45°C , e dos peixes eviscerados, em túnel a -45°C .

j) Embalagem (colocação em caixas de papelão).

l) Estocagem em câmaras frias, a -27°C .

As amostras foram coletadas, ao acaso, no barco e nos pontos "d", "e", "f", "g", "h" e "l" da sequência acima, acondicionadas em sacos plásticos, os quais foram dispostos em caixas isotérmicas, contendo gelo em escamas na proporção de 1:1 e transportadas ao laboratório dentro de 15 minutos.

As amostras de água foram coletadas nos dois lavadores internos, "c" e "g", e nas mesas de filetagem, "f", anteriormente indicadas.

B. Equipamentos de Laboratório

Estufas bacteriológicas de 25 e 37°C

Banho de água, regulado termostaticamente a $44,5^{\circ}\text{C}$

Liquidificador "Waring-Blendor" Comercial

Contador de colônias

Autoclave

Balança analítica CHYO, PT 1200D

C. Meios de Cultura e Reagentes

Agar nutriente Difco adicionado de 1,5 % de NaCl

Caldo lactosado Difco

Caldo lactosado verde brilhante bilis a 2 % Difco

Caldo EC Difco

Caldo azida dextrose Difco, modificado pela adição de 0,003 % de azul de bromotimol.

Caldo púrpura de bromocresol azida Merck

Solução de Ringer Difco, diluída a 1:4

Solução de tiosulfato de sódio a 10 % (p/v)

Solução de tiosulfato de sódio 0,1 N

Solução de tiosulfato de sódio 0,01 N

Ácido acético glacial

Iodeto de potássio

Solução indicadora de amido

Solução de bissulfito de sódio 1 N

Solução de nitrato de prata 0,1 N

Biocid Pfizer (iodofor)

2 - MÉTODOS

A. Obtenção das amostras

As amostras de pescado foram coletadas, aleatoriamente nos locais indicados acima, sendo compostos por seis exemplares de cada uma das formas (peixe inteiro, descamado, eviscerado e/ou filé congelado) e transportados ao laboratório.

Os peixes inteiros foram descamados tomando-se o máximo cuidado em assepsia e coletados pedaços de músculo com pele para um copo de liquidificador. Os músculos dos seis exemplares foram homogeneizados durante 1 minuto, sendo mantidos a 0°C para subsequente análise. Paralelamente, foram preparadas amostras de pescado, após descamado, do qual foi removido a pele, seguindo-se o mesmo processo acima descrito. O mesmo foi efetuado com o pescado que sofreu descamação mecânica na indústria. Portanto, foram preparadas duas amostras - para cada seis exemplares, uma de músculo com pele e outra só de músculo.

As amostras de filé e pescado eviscerado, coletadas em mesas de madeira saneadas de forma tradicional, com imersão em água contendo 50 ppm de cloro livre, e da maneira aqui sugerida, utilizando um produto químico a base de iodo, e em mesas com tampo de aço inoxidável, lavadas com água clorada, foram preparadas com e sem pele, seguindo-se a técnica mencionada para o pescado inteiro. Quanto as amostras dos produtos congelados, procedeu-se o descongelamento, mantendo-as a temperatura ambiente, durante três horas. Decorrido este tempo, foram preparadas amostras com e sem pele.

Das várias amostras preparadas foram retiradas alíquotas de 50 g e homogeneizadas em liquidificador "Waring-Blendor", durante um minuto, juntamente com 450 ml de solução de Ringer, diluída a 1:4. A partir desta diluição, foram efetuadas as séries de dilui-

ções decimais até 10^{-5} .

As amostras de água foram colhidas, nos lavadores, para frascos estéreis, segundo a técnica indicada pela Associação Americana de trabalhos em Água, Associação Americana de Saúde Pública e Federação de Controle de Poluição da Água (AWWA/APHA/WPCF) (5).

B. Análises bacteriológicas

As contagens bacteriológicas do pescado foram procedidas pelo método de contagem total em placas, recomendado por APHA (3) e (4), usando como meio de cultura agar nutriente Difco (27), adicionado de 1,5 % de cloreto de sódio, indicado por Elliott (30), a incubação foi efetuada a 25°C , durante 48 horas, sendo computadas somente as placas que continham entre 30 a 300 colônias.

A detecção e enumeração de coliformes e de enterococos foram efetuadas seguindo a técnica do número mais provável (MNP) da APHA (3). Para coliformes foram utilizados: no teste presuntivo caldo lactosado Difco, incubando-se os tubos a 37°C , durante 24 - 48 horas, e no teste confirmativo caldo verde brilhante bilis a 2 % Difco, incubação a 37°C por 24 - 48 horas e para coliformes fecais, caldo EC Difco, incubando em banho de água, regulado a $44,5^{\circ}\text{C}$, igualmente durante 24 - 48 horas, conforme indicação de Raj e Liston (48).

Quanto aos enterococos, foi realizado um teste presuntivo com caldo azida dextrose Difco, modificado pela adição de 0,003 % de azul de bromotimol, conforme recomendado por Raj, Wiebe e Liston (51), incubando a 37°C , por 24 - 48 horas e para o teste confirmativo caldo púrpura de bromocresol azida, incubando a 37°C , durante 24 - 48 horas.

A análise microbiológica da água consistiu de contagem total de bactérias, detecção e enumeração de coliformes, seguindo os métodos indicados por AWWA/APHA/WPCF (5), eliminando o cloro residual das amostras, mediante a adição de solução de tiosulfato de sódio a

10 %, previamente a esterilização do frasco de coleta. Como diluente - foi utilizada solução de Ringer a 1:4.

C. Análises químicas

A dosagem do cloro residual nas amostras de água foi efetuada pelo método iodométrico, mandado por AWWA/APHA/WPCF (5).

Determinações de iodo livre e de iodo total no iodofor foram realizadas segundo o método indicado pelo Laboratório Central da Ciba-Geigy (24), cujo procedimento é o seguinte:

Teor de iodo ativo

Pesa-se uma alíquota de 5,0 g da amostra do iodofor, adiciona-se 100 ml de água destilada, e procede-se a homogeneização. Titula-se a solução com $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.

$$\text{Cálculo: Teor de iodo ativo} = \frac{V \times N \times 12,69}{C}$$

onde: V = volume de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ gasto na titulação

N = normalidade da solução

C = massa da amostra em gramas

Teor de iodo total

Pesa-se 5,0 g da amostra de iodofor, adiciona-se 100 ml de água destilada e procede-se a homogeneização. Adiciona-se, sob agitação, NaHSO_3 1 N, até descoloração da solução. Titula-se o iodeto formado com AgNO_3 0,1 N.

$$\text{Cálculo: Teor de iodo total} = \frac{V \times N \times 12,69}{C}$$

onde: V = volume de AgNO_3 gasto na titulação

N = normalidade da solução de AgNO_3

C = massa da amostra em gramas

Para a desinfecção dos tampos de madeira das mesas de filetagem e evisceração do pescado, foi utilizado o método de imersão - em recipiente de aço inoxidável, contendo soluções de hipoclorito a 50 ppm de cloro livre ou solução de iodofor a 46 e 160 ppm de iodo livre , durante uma noite.

IV-RESULTADOS E DISCUSSÃO

A. Contagem total

Os resultados das contagens totais de microrganismos nos peixes, durante as diferentes fases do processamento estão apresentados nas tabelas I a VI e nas figuras 1 a 3. Os dados das tabelas I, II, III, IV e VI mostram que há uma redução marcante na contagem microbiana durante a transferência dos peixes do barco ao classificador.

Após o descamador houve um aumento na contagem microbiana, que variou, em média, de $1,4 \times 10^4$ a $2,6 \times 10^4$ bactérias/g, quando se considerou apenas a contagem no músculo e de $1,6 \times 10^5$ a $6,7 \times 10^5$ bactérias/g, quando se fez a contagem no músculo com pele, conforme se pode observar nas figuras 1 e 2. Este aumento se deve ao fato de que ao ser descamado, o peixe é atirado contra as paredes do descamador e com isto se torna mais suscetível a penetração de microrganismos.

Na etapa de filetagem, quando se utilizou o processo de higienização tradicional, ou seja de imergir os tampos de madeira em solução de Hipoclorito a 50 ppm de cloro livre, durante o período de uma noite, houve um aumento na carga bacteriana que variou de $2,3 \times 10^4$ a $7,4 \times 10^5$ bactérias/g de músculo, enquanto que houve uma pequena redução de $2,3 \times 10^6$ a $1,8 \times 10^6$ bactérias/g, quando se considerou as contagens no músculo e pele, o que pode ser observado nas tabelas I e II e figura 1. Nesta mesma fase, mas utilizando o tratamento de saneamento por nós proposto, usando imersão, durante uma noite, em solução de Iodofor a 46 ppm de iodo livre, registrou-se um pequeno acréscimo, sendo que a carga bacteriana variou de $2,3 \times 10^4$ a $6,4 \times 10^4$ microrganismos/g, para amostras preparadas sem pele, e de $3,3 \times 10^5$ a $5,1 \times 10^5$ microrganismos/g quando consideramos amostras de músculo com pele.

Para os filês obtidos em mesas tratadas com solução de Iodofor contendo 160 ppm de iodo livre, tivemos uma oscilação bastante

acentuada para as amostras de filê sem pele, conforme se pode verificar na figura 1. Houve uma variação de $1,8 \times 10^5$ a $6,0 \times 10^6$ bactérias/grama, quando as amostras foram preparadas sem pele, e $2,1 \times 10^6$ a $9,6 \times 10^6$ bactérias/grama, quando se considerou amostras de músculo com pele. Supomos que esta alta carga se deve, ao estado inicial da matéria prima, a qual foi obtida de barcos que haviam ficado no mar durante 10 a 14 dias, prejudicando a sua qualidade, e confirmando o que foi observado por Hess (37). Além disso, as capturas não são seletivas e a mistura de várias espécies em um só lance, bem como a disparidade de tamanho entre espécies e os exemplares de uma mesma, alteram muito as condições gerais da matéria prima. Dentro de um mesmo lote se pode encontrar exemplares, que sensorialmente, são considerados ótimos e outros, regulares ou maus.

Nas tabelas III e IV e figura 2 temos dados relativos a análises de Castanha, quando os filês foram obtidos em mesas higienizadas com solução de Hipoclorito a 50 ppm de cloro livre, tendo sido utilizadas mesas com tampos de madeira e de aço inoxidável. As amostras foram as mesmas até o descamador, observando-se que nesta etapa o acréscimo de carga foi mais sensível quando se considerou as amostras preparadas sem pele.

Após a filetagem se verificou que o aumento de carga bacteriana nos filês obtidos em mesas com tampos de madeira foi bastante acentuado quando comparado com o incremento sofrido pelos filês oriundos de mesas com tampos de aço inoxidável, tanto para o caso das amostras de músculo sem pele, como para as amostras de músculo com pele. As cargas finais dos produtos nesta fase oscilam entre $2,1 \times 10^4$ e $1,0 \times 10^6$ microrganismos/grama de músculo e $1,2 \times 10^5$ a $1,2 \times 10^6$ bactérias/grama, em amostras de filês com pele, quando foram processados em mesas com tampos de madeira. Para os filês manufaturados em mesas com tampos de aço inoxidável, tivemos $2,4 \times 10^4$ a $1,9 \times 10^5$ bactérias/grama de músculo e $2,0 \times 10^5$ a $4,7 \times 10^5$ bactérias/grama de amostras preparadas com pele.

A operação de lavagem final dos filês, em qualquer um dos casos, método de desinfecção habitual, ou com Iodoform, mesas com

tampos de madeira ou de aço inoxidável, provoca uma considerável redução na carga bacteriana dos produtos, quer se considere amostras de músculo com ou sem pele.

O congelamento provocou uma redução do conteúdo bacteriano dos filês, exceto nas amostras do produto obtido em mesas com tampos de madeira higienizadas com solução de Hipoclorito, tanto quando se considera a contagem no músculo, como no músculo com a pele. Igual fato ocorreu com as amostras de filês obtidas nas mesas higienizadas com solução de Iodoform a 46 ppm de iodo livre, quando a amostra foi preparada sem pele.

Deve ser ressaltado que os filês analisados haviam sido congelados, em média, há 10 dias, e a redução de carga é muito pequena nestes primeiros dias. Este decréscimo não foi verificado nas amostras, com e sem pele, de filês congelados, processados em mesas com tampos de madeira saneadas com solução de Hipoclorito a 50 ppm de cloro livre, conforme se verifica pela figura 1. Isto se deve ao fato de que a amostragem é muito irregular, considerando-se que não alteramos as condições normais de processamento industrial.

No que se refere a Corvina, tivemos um acréscimo em suas cargas bacterianas entre as etapas de descarga do barco e classificação conforme se pode verificar na tabela V e figura 3, o que se deve a problemas de amostragem, pois em um mesmo barco temos peixes capturados em diferentes dias, podendo haver até 10 dias de captura entre peixes de uma urna e outra, e não a ineficiência dos lavadores existentes entre estas duas etapas.

A irregularidade da amostragem fica novamente evidenciada, quando temos uma sensível redução da carga microbiana entre as fases de classificação e descamagem, onde tivemos reduções de $2,8 \times 10^4$ para $1,1 \times 10^4$ e de $1,7 \times 10^4$ para $8,0 \times 10^3$ bactérias/grama de músculo e músculo com pele respectivamente. Igualmente como ocorreu na fase de filetagem das Castanhas, houve um acentuado acréscimo na carga bacteriana da Corvina quando do procedimento de evisceração, indiferentemente aos processos

diversos de higienização dos tampos de madeira e mesmo da substituição dos mesmos por tampos de aço inoxidável, embora neste último caso o aumento de carga tenha sido bastante inferior aos registrados nos casos anteriores.

As etapas de lavagem final dos peixes eviscerados também se mostrou bastante efetiva, reduzindo a contaminação microbiana independente do processo aplicado previamente. O congelamento, da mesma forma provocou uma redução, embora mais leve do que a ocorrida na fase de lavagem do produto.

Nas figuras 4 e 5 observamos as variações de cargas ocorridas durante as fases de filetagem ou evisceração, lavagem final e após congelamento para a Castanha e Corvina trabalhadas em mesas com tampos de madeira submetidas a diferentes processos de saneamento e também em mesas com tampos de aço inoxidável. Estes gráficos nos possibilitam verificar que as operações de filetagem e evisceração são as que contribuem decisivamente para a maior ou menor taxa de contaminação dos produtos finais. Isto era esperado, porquanto se tratam de operações que envolvem manipulação interna do pescado, além do mesmo sofrer a contaminação por bactérias contidas em seu trato intestinal, as quais podem se difundir através do músculo, bem como também pelas bactérias que se acumulam e se reproduzem nos tampos de madeira em que os peixes são manipulados.

O processo de filetagem, quando efetuado em mesas com tampos de madeira higienizados com solução de Hipoclorito a 50 ppm de cloro livre, contribui com um acréscimo da carga bacteriana de aproximadamente 30 vezes em relação a contagem total do peixe na fase de descamagem, quando se considera amostras preparadas sem pele e de 5 vezes para amostras de músculo e pele. Para as mesmas mesas, porém saneadas com solução de Iodofor a 46 ppm de iodo livre, tivemos um acréscimo de 3 vezes no músculo e 1,5 vezes para o músculo com pele. Quando os tampos de madeira são higienizados com Iodofor a 160 ppm de iodo livre o acréscimo é de 30 vezes para amostras preparadas sem pele e de 5 vezes

quando se considera músculo e pele. Este aumento na contagem total dos filês é bastante reduzido quando se trabalha com mesas com tampos de aço inoxidável, pois temos uma taxa de 9 vezes para amostras sem pele e de 4 vezes para amostras constituídas de músculo e pele.

A evisceração provocou um aumento de carga bacteriana de 15 a 25 vezes para peixes processados de maneira tradicional e de 15 vezes quando foi substituída a solução de Hipoclorito por solução de Iodoform a 46 ppm Iodo livre, e de 8,5 vezes quando os tampos de madeira foram substituídos por aço inoxidável, isto para amostras de músculo - com a respectiva pele.

B. Contagem de Coliformes

Os resultados das contagens de coliformes totais e fecais estão apresentados nas tabelas VII, VIII, IX, X, XI, XII.

Foram efetuados vários ensaios com o pescado inteiro, coletados no barco, classificador e descamador e foi constatada ausência de organismos coliformes. A presença destas bactérias nos produtos pesqueiros se origina pela manipulação e por bactérias que ficam retidas - nos tampos das mesas, e que são transmitidas aos produtos quando estes são preparados.

A maior incidência destes microrganismos ocorre na fase de filetagem e evisceração, tendo a lavagem com água clorada o efeito - de reduzir parte destes contaminantes, e o processo de congelamento ocasiona uma redução bastante sensível, tanto no que se refere a coliformes totais, como fecais, confirmando o que foi verificado por diversos pesquisadores.

Esta contaminação foi maior nas mesas com tampos de madeira, ressaltando-se que a qualidade inicial do pescado também influi na maior ou menor facilidade de contaminação, pois que os filês obtidos de mesas que foram higienizadas com solução de Iodoform, e que iniciaram a jornada de trabalho com carga bacteriana bastante elevada, apresentaram um maior índice de coliformes totais e fecais. Enquanto que aqueles

obtidos em mesas, cujos tampos de madeira foram substituídos por aço inoxidável apresentaram menor taxa de contaminantes.

C. Contagem de enterococos

Nas tabelas XIII, XIV e XV encontram-se dados relativos a contaminação, com enterococos dos filês da Castanha e de Corvina eviscerada. Observa-se que a contaminação por enterococos é bem inferior aquela produzida por coliformes; porém os mesmos não são tão sensíveis ao processo de congelamento - quanto os coliformes. A redução média sofrida pelas bactérias do grupo coliforme foi de 40%, enquanto que os enterococos em alguns casos mantiveram-se constantes e, mesmo quando experimentaram redução, esta não superou a 12%. O uso de tampo de aço inoxidável reduziu a contagem de enterococos para cerca da metade, comparado com o tampo de madeira.

D. Comparação com Padrão Microbiológico

Vários autores tem sugerido valores para contagem total de bactérias, objetivando a sua adoção como padrão para produtos de origem marinha, mas são grandes as oscilações entre os mesmos, bem como entre os números sugeridos para coliformes totais e para E.coli, como pode ser observado no quadro a seguir.

| Fonte | Contagem máxima | Coli totais-colí | |
|--------------------------------|-----------------------|------------------|--------|
| | a 35°C | fecais | |
| | bactérias/grama | N.M.P./g músculo | |
| Griffths e Stamby(1934) | 1 x 10 ⁶ | | |
| Fitzgerald e Conway(1937) | 1 x 10 ⁵ | | |
| Fitzgerald (1949) | 1 x 10 ⁵ | | |
| Nickerson <u>et al.</u> (1959) | 1 x 10 ⁵ | | |
| Chiodi (1966) | 2,5 x 10 ⁴ | 0,02 | |
| Neufeld(1969) (25°C-72h) | 1 x 10 ⁵ | | 2,3 |
| Lane (1970) | 2 x 10 ⁵ | 360,00 | 50,0 |
| Shewan(1970) | | | |
| "Codex Alimentarius" | 1 x 10 ⁵ | 200,00 | 100,00 |
| Padrões alemães- Grau I | 2,5 x 10 ⁵ | | 0,0 |
| Grau II | 5 x 10 ⁵ | | 10,0 |
| Grau III | 5 x 10 ⁶ | | 30,0 |
| Padrões Poloneses | 2 x 10 ⁵ | | 10,0 |
| Nickerson e Sinskey(1972) | 1 x 10 ⁵ | | |

Para peixes não congelados o "Codex Alimentarius" sugeriu uma contagem máxima de viáveis, a 35°C, de 2,5 x 10⁵ bactérias por grama de músculo e no máximo 20 E.coli por grama.

Pelos dados apresentados na tabela I, observa-se que os filês de Castanha, trabalhados em mesas de madeira higienizadas com solução de Hipoclorito, com um teor de 50 ppm de cloro livre e com solução de Iodofor a 160 ppm, de iodo - livre, apresentaram contagens mais elevadas do que os padrões sugeridos para 35°C, pois que as médias das seis repetições-

a 25°C, foram de $1,3 \times 10^6$ e $1,1 \times 10^6$ bactérias/gramas de músculo, enquanto que os padrões menos rigorosos indicam contagens máximas de 1×10^6 bactérias/grama.

Em dez ensaios prévios realizados incubando placas, inoculadas com a mesma amostra, a temperaturas de 37 e 25°C, obtivemos contagens 10 a 15 vezes maiores a 25°C do que a 37°C, o que confirma os dados de Raj e Liston (49) e Castell (15).

Devido a diferença de temperaturas de incubação dos filês de Castanha e dos padrões sugeridos, exceto por Neufeld (46), poderemos considerar o produto em análise dentro destas normas.

Para o filê de Castanha processado em mesas com tampo de madeira, antes de ser congelado, obtivemos uma contagem média de $2,6 \times 10^6$ bactérias/grama, a 25°C, quando o "Codex Alimentarius" estipulou um máximo de $2,5 \times 10^5$ bactérias/grama a 37°C.

Nas tabelas II e IV aparentemente temos resultados que indicam estar o filê de Castanha obtido em mesas de tampo de madeira, higienizada com solução de Iodofor a 160 ppm de iodo livre, fora das especificações, quer para o produto congelado ou não, e os filês não congelados obtidos em mesas com tamos de madeira, mas higienizadas com Hipoclorito, todavia esta discrepância se deve a que, além das diferenças de temperatura de incubação, as amostras foram obtidas pela homogeneização do músculo com a respectiva pele, enquanto que as sugestões apresentadas são para o número de bactérias por grama de carne. Como a maior parte da carga bacteriana do pescado se localiza em sua pele, lógico seria esperar uma contagem mais elevada quando esta fizesse parte da amostra. Esta amostragem nos permite um dado mais real -

das condições bacteriológicas do produto, pois os filês são congelados com pele e normalmente esta não é removida pelo consumidor.

Todos os filês de Castanha e também as Corvinas - evisceradas, processadas em mesas com tampos de aço inoxidável se enquadram nos padrões sugeridos, exceto o de Chiodi (23), que pode ser considerado muito baixo para as condições de captura existentes em nosso País, pois que tanto a Corvina como a Castanha, não raras vezes, ao serem desembarcadas - já apresentam uma contagem a 25°C, superior a $2,5 \times 10^4$ bactérias/grama, no nosso caso estas contagens iniciais variaram entre 5×10^3 e $4,7 \times 10^6$ microrganismos/grama.

Quanto ao aspecto sanitário, se observarmos os valores para NMP de coliformes/grama de músculo sugeridos por Lane (41), e pelo "Codex Alimentarius" os produtos analisados podem ser considerados como dentro da faixa normal, pois a maior média que obtivemos foi de 164 coliformes totais/grama e 18 coliformes fecais/grama, quando as amostras foram preparadas com a respectiva pele.

E. Análises de água

As análises da água que entra em contacto direto com o pescado, ou seja, a dos lavadores e das mesas de filetagem e evisceração, revelaram a presença de 569 bactérias / ml e ausência de coliformes em alíquotas de 1 ml da amostra, temperatura 20°C, pH 5,8 e cloro residual 1,13ppm.

F. Análise do Iodoform

O teor de iodo total e de iodo ativo no Iodoform - utilizado na desinfecção das mesas foi de 2,45 e 1,18%, respectivamente.

TABELA I - Análise bacteriológica do fluxograma de processamento de filês de Castanha trabalhados em mesas com tampos de madeira. Contagem total de bactérias incubadas a 25°C, durante 48 h, em logaritmo do número de bactérias por grama de músculo.

| LOCALS DE AMOSTRAGEM | | M E S A S H I G I E N I Z A D A S C O M: | | | | | | | | |
|----------------------|--------|--|-------|---------|--|-------|---------|---|-------|---------|
| | | Solução de HIPOCLORITO a 50 ppm cloro livre | | | Solução de IODOFOR a 46 ppm iodo livre | | | Solução de IODOFOR a 160 ppm iodo livre | | |
| | | manhã | tarde | média** | manhã | tarde | média** | manhã | tarde | média** |
| BARCO | mínima | 3,54 | 3,74 | 3,54 | 3,70 | 3,90 | 3,70 | 4,87 | 5,20 | 4,87 |
| | média* | 4,20 | 4,70 | 4,38 | 4,39 | 4,53 | 4,45 | 6,13 | 6,48 | 6,34 |
| | máxima | 4,44 | 4,87 | 4,87 | 4,76 | 4,86 | 4,86 | 6,62 | 6,82 | 6,82 |
| CLASSIFICAÇÃO | mínima | 3,06 | 3,98 | 3,06 | 3,95 | 4,00 | 3,95 | 4,58 | 4,66 | 4,58 |
| | média* | 3,56 | 4,34 | 4,18 | 4,06 | 4,17 | 4,11 | 4,60 | 4,72 | 4,64 |
| | máxima | 4,32 | 4,81 | 4,81 | 4,14 | 4,28 | 4,28 | 5,23 | 5,39 | 5,39 |
| DESCAMADOR | mínima | 3,90 | 4,12 | 3,90 | 3,90 | 3,98 | 3,90 | 4,31 | 4,43 | 4,31 |
| | média* | 4,02 | 4,47 | 4,36 | 4,31 | 4,44 | 4,37 | 5,22 | 5,27 | 5,25 |
| | máxima | 4,62 | 5,25 | 5,25 | 4,63 | 4,69 | 4,69 | 5,71 | 5,89 | 5,89 |
| MESAS DE FILETAGEM | mínima | 4,68 | 5,39 | 4,68 | 4,38 | 4,52 | 4,38 | 5,33 | 5,59 | 5,33 |
| | média* | 5,65 | 6,11 | 5,87 | 4,50 | 5,12 | 4,84 | 6,59 | 6,98 | 6,78 |
| | máxima | 5,99 | 6,48 | 6,48 | 5,35 | 5,80 | 5,80 | 6,67 | 6,91 | 6,91 |
| MESAS DE LAVAGEM | mínima | 4,12 | 4,63 | 4,12 | 4,23 | 4,38 | 4,23 | 5,02 | 5,34 | 5,02 |
| | média* | 5,11 | 5,45 | 5,28 | 4,44 | 4,67 | 4,51 | 6,36 | 6,48 | 6,42 |
| | máxima | 5,56 | 5,99 | 5,99 | 4,74 | 4,88 | 4,88 | 6,45 | 6,53 | 6,53 |
| CÂMARA DE CONGELADOS | mínima | - | - | 4,36 | - | - | 4,18 | - | - | 4,98 |
| | média* | - | - | 6,11 | - | - | 4,79 | - | - | 6,05 |
| | máxima | - | - | 6,15 | - | - | 5,40 | - | - | 6,63 |

* média de seis amostras.

** média do dia.

TABELA II - Análise bacteriológica do fluxograma de processamento de filês de Castanha trabalhados em mesas com tampos de madeira. Contagem total de bactérias incubadas a 25°C, durante 48 h, em logaritmo do número de bactérias por grama de músculo e pele.

| LOCAIS DE AMOSTRAGEM | | M E S A S H I G I E N I Z A D A S C O M: | | | | | | | | |
|----------------------|--------|--|-------|---------|--|-------|---------|---|-------|---------|
| | | Solução de HIPOCLORITO a 50 ppm cloro livre | | | Solução de IODOFOR a 46 ppm iodo livre | | | Solução de IODOFOR a 160 ppm iodo livre | | |
| | | manhã | tarde | média** | manhã | tarde | média** | manhã | tarde | média** |
| BARCO | mínima | 4,42 | 4,58 | 4,42 | 4,59 | 4,78 | 4,59 | 5,57 | 5,70 | 5,57 |
| | média* | 5,04 | 5,43 | 5,26 | 4,95 | 5,17 | 5,00 | 6,45 | 6,79 | 6,67 |
| | máxima | 6,03 | 6,25 | 6,25 | 5,81 | 5,92 | 5,92 | 5,87 | 7,18 | 7,18 |
| CLASSIFICAÇÃO | mínima | 3,50 | 3,67 | 3,50 | 4,18 | 4,22 | 4,18 | 4,93 | 4,95 | 4,93 |
| | média* | 5,08 | 5,29 | 5,16 | 4,65 | 4,79 | 4,73 | 6,12 | 6,24 | 6,17 |
| | máxima | 5,80 | 6,25 | 6,25 | 5,59 | 5,61 | 5,61 | 6,93 | 7,01 | 7,01 |
| DESCAMADOR | mínima | 5,23 | 5,38 | 5,23 | 4,35 | 4,45 | 4,35 | 5,02 | 5,09 | 5,02 |
| | média* | 6,14 | 6,43 | 6,36 | 5,40 | 5,68 | 5,52 | 6,25 | 6,44 | 6,32 |
| | máxima | 7,17 | 7,49 | 7,49 | 5,82 | 6,00 | 6,00 | 7,13 | 7,45 | 7,45 |
| MESAS DE FILETAGEM | mínima | 5,75 | 5,56 | 5,56 | 4,63 | 4,63 | 4,78 | 5,03 | 5,03 | 5,16 |
| | média* | 6,08 | 6,48 | 6,26 | 5,52 | 5,83 | 5,70 | 6,71 | 7,03 | 6,98 |
| | máxima | 6,31 | 6,59 | 6,59 | 6,19 | 6,38 | 6,38 | 7,49 | 7,62 | 7,62 |
| MESAS DE LAVAGEM | mínima | 5,44 | 5,53 | 5,44 | 4,15 | 4,29 | 4,15 | 4,75 | 4,84 | 4,75 |
| | média* | 5,72 | 5,98 | 5,81 | 4,91 | 5,23 | 5,05 | 6,49 | 6,66 | 6,53 |
| | máxima | 6,21 | 6,32 | 6,32 | 5,88 | 5,97 | 5,97 | 6,85 | 6,97 | 6,97 |
| CÂMARA DE CONGELADOS | mínima | - | - | 4,98 | - | - | 4,07 | - | - | 4,33 |
| | média* | - | - | 6,12 | - | - | 4,89 | - | - | 6,43 |
| | máxima | - | - | 6,50 | - | - | 5,75 | - | - | 6,80 |

* média de seis amostras.

** média do dia.

TABELA III - Análise bacteriológica do fluxograma de processamento de filês de Castanha trabalhados em mesas higienizadas com solução de Hipoclorito a 50 ppm de cloro livre.

Contagem total de bactérias incubadas a 25°C, durante 48 h, em logaritmo do número de bactérias por grama de músculo.

| LOCAIS DE AMOSTRAGEM | | M E S A S C O M T A M P O S D E: | | | | | |
|----------------------|--------|----------------------------------|-------|---------|----------------|-------|---------|
| | | MADEIRA | | | AÇO INOXIDÁVEL | | |
| | | manhã | tarde | média** | manhã | tarde | média** |
| BARCO | mínima | 3,10 | 3,19 | 3,10 | 3,10 | 3,19 | 3,10 |
| | média* | 3,53 | 3,78 | 3,69 | 3,53 | 3,78 | 3,69 |
| | máxima | 4,42 | 4,58 | 4,58 | 4,42 | 4,58 | 4,58 |
| CLASSIFICAÇÃO | mínima | 3,03 | 3,13 | 3,03 | 3,03 | 3,13 | 3,03 |
| | média* | 3,60 | 3,69 | 3,62 | 3,60 | 3,69 | 3,62 |
| | máxima | 4,25 | 4,30 | 4,30 | 4,25 | 4,30 | 4,30 |
| DESCAMADOR | mínima | 3,70 | 3,84 | 3,70 | 3,70 | 3,84 | 3,70 |
| | média* | 4,26 | 4,39 | 4,32 | 4,26 | 4,39 | 4,32 |
| | máxima | 4,73 | 4,88 | 4,88 | 4,73 | 4,88 | 4,88 |
| MESAS DE FILETAGEM | mínima | 5,54 | 5,62 | 5,54 | 5,16 | 5,25 | 5,16 |
| | média* | 5,90 | 6,09 | 6,00 | 5,21 | 5,34 | 5,27 |
| | máxima | 6,33 | 6,48 | 6,48 | 5,74 | 5,80 | 5,80 |
| MESAS DE LAVAGEM | mínima | 5,21 | 5,35 | 5,21 | 4,64 | 4,74 | 4,64 |
| | média* | 5,48 | 5,59 | 5,50 | 5,11 | 5,23 | 5,16 |
| | máxima | 5,84 | 5,99 | 5,99 | 5,53 | 5,67 | 5,67 |
| CÂMARA DE CONGELADOS | mínima | - | - | 4,77 | - | - | 4,70 |
| | média* | - | - | 5,42 | - | - | 5,04 |
| | máxima | - | - | 6,31 | - | - | 6,29 |

* média de seis amostras.

** média do dia.

TABELA IV - Análise bacteriológica do fluxograma de processamento de filês de Castanha trabalhados em mesas higienizadas com solução de Hipoclorito a 50 ppm de cloro livre.

Contagem total de bactérias incubadas a 25°C, durante 48 h, em logaritmo do número de bactérias por grama de músculo e pele.

| LOCAIS DE AMOSTRAGEM | | M E S A S C O M T A M P O S D E | | | | | |
|----------------------|--------|---------------------------------|-------|---------|----------------|-------|---------|
| | | MADEIRA | | | AÇO INOXIDÁVEL | | |
| | | manhã | tarde | média** | manhã | tarde | média** |
| BARCO | mínima | 4,42 | 4,48 | 4,42 | 4,42 | 4,48 | 4,42 |
| | média* | 4,97 | 5,19 | 5,08 | 4,97 | 5,19 | 5,08 |
| | máxima | 6,16 | 6,25 | 6,25 | 6,16 | 6,25 | 6,25 |
| CLASSIFICAÇÃO | mínima | 3,50 | 3,62 | 3,50 | 3,50 | 3,62 | 3,50 |
| | média* | 4,65 | 4,82 | 4,76 | 4,65 | 4,82 | 4,76 |
| | máxima | 6,01 | 6,15 | 6,15 | 6,01 | 6,15 | 6,15 |
| DESCAMADOR | mínima | 3,82 | 3,97 | 3,82 | 3,82 | 3,97 | 3,82 |
| | média* | 4,98 | 5,15 | 5,08 | 4,98 | 5,15 | 5,08 |
| | máxima | 5,61 | 5,70 | 5,70 | 5,61 | 5,70 | 5,70 |
| MESAS DE FILETAGEM | mínima | 5,56 | 5,62 | 5,56 | 5,29 | 5,34 | 5,29 |
| | média* | 6,02 | 6,12 | 6,08 | 5,59 | 5,75 | 5,67 |
| | máxima | 6,31 | 6,37 | 6,37 | 6,17 | 6,26 | 6,26 |
| MESAS DE LAVAGEM | mínima | 5,44 | 5,57 | 5,44 | 4,94 | 4,99 | 4,94 |
| | média* | 5,61 | 5,82 | 5,73 | 5,21 | 5,39 | 5,33 |
| | máxima | 6,29 | 6,32 | 6,32 | 5,76 | 5,87 | 5,87 |
| CÂMARA DE CONGELADOS | mínima | - | - | 5,02 | - | - | 4,61 |
| | média* | - | - | 5,68 | - | - | 5,23 |
| | máxima | - | - | 6,45 | - | - | 5,90 |

* média de seis amostras.

** média do dia.

TABELA V - Análise bacteriológica do fluxograma de processamento de Corvina eviscerada trabalhada em mesas com tampo de madeira. Contagem total de bactérias incubadas a 25°C, durante 48 h, em logaritmo do número de bactérias por grama de músculo e pele.

| LOCALS DE AMOSTRAGEM | M E S A S H I G I E N I Z A D A S C O M : | | |
|----------------------|---|---|------|
| | Solução de HIPOCLORITO a 50 ppm cloro livre | Solução de IODOFOR a 46 ppm iodo livre | |
| BARCO | mínima | 3,10 | 3,24 |
| | média | 4,19 | 3,88 |
| | máxima | 4,81 | 4,45 |
| CLASSIFICAÇÃO | mínima | 4,18 | 3,56 |
| | média | 4,44 | 4,24 |
| | máxima | 4,81 | 4,80 |
| DESCAMADOR | mínima | 3,90 | 3,48 |
| | média | 4,01 | 3,90 |
| | máxima | 4,28 | 4,25 |
| MESAS DE EVISCERAÇÃO | mínima | 4,59 | 4,15 |
| | média | 5,38 | 5,08 |
| | máxima | 6,39 | 6,52 |
| MESA DE LAVAGEM | mínima | 4,09 | 4,20 |
| | média | 4,62 | 4,44 |
| | máxima | 5,23 | 4,86 |
| CÂMARA DE CONGELADOS | mínima | 4,31 | 4,11 |
| | média | 4,74 | 4,33 |
| | máxima | 4,97 | 4,89 |

média de seis amostras.

TABELA VI - Análise bacteriológica do fluxograma de processamento de Corvina eviscerada trabalhada em mesas higienizadas com solução de Hipoclorito a 50 ppm de cloro livre. Contagem total de bactérias incubadas a 25°C, durante 48 h, em logaritmo de número de bactérias por grama de músculo e pele.

| LOCALS DE AMOSTRAGEM | | M E S A S C O M T A M P O S D E : | |
|----------------------|--------|--|----------------|
| | | MADEIRA | AÇO INOXIDÁVEL |
| BARCO | mínima | 4,45 | 4,45 |
| | média | 4,65 | 4,65 |
| | máxima | 4,81 | 4,81 |
| CLASSIFICAÇÃO | mínima | 4,18 | 4,18 |
| | média | 4,43 | 4,43 |
| | máxima | 4,92 | 4,92 |
| DESCAMADOR | mínima | 4,04 | 4,04 |
| | média | 4,53 | 4,53 |
| | máxima | 5,01 | 5,01 |
| MESAS DE EVISCERAÇÃO | mínima | 5,04 | 4,88 |
| | média | 5,68 | 5,46 |
| | máxima | 6,82 | 6,57 |
| MESAS DE LAVAGEM | mínima | 4,75 | 4,49 |
| | média | 5,21 | 5,03 |
| | máxima | 6,76 | 6,23 |
| CÂMARA DE CONGELADOS | mínima | 4,59 | 4,03 |
| | média | 5,07 | 4,69 |
| | máxima | 6,63 | 6,20 |

média de seis amostras.

TABELA VII - Contagem de coliformes totais em filês de Castanha, processados em mesas com tampos de madeira.

Número mais provável por grama de músculo e pele.

| MESAS HIGIENIZADAS COM: | L O C A I S D E A M O S T R A G E M | | | | | | | | |
|----------------------------------|---|-------|--------|--------------|-------|--------|----------------------|-------|--------|
| | Mesa Filetagem | | | Mesa Lavagem | | | Câmara de Congelados | | |
| | mínimo | médio | máximo | mínimo | médio | máximo | mínimo | médio | máximo |
| HIPOCLORITO (50 ppm Cl livre) | 22 | 175 | 348 | 22 | 136 | 348 | 7 | 36 | 94 |
| IODOFOR (46 ppm livre) I | 8 | 140 | 278 | 9 | 87 | 141 | 6 | 43 | 109 |
| (160 ppm livre) I | 14 | 172 | 348 | 11 | 180 | 348 | 15 | 164 | 240 |

TABELA VIII - Contagem de coliformes fecais em filês de Castanha, processados em mesas com tampos de madeira.

Número mais provável por grama de músculo e pele.

| MESAS HIGIENIZADAS COM: | L O C A I S D E A M O S T R A G E M | | | | | | | | |
|----------------------------------|---|-------|--------|--------------|-------|--------|----------------------|-------|--------|
| | Mesa Filetagem | | | Mesa Lavagem | | | Câmara de Congelados | | |
| | mínimo | médio | máximo | mínimo | médio | máximo | mínimo | médio | máximo |
| HIPOCLORITO (50 ppm Cl livre) | 4 | 15 | 31 | 4 | 10 | 21 | 0 | 4 | 12 |
| IODOFOR (46 ppm I livre) | 0 | 18 | 49 | 0 | 8 | 34 | 0 | 4 | 17 |
| (160 ppm I Livre) | 0 | 13 | 27 | 4 | 8 | 14 | 4 | 18 | 21 |

TABELA IX - Contagem de coliformes totais em filês de Castanha, processados em mesas higienizadas com Hipoclorito (50 ppm de Cloro livre).

Número mais provável por grama de músculo e pele.

| MESAS COM TAMPO DE: | L O C A I S | | | D E | | | A M O S T R A G E M | | |
|------------------------|----------------|-------|--------|--------------|-------|--------|----------------------|-------|--------|
| | Mesa Filetagem | | | Mesa Lavagem | | | Câmara de Congelados | | |
| | mínimo | médio | máximo | mínimo | médio | máximo | mínimo | médio | máximo |
| MADEIRA | 28 | 67 | 94 | 7 | 16 | 21 | 4 | 11,5 | 17 |
| AÇO INOXIDÁVEL | 22 | 46 | 94 | 0 | 36 | 17 | 0 | 20 | 49 |

TABELA X - Contagem de coliformes fecais em filês de Castanha, processados em mesas higienizadas com Hipoclorito (50 ppm de Cloro livre).

Número mais provável por grama de músculo e pele.

| MESAS COM TAMPO DE: | L O C A I S | | | D E | | | A M O S T R A G E M | | |
|------------------------|----------------|-------|--------|--------------|-------|--------|----------------------|-------|--------|
| | Mesa Filetagem | | | Mesa Lavagem | | | Câmara de Congelados | | |
| | mínimo | médio | máximo | mínimo | médio | máximo | mínimo | médio | máximo |
| MADEIRA | 0 | 11 | 21 | 0 | 3 | 4 | 0 | 1,5 | 4 |
| AÇO INOXIDÁVEL | 0 | 5 | 14 | 0 | 1,5 | 4 | 0 | 1,5 | 2 |

TABELA XI - Contagem de coliformes totais em Corvina eviscerada, processada em mesas higienizadas com Hipoclorito (50 ppm de Cloro livre).

Número mais provável por grama de músculo e pele.

| MESAS COM TAMPO DE: | L O C A I S | | | D E | | | A M O S T R A G E M | | |
|------------------------|------------------|-------|--------|--------------|-------|--------|----------------------|-------|--------|
| | Mesa Evisceração | | | Mesa Lavagem | | | Câmara de Congelados | | |
| | mínimo | médio | máximo | mínimo | médio | máximo | mínimo | médio | máximo |
| MADEIRA | 12 | 43 | 79 | 9 | 13 | 34 | 0 | 11 | 31 |
| AÇO INOXIDÁVEL | 8 | 34 | 94 | 2 | 11 | 43 | 0 | 7 | 22 |

TABELA XII - Contagem de coliformes fecais em Corvina eviscerada, processada em mesas higienizadas com Hipoclorito (50 ppm de Cloro livre).

Número mais provável por grama de músculo e pele.

| MESAS COM TAMPO DE: | L O C A I S | | | D E | | | A M O S T R A G E M | | |
|------------------------|------------------|-------|--------|--------------|-------|--------|----------------------|-------|--------|
| | Mesa Evisceração | | | Mesa Lavagem | | | Câmara de Congelados | | |
| | mínimo | médio | máximo | mínimo | médio | máximo | mínimo | médio | máximo |
| MADEIRA | 2 | 12 | 23 | 0 | 4 | 12 | 0 | 3 | 21 |
| AÇO INOXIDÁVEL | 0 | 8 | 17 | 0 | 3 | 9 | 0 | 2 | 11 |

TABELA XIII - Controle de enterococcus em filês de Castanha processados em mesas higienizadas com Hipoclorito (50 ppm de Cloro livre).

Número mais provável por grama de músculo e pele.

| MESAS COM TAMPO DE: | L O C A I S D E A M O S T R A G E M | | | | | | | | |
|------------------------|---|-------|--------|--------------|-------|--------|----------------------|-------|--------|
| | Mesa Filetagem | | | Mesa Lavagem | | | Câmara de Congelados | | |
| | mínimo | médio | máximo | mínimo | médio | máximo | mínimo | médio | máximo |
| MADEIRA | 7 | 20 | 43 | 0 | 7,5 | 22 | 0 | 9 | 21 |
| AÇO INOXIDÁVEL | 4 | 10 | 22 | 0 | 1,5 | 4 | 0 | 2 | 6 |

TABELA XIV - Controle de enterococcus em filês de Castanha processados em mesas com tampos de madeira.

Número mais provável por grama de músculo e pele.

| MESAS HIGIENI- ZADAS COM: | L O C A I S D E A M O S T R A G E M | | | | | | | | |
|-------------------------------------|---|-------|--------|--------------|-------|--------|----------------------|-------|--------|
| | Mesa Filetagem | | | Mesa Lavagem | | | Câmara de Congelados | | |
| | mínimo | médio | máximo | mínimo | médio | máximo | mínimo | médio | máximo |
| HIPOCLORITO (50 ppm Cl livre) | 7 | 49 | 109 | 7 | 38 | 94 | 22 | 34 | 43 |
| IODOFOR (46 ppm I livre) | 0 | 35 | 94 | 0 | 26 | 70 | 0 | 23 | 79 |
| (160 ppm I livre) | 2 | 77 | 141 | 9 | 61 | 141 | 17 | 59 | 130 |

TABELA XV - Controle de enterococcus em Corvina eviscerada, processada em mesas higienizadas com Hipoclorito (50 ppm de Cloro livre).

Número mais provável por grama de músculo e pele.

| MESAS COM TAMPO DE: | L O C A I S D E A M O S T R A G E M | | | | | | | | |
|------------------------|---|-------|--------|--------------|-------|--------|----------------------|-------|--------|
| | Mesa Evisceração | | | Mesa Lavagem | | | Câmara de Congelados | | |
| | mínimo | médio | máximo | mínimo | médio | máximo | mínimo | médio | máximo |
| MADEIRA | 9 | 15 | 26 | 2 | 6 | 17 | 0 | 7 | 21 |
| AÇO INOXIDÁVEL | 6 | 13 | 21 | 2 | 4,5 | 11 | 0 | 4 | 13 |

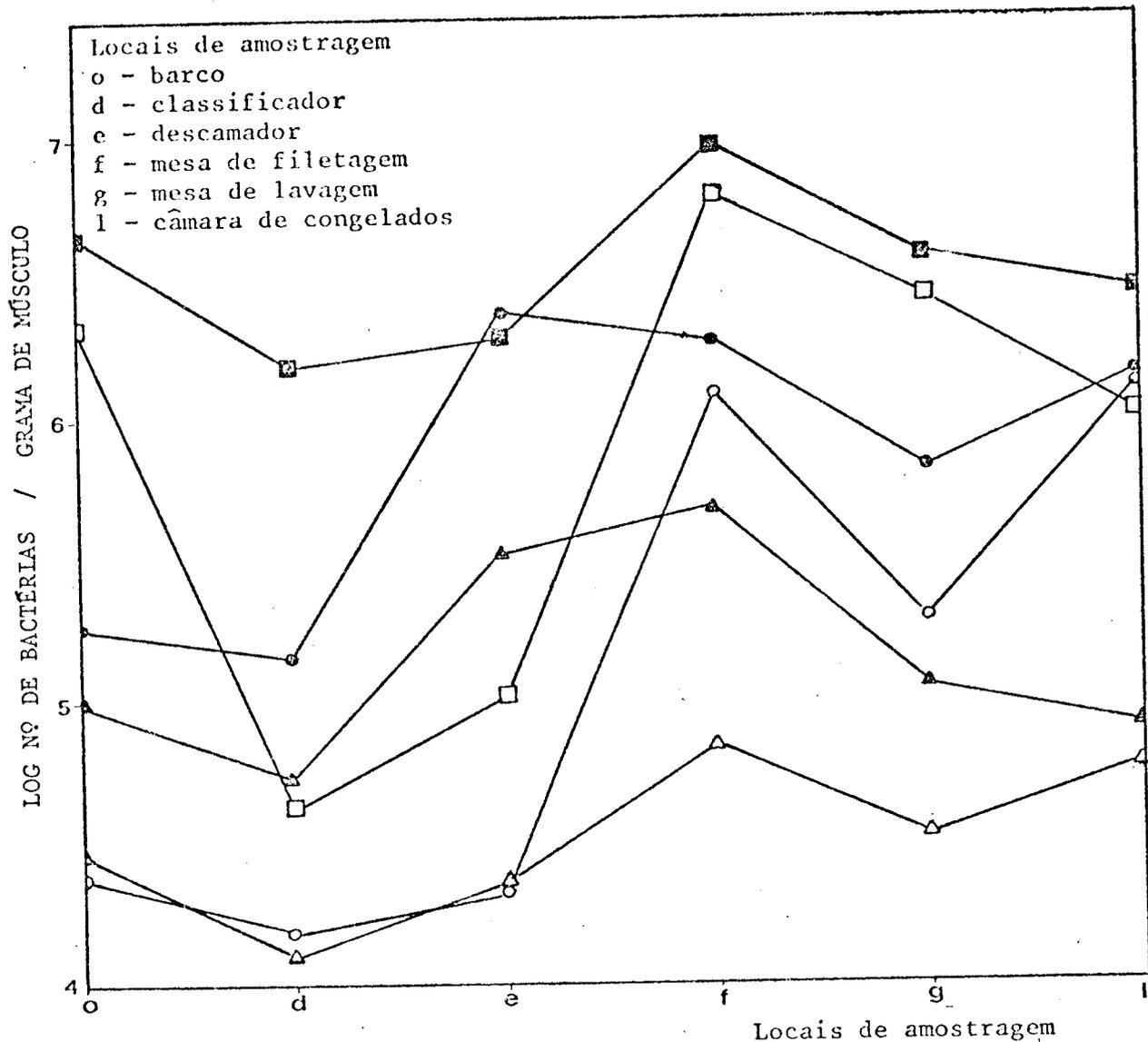


FIG. 1 - Contagem bacteriana das diversas etapas que envolvem o processamento de filês de castanha congelados, quando são utilizadas mesas com tampos de madeira com diferentes processos saneantes.

- = Amostras sem pele, higienização com solução de Hipoclorito a 50 ppm de Cloro livre.
- = Amostras com pele, higienização com solução de Hipoclorito a 50 ppm de cloro livre.
- △ = Amostras sem pele, higienização com solução de Iodoform a 46 ppm de iodo livre.
- ▲ = Amostras com pele, higienização com solução de Iodoform a 46 ppm de iodo livre.
- = Amostras sem pele, higienização com solução de Iodoform a 160 ppm de iodo livre.
- = Amostras com pele, higienização com solução de Iodoform a 160 ppm de iodo livre.

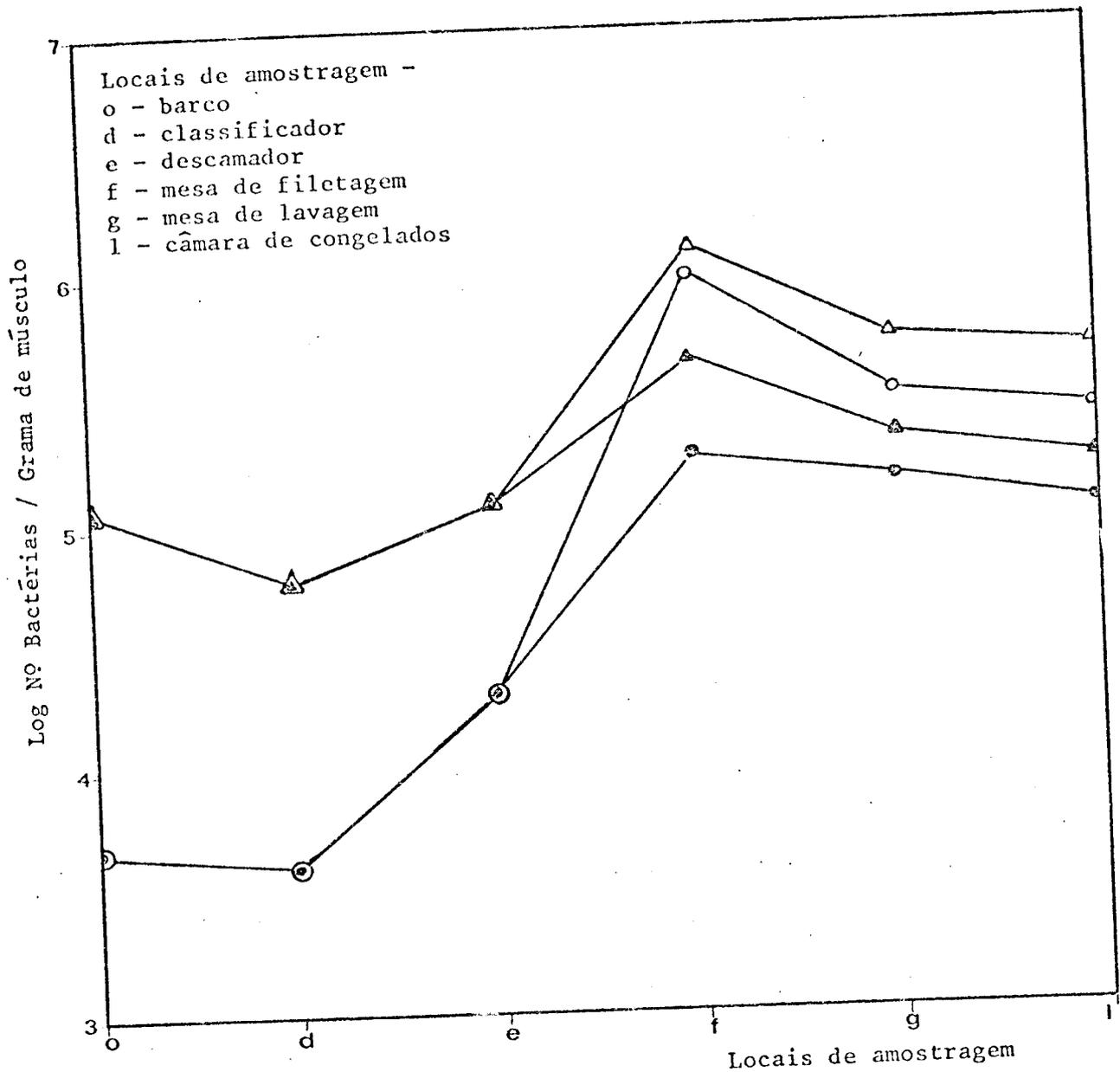


FIG. 2 - Contagem bacteriana das diversas etapas, que envolvem o processamento de filês de castanha quando são utilizadas mesas higienizadas com solução de Hipoclorito a 50 ppm de Cloro livre.

- = amostras sem pele, mesas com tampo de madeira.
- ◐ = amostras sem pele, mesas com tampo de aço inoxidável.
- △ = amostras com pele, mesas com tampo de madeira.
- ▲ = amostras com pele, mesas com tampo de aço inoxidável.

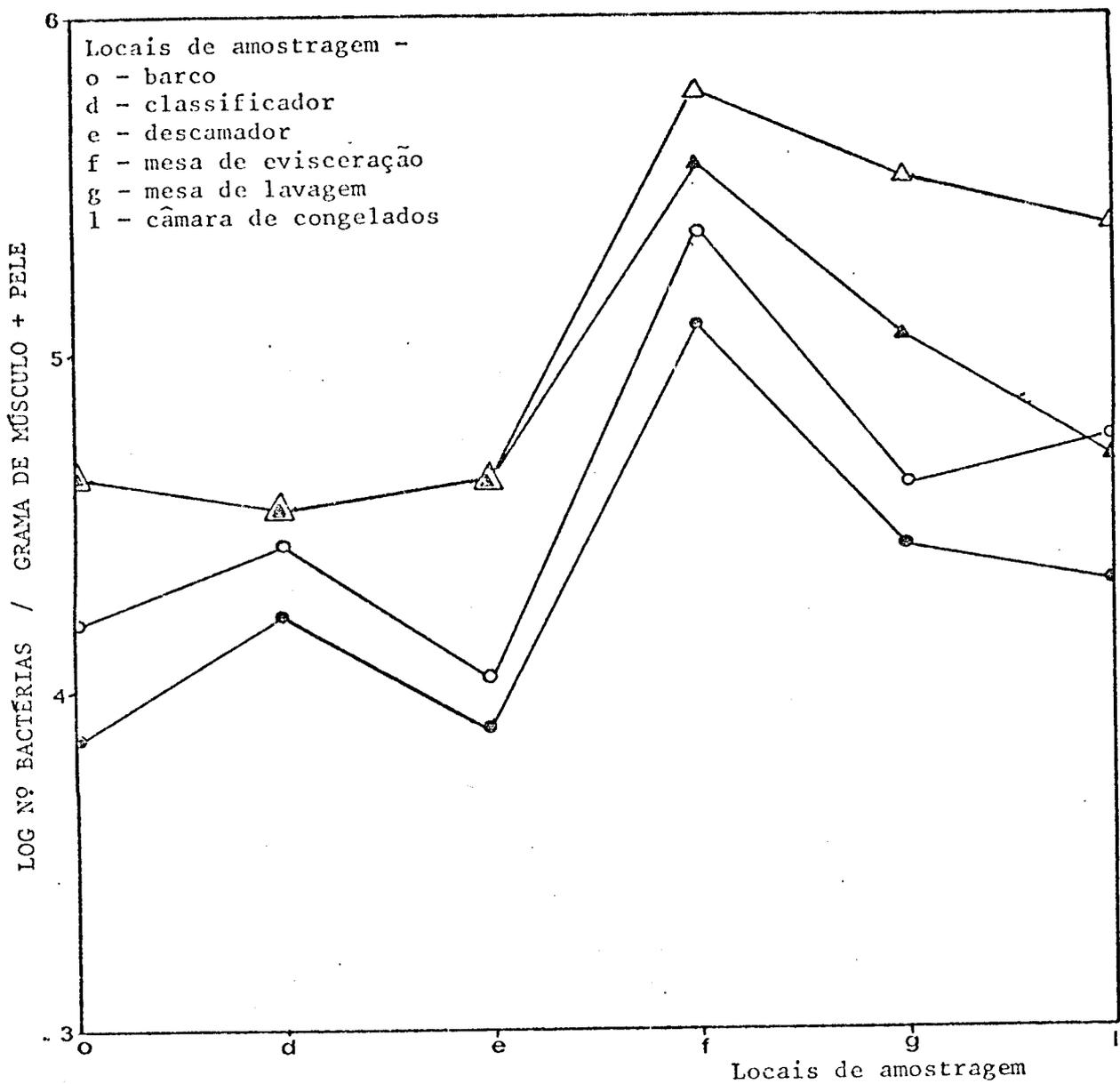


FIG. 3 - Contagem bacteriana das diversas etapas que envolvem o processamento de Corvina eviscerada.

- = amostras com pele, mesas com tampos de madeira, higienizadas com solução de Hipoclorito a 50 ppm de Cloro livre.
- = amostras com pele, mesas com tampos de madeira, higienizadas com solução de Iodofor a 46 ppm de Iodo livre.
- △ = amostras com pele, mesas com tampos de madeira higienizadas com solução de Hipoclorito a 50 ppm Cloro livre.
- ▲ = amostras com pele, mesas com tampos de aço inoxidável, higienizadas com solução de Hipoclorito a 50 ppm de Cloro livre.

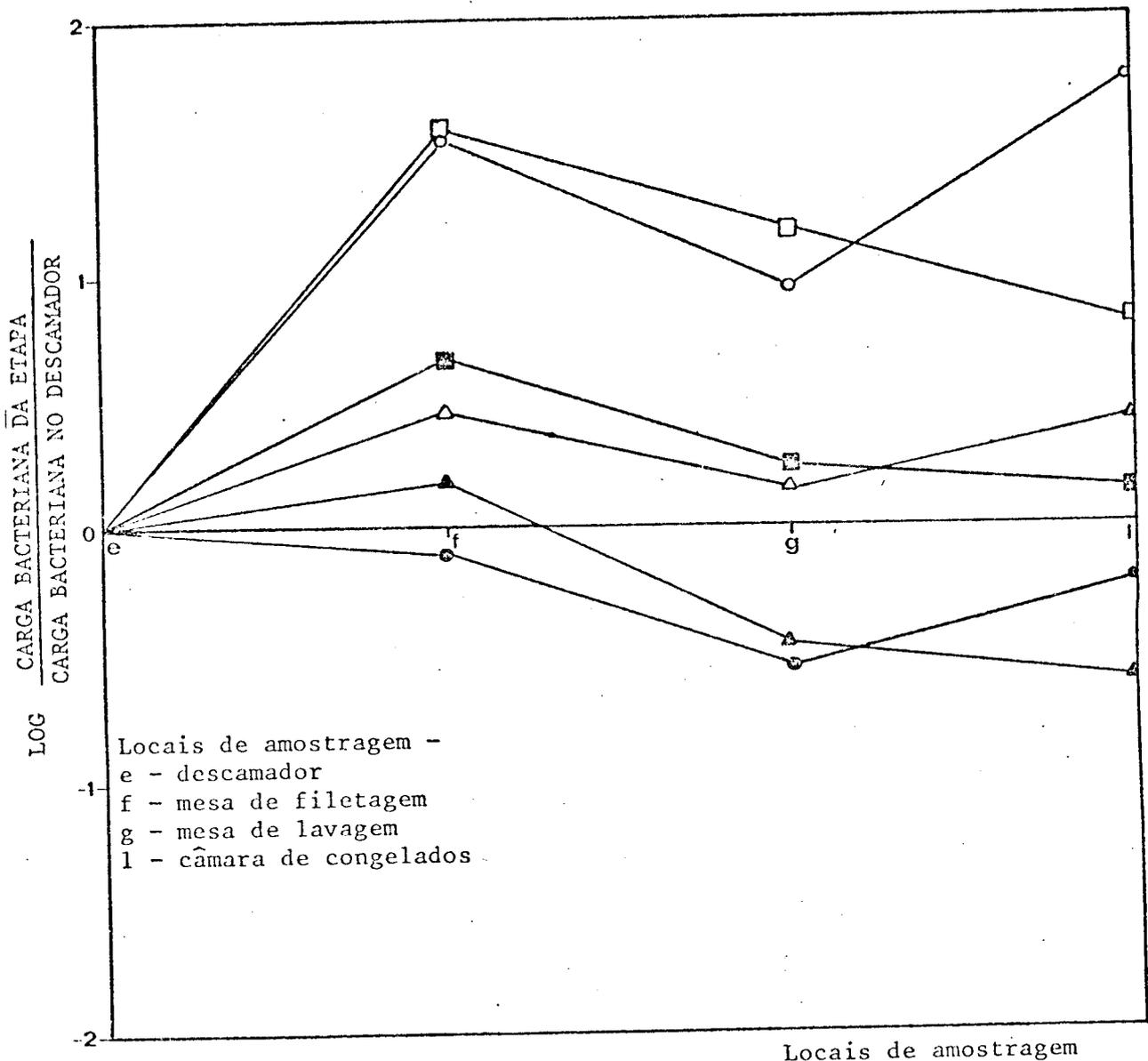


FIG. 4 - Variação de carga bacteriana durante o processamento de filês de Castanha, relacionada a carga bacteriana no descamador, - quando são utilizadas mesas com tampos de madeira, submetidas a diferentes processos de higienização.

- - amostras sem pele, higienização com solução de Hipoclorito a 50 ppm de Cloro livre.
- △ - amostras sem pele, higienização com solução de Iodo a 46 ppm de Iodo livre.
- - amostras sem pele, higienização com solução de Iodo a 160 ppm de Iodo livre.
- - amostras com pele, higienização com solução de Hipoclorito a 50 ppm de Cloro livre.
- ▲ - amostras com pele, higienização com solução de Iodo a 46 ppm de Iodo livre.
- - amostras com pele, higienização com solução de Iodo a 160 ppm de Iodo livre.

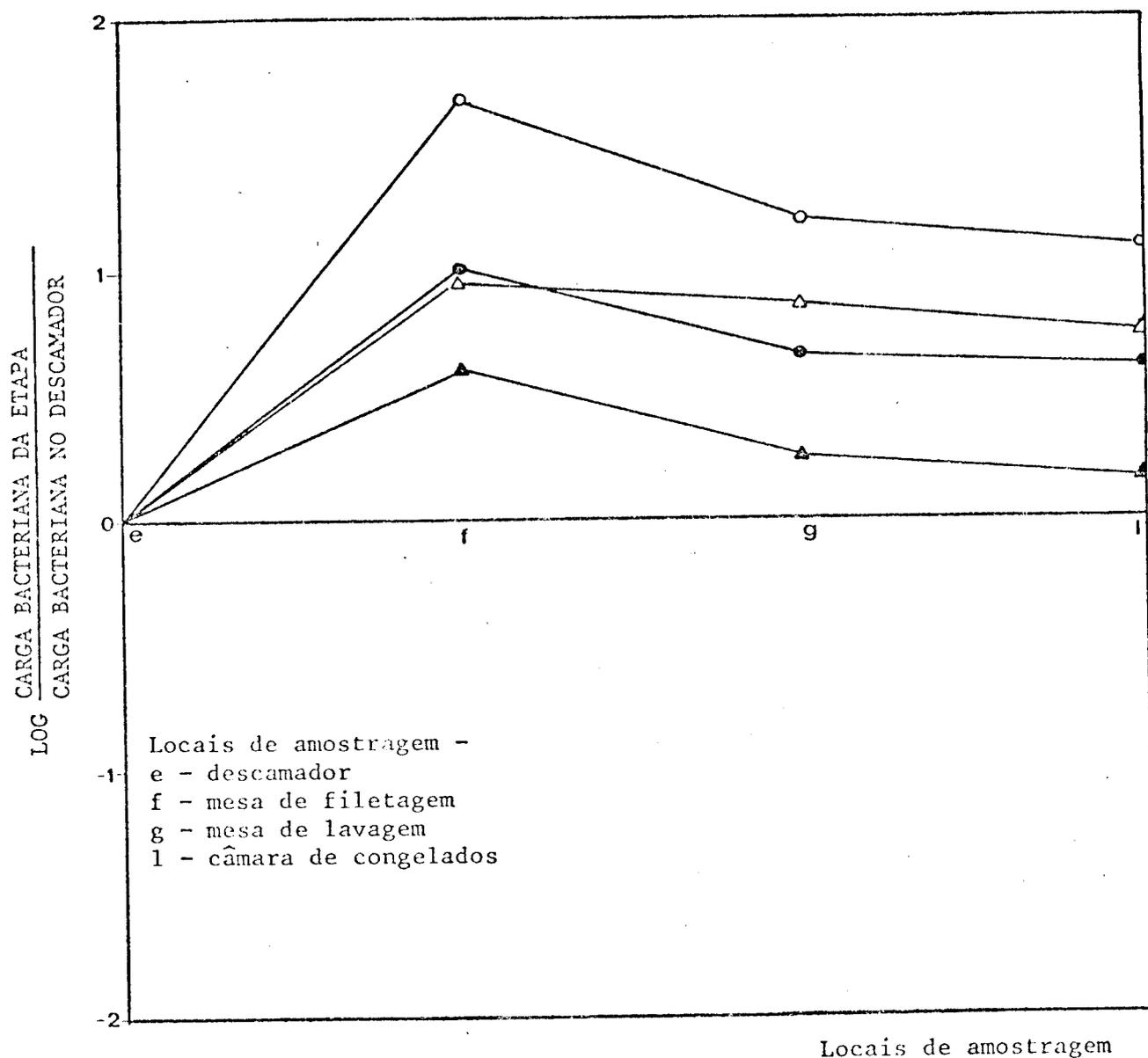


FIG. 5 - Variação de carga bacteriana durante o processamento de filês de Castanha, relacionada a carga bacteriana no descamador, quando são utilizadas mesas higienizadas com solução de Hipoclorito a 50 ppm de cloro livre.

- = amostras sem pele, mesas com tampos de madeira.
- = amostras com pele, mesas com tampos de madeira.
- △ = amostras sem pele, mesas com tampos de aço inoxidável.
- ▲ = amostras com pele, mesas com tampos de aço inoxidável.

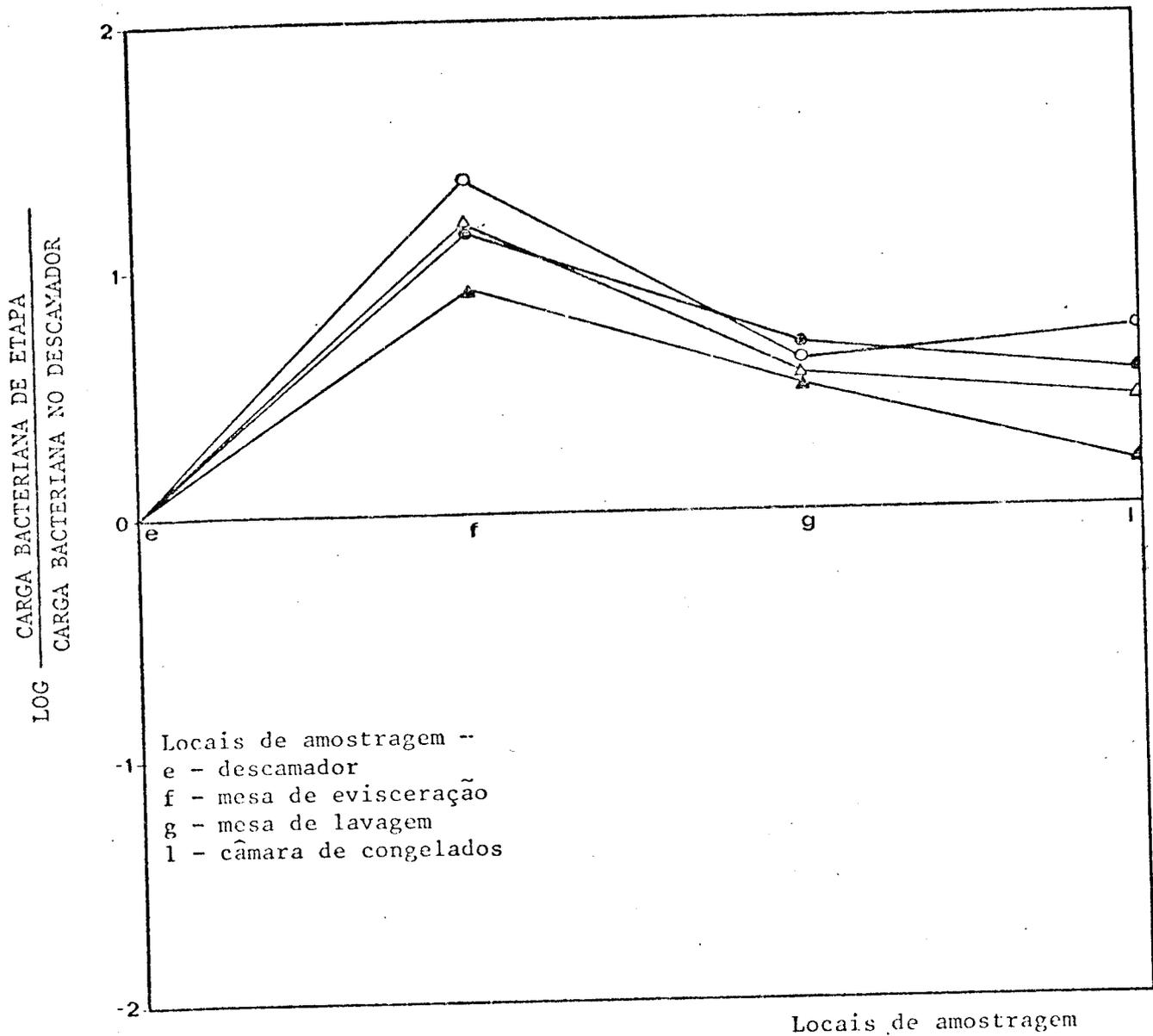


FIG. 6 - Variação de carga bacteriana durante o processamento de Corvina eviscerada, relacionada a carga bacteriana no descamador, quando são utilizadas mesas higienizadas com solução de Hipoclorito a 50 ppm de cloro livre.

- = amostras sem pele, mesas com tampos de madeira.
- = amostras com pele, mesas com tampos de madeira.
- △ = amostras sem pele, mesas com tampos de aço inoxidável.
- ▲ = amostras com pele, mesas com tampos de aço inoxidável.

V-CONCLUSÕES

1. A higienização dos tampos das mesas de processamento de pescado com solução de iodoform, a 46 ppm de iodo livre, se mostrou mais eficiente do que a efetuada com solução de hipoclorito a 50 ppm de cloro livre, na redução da carga bacteriana do produto final.

2. A contaminação microbiana dos filês de Castanha (Umbrina canosai) e Corvina (Micropogon furnieri) eviscerada, é menor quando manipuladas em mesas, cujos tampos de madeira são substituídos por aço inoxidável. O efeito desta troca é equivalente ao da substituição do hipoclorito por solução de iodoform a 46 ppm de iodo livre.

3. Sob o aspecto de saúde pública, não há vantagens em substituir o processo de higienização tradicional por solução de iodoform, pois diferenças nas contagens de coliformes, coliformes fecais e enterococos foram mínimas.

4. A troca dos tampos de madeira por aço inoxidável ocasiona leve redução nas contagens de coliformes e enterococos e considerável redução na contagem total. Apesar das vantagens do uso das chapas de aço inoxidável, os problemas técnicos e econômicos não as tornam recomendáveis. Como pontos negativos temos o alto custo de implantação e manutenção, pouca resistência das facas e cutelos que ficam rebarbados após poucas operações, ao mesmo tempo em que cortam a chapa.

5. A qualidade microbiológica da matéria prima é mais importante para se obter um bom produto final do que as alterações que nos propuzemos experimentar.

VI- SUGESTÕES

1. A instituição de normas e padrões que regulem a qualidade dos produtos da pesca, a fim de que possa ser exercida uma efetiva fiscalização a bordo.

2. Que sejam aplicadas técnicas adequadas, não só na captura, mas na manipulação, estocagem e resfriamento a bordo.

3. No que se refere a manipulação industrial, deve ser implantado um sistema de controle de rotina, que permita manter o produto final sempre dentro dos padrões internacionais vigentes. Também seria interessante a realização de campanha de esclarecimento do pessoal, que manipula o pescado, alertando-o sobre a facilidade de contaminação deste produto e como evitar que isto ocorra, mediante o emprego de práticas sanitárias corretas.

VII-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALLEN, C.H. & FABIAN, F.W. - Comparison of Escherichia coli and Streptococcus faecalis as a test organism to determine the sanitary quality of food. Part I. J. Milk Food Technol. 17 (7): 204-206, 1954.
2. _____ & _____ - Comparison of Escherichia coli and Streptococcus faecalis as a test organism to determine the sanitary quality of food. Part II. J. Milk Food Technol. 17 (8): 237-242, 1954.
3. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - Recommended Methods for the Microbiological Examination of Foods. 2nd. Ed. - Washington, Sharf, J.M., 1966.
4. _____ - Standard Methods for the Examination of dairy products . 13th. Ed. Washington, William J. Hausler Jr., 1974.
5. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION , AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION & WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION - Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 13th. Ed. Washington, Taras, M.J. (AWWA), Greenberg, A.E. (APHA) & Hoak, R.D. and Rand, M.C. (WPCF), 1971.
6. ANONYMOUS - The use of chlorine disinfectants in fish plants . Fisheries Research Board Canada. Progr. Rep. of the Atlantic Coast Station. 40: 9-11, 1947.
7. BARTLETT, P.C. & SCHIMIDT, W. - Surfactant iodine complexes as germicides. Appl. Microbiol. 5: 355-359, 1957.
8. BEDFORD, R.H. - Marine bacteria of the Northern Pacific Ocean . The temperature range of growth. Contrib. Canadian Biol. Fish. 7: 431-438, 1933.
9. BERTULLO, V. - Tecnología de los Productos y Subproductos de pescados, moluscos y crustáceos. Buenos Aires, Editorial Hemisferio Sur, 1975.
10. BRAITHWAITE, P.J. - Iodophors as an aid to sanitation in beer canning plants. J. Food Technol. 8 (3): 269-281, 1973.
11. BURTON, M.O. - Comparison of coliforme and enterococcus organisms as indices of pollution in frozen foods. Food Research. 14: 134-138, 1949.
12. BUTLER, C. - Spoilage of fish prior to freezing. Fish and Wildl. Service, Fishery Leaflet. 428: 1-12, 1959.
13. BUTTIAUX, R. - The value of association Scherichieae Group D Streptococci in the diagnosis of contamination in foods. J. Appl. Bacteriol. 22 (1): 153-158, 1959.

14. CARLSON, C.J.; CARVER, J. & HEERDT, M. - Handling fresh fish at the shore plant. Fishery Leaflet. 428: 39-84, 1956.
15. CASTELL, C.H. - The control of fillet contamination in fish plants. II - The relationship between the initial contamination and the subsequent rate of spoilage. Fisheries Research Board Canada. Progr. Rep. Atlantic Coast Station. 56: 5-9, 1953.
16. ___ - The control of fillet contamination in fish plants. II - The relationship between the initial contamination and the subsequent rate of spoilage. Fisheries Research Board Canada. Progr. Rep. Atlantic Coast Station. 41: 10-14, 1948.
17. ___ - The problem of slime in the sanitation of fish plants. Fisheries Research Board Canada. Progr. Rep. Atlantic Coast Station. 56: 5-9, 1953.
18. ___ - Reduction of bacterial contamination on fillets by washing - the round fish and by the use of mechanical skinners. Progr. Rep. Atlantic Coast Station 56: 10-14, 1953
19. ___ - Spoilage problems in fresh fish production. Fisheries Research Board Canada. Bull. 100: 1-35, 1954.
20. ___ - A simple method of checking on the sources of fillet contamination in fish plants. Progr. Rep. Atlantic Coast Station. 70: 23-27, 1958.
21. ___ ; ANDERSON, G.W. & PIVNICH, H. - Relation of bacterial counts to quality of cod fillets. J. Fisheries Research Board Canada. 7 (6): 378-388, 1948.
22. CHANG, S.L. - The use of active iodine as a water disinfectant. J. Amer. Pharmaceutical Assoc. 47 (6): 417-423, 1958.
23. CHIODI, O.R. - Variaciones estacionales en la composición química de la merluza del Atlántico Sudoccidental industrialización. Departamento de Investigaciones Pesqueras. Argentina. Publicação Serie Carpas 3, Documento Técnico nº 4, 1966.
24. CIBA GEIGY - Higiene Industrial - "IOSAN" Desinfetante multivalente para uso em laticínios e indústrias de bebidas e alimentos. Informações Técnicas do Departamento Biotécnico da Divisão Agroquímica. s/data.
25. DASSOW, J.A. - Handling of fish aboard the vessel. Fishery Leaflet. 428: 13-37, 1956.
26. DEPARTMENT OF FISHERIES OF CANADA - Standard Methods of Bacteriological Analysis for use in fish inspection laboratories. In the Technology of Fish Utilization, by Rudolfo Kreuzer - Fishing News (Books) Ltd. 147-153, 1965.
27. DIFCO LABORATORIES - Difco Manual - 9th Ed. Detroit - USA, 1972.

28. DUSSAULT, H.P. - Effect of freezing on coliform bacteria and detection in frozen fish fillets and blocks. Progr. Rep. Atlantic - Coast Station. 65: 12-14, 1956.
29. DYER, W.J. & DYER, F.E. - Spoilage of freshly cut fillets. Fisheries Research Board Canada. Progr. Rep. Atlantic Coast Station. 38: 10-15, 1949.
30. ELLIOTT, R.P. - Preliminary study of total bacterial plate count method for fishery products. Commercial Fisheries Review. 10 (11): 11-25, 1948.
31. _____ & MICHENER, H.D. - Microbiological Progress Report. Microbiological standard and handling codes for chilled and frozen foods. A Review. Appl. Microbiol. 9 (5): 452-468, 1961.
32. FARBER, L. & LERKE, P. - Studies on the evaluation of freshness and on the estimation of the storage life of raw fishery products. Food Technol. 15: 191-196, 1961.
33. GELDREICH, E.E.; CLARK, H.F.; KABLER, P.W.; HUFF, C.B. & BORDNER, R. H. - The Coliform Group II. Reactions in E. C. medium at 45°C. Appl. Microbiol. 6: 347-348, 1958.
34. GRIFFITHS, F.P. - A review of the bacteriology of fresh marine. Fishery products. Food Research. 2: 121-134, 1934.
35. HAJNA, A.A. & PERRY, C.A. - Comparative study of presumptive and confirmative media for bacteria of the coliform group and for faecal streptococci. Amer. J. Public Health. 33: 550-556, 1943.
36. HAYWARD, M.J. & MACCALLUM, W.A. - Bacteria counts on cod and flounder fillets produced commercially from fish frozen at sea and thawed in water. J. Fisheries Research Board Canada. 26: 3217-3231, 1969.
37. HESS, E. - Bacterial fish spoilage and its control. Food Technol. 4 (12): 477-480, 1950.
38. HURLEY, S.P. - Industrial and legal view-points. Sanitation problems in the fishing industry. Food Technol. (12): 416-418, 1949.
39. INSLATA, N.F.; WITZEMAN, J.S. & SUNGA, F.A. - Fecal Streptococci in industrially processed foods. An incidence study. Food Technol. 23 (10): 86-88, 1969.
40. KING, T.C. & PRICE, P.B. - An evaluation of iodophors as skin antiseptics. Surgery Gynecology & Obstetrics : 361-365, 1963.
41. LANE, J.P. - Recommendations for the sanitary operation of plants that process fresh and frozen fish. Fishery Industrial Research 6 (2): 63-82, 1970.
42. LARKIN, E.P.; LITSKY, W. & FULLER, J.E. - Fecal Streptococci in frozen foods. II - Effect of freezing storage on Escherichia coli - and some fecal Streptococci inoculated onto green beans. III - Effect of freezing storage on Escherichia coli, Streptococcus faecalis and Streptococcus liquefaciens inoculated into orange concentrate. Appl. Microbiol. 3: 102-106, 1955.

43. _____; _____ & _____. - Incidence of faecal Streptococci and coliform bacteria in frozen fish products. Amer. J. Public Health. 46 : 464-468, 1956.
44. LERKE, P.; ADAMS, R. & FARBER, L. - Bacteriology of Spoilage of fish muscle. I - Sterile press juice as a suitable experimental medium. Appl. Microbiol. 11 (5): 458-462, 1963.
45. LISTON, J. - Sanitation and the seafood industry. Assoc. of Food and Drug Officials of the U.S. Quarterly Bull. 34: 158-162, 1970.
46. NEUFELD, N. - The influence of bacteriological standards on the quality of inspected fisheries products. Halifax, Canada. Technical Conference on Fish Inspection and Quality Control - Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1969.
47. NICKERSON, J.T. & SINSKEY, A.J. - Microbiology of Foods and Food Processing. New York, Amer. Elsevier Publishing Co., 1972.
48. RAJ, H. & LISTON, J. - Detection and enumeration of fecal indicator organisms in frozen foods. I - Escherichia coli. Appl. Microbiol. 9 (2): 171-174, 1961.
49. _____ & _____. - Survival of bacteria of public health significance in frozen sea foods. Food Technol. 15 (10). 429-434, 1961.
50. _____ & _____. - Effect of processing on public health bacteria in frozen seafoods. Food Technol. 17 (10): 83-89, 1963.
51. _____; WIEBE, W.J. & LISTON, J. - Detection and enumeration of fecal indicator organisms in frozen foods. II - Enterococci. Appl. Microbiol. 9 (4): 295-303, 1961.
52. REAY, G.A. - The spoilage of fresh and its control. Chemistry & Industry (Rev): 35-39, 1949.
53. _____ & SHEWAN, J.M. - The spoilage of fish and its preservation by chilling. Advances in Food Research 2: 343-398, 1949.
54. ROSS, A.D. & THATCHER, F.S., - Bacteriological content of marketed precooked frozen foods in relation to public health. Food Technol. 12 (7): 369-371, 1958.
55. SHANNON, E.L.; CLARCK, Jr. W.S & REINBOLD, G.W. - Chlorine resistance of enterococci. J. Milk Food Technol. 28 (4): 120-123, 1965.
56. SHEWAN, J.M. - The care and preservation of fish as food. Some bacteriological aspects of handling processing and distribution of fish. J. Royal Sanitary Institute. 69 (4): 394-421, 1949.
57. _____ - Bacteriological Standards for fish and fishery products, Reprinted from Chemistry and Industry. 193-199, 1970.
58. SPENCER, R. - The sanitation of fish boxes. II - The efficiency of various sanitizers in the cleaning of commercial wooden fish boxes. J. Appl. Bacteriol. 23 (1): 10-17, 1960.

59. SUDEPE - FAO - Avaliação da Indústria Pesqueira do Rio Grande do Sul. Capacidade, Produção e Mercado. PDP - SUDEPE - FAO, Série Documentos Opcionais, nº 15, 1976.
60. SYME, J.D. - El pescado y su inspeccion. Espanha, Editorial Acribia, 1968.
61. TARR, H.L.A. & LANTZ, A.W. - The effect of mechanical washing of fish on the keeping quality of fillets prepared from them. Fisheries Research Board Canada. Progr. Rep. of the Pacific - Coast Station. 81: 80-83, 1949.
62. _____ - Microbiological deterioration of fish post mortem its detection and control. Bacteriological Review. 18: 1-14, 1954.
63. USP - Faculdade de Medicina Veterinária. Análises Microbiológicas do IOSAN. s/data.
64. VARGA, S. & ANDERSON, G.W. - Significance of coliforms and enterococci in fish products. Appl. Microbiol. 16 (2): 193-196, 1967.
65. WOOD, A.J.; SIGURDSON, G.J. & DYER, W.J. - The surface concept in measurement of fish spoilage. J. Fisheries Research Board Canada. 6 (1): 56-62, 1942.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Fumio Yokoya pela orientação deste trabalho.

As Direções da Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola da Universidade Estadual de Campinas e do Departamento de Química da Fundação Universidade do Rio Grande.

Ao Professor Paulo Roberto Köetz pelas sugestões apresentadas.

Ao pessoal do Laboratório de Bioquímica do Departamento de Química da Fundação Universidade do Rio Grande.

À Direção e funcionários de LEAL SANTOS PESCADO S/A, pela facilidade de acesso concedida a nós em sua planta industrial durante o período em que desenvolvemos esta pesquisa.