

IDENTIFICAÇÃO DE MICRORGANISMOS ISOLADOS DE
ÁGUA, GELO E CARCAÇAS DE FRANGOS EM DIFERENT
TES FASES DE PROCESSAMENTO

15/84

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS E AGRÍCOLA

IDENTIFICAÇÃO DE MICRORGANISMOS ISOLADOS DE
ÁGUA, GELO E CARCAÇAS DE FRANGOS EM DIFEREN
TES FASES DE PROCESSAMENTO.

Fernando Leite Hoffmann

Biólogo

Prof. Dr. Vanderlei Perez Canhos

Orientador

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrí
cola da Universidade Estadual de Campinas, para a obtenção do
título de Mestre em Ciências de Alimentos.

Parecer

*Este exemplar corresponde a cópia final
da tese defendida por Fernando Leite Hoffmann
e aprovada pela Comissão Julgadora em
CAMPINAS 05.10.84.*

Campinas, 05 de outubro/84

1984

H. H. Hoffmann

Presidente da Banca

Dedico este trabalho
a meus pais
e
a meus irmãos

AGRADECIMENTOS

Agradeço sinceramente ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pela valiosa ajuda prestada através de bolsa de estudo concedida.

Ao Prof. Dr. Vanderlei Perez Canhos, pela orientação.

Ao Prof. Dr. Fumio Yokoya, pela valiosa colaboração.

À Prof.^a Dra. Iracema de Oliveira Moraes, Diretora da Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola.

Ao Prof. Lúcio Alberto Forti Antunes, pelas sugestões apresentadas.

À Prof.^a Dra. Pilar Rodriguez de Massaguer, pela colaboração.

A minha esposa, pela valiosa ajuda e compreensão.

Aos companheiros Crispin, Jair e Paulo Fernando, pelo estímulo.

Ao pessoal do Laboratório de Microbiologia de Alimentos, pela amizade e colaboração.

À ABIA, pelo Auxílio na impressão da Tese.

A todos aqueles que direta ou indiretamente auxiliaram na realização deste trabalho.

CONTEÚDO

	Pág.
ÍNDICE DE QUADROS	i
RESUMO	iii
SUMMARY	iv
 I. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	 1
1. INTRODUÇÃO	1
2. MÉTODOS DE AMOSTRAGEM, ENUMERAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MICRORGANISMOS	2
2.1. Amostragem	2
2.2. Diluição da amostra	2
2.3. Métodos de avaliação da qualidade microbiana.	4
2.4. Caracterização dos isolados	7
3. MICRORGANISMOS DETERIORANTES E PATOGÊNICOS EM AVES	7
4. PREVENÇÃO DA DETERIORAÇÃO	12
4.1. Agentes físicos	12
4.2. Agentes químicos	12
4.3. Gases	17
 II. MATERIAIS E MÉTODOS	 20
1. AMOSTRAGEM	20
2. ENUMERAÇÃO DE MICRORGANISMOS	22
2.1. Diluição	22

	Pág.
2.2. Contagem total de aeróbios	23
2.3. Contagem total de psicrotróficos	23
3. ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE MICRORGANISMOS	23
III. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
1. CONTAGENS MICROBIANAS	25
2. MICRORGANISMOS ISOLADOS	28
IV. CONCLUSÕES	35
V. BIBLIOGRAFIA	36

ÍNDICE DE QUADROS

	Pág.
Quadro 1. Resumo dos métodos de amostragem de carnes discutidos na literatura.....	3
Quadro 2. Métodos de enumeração e isolamento dos principais tipos de microrganismos encontrados em carnes.....	5
Quadro 3. Métodos rápidos para avaliação da contaminação microbiana de superfícies de aves...	6
Quadro 4. Caracterização dos principais microrganismos encontrados em produtos cárneos.....	8
Quadro 5. Deterioração de aves armazenadas à temperatura de refrigeração.....	10
Quadro 6. Microrganismos deteriorantes e patogênicos mais comuns em aves.....	11
Quadro 7. Fatores que interferem na vida útil das aves: temperaturas de escaldamento, resfriamento e refrigeração.....	13
Quadro 8. Fatores que interferem na vida útil das aves: agentes clorados.....	14
Quadro 9. Fatores que interferem na vida útil das aves: antibióticos.....	16
Quadro 10. Contagens microbianas totais (UFC/ml), após 24 horas de incubação a 30°C.....	29

Quadro 11. Contagens microbianas totais e de psicrotróficos (UFC/ml), após 48 horas de incubação a 30°C.....	30
Quadro 12. Contagens microbianas totais (UFC/cm ²) , após 24 horas de incubação a 30°C.....	31
Quadro 13. Contagens microbianas totais e de psicrotróficos (UFC/cm ²), após 48 horas de incubação a 30°C.....	32
Quadro 14. Identificação dos principais microrganismos encontrados nas diferentes fases de amostragem.....	33
Quadro 15. Identificação, a nível de gênero, dos principais microrganismos isolados das diferentes fontes de amostragem.....	34

RESUMO

Objetivou-se, no presente trabalho, a identificação dos principais microrganismos encontrados nas diversas fases de processamento de frangos. Para tal, realizaram-se contagens totais de microrganismos e contagens totais de psicrotroficos da água do esquentador, água de abastecimento, água de "chiller", gelo, aves inteiras após a depenação, aves evisceradas após a passagem pelo "chiller" e antes de serem embaladas.

Foram constatadas similaridades entre as contagens totais obtidas e as apresentadas na literatura.

O meio de cultura Cristal Violeta Tetrazólio, sugerido para contagens de psicrotroficos, mostrou-se eficaz na inibição de crescimento de microrganismos Gram positivos.

Através de testes morfológicos e bioquímicos realizados nos microrganismos isolados, foram identificadas bactérias dos gêneros: *Staphylococcus*, *Acetobacter*, e os psicrotroficos: *Achromobacter*, *Aeromonas* e *Pseudomonas*.

SUMMARY

The objective of the present work was to identify the main contaminant microbial flora found at the different stages of poultry processing. Total counts and psychrotrophic total counts were carried out in the scalding water, washing water, chiller water and slush-ice also in the entire chicken after defeathering and eviscerated chicken after chilling and before packaging.

Similarities were found among the total counts determined and the ones reported in the literature.

Crystal Violet Tetrazolium media suggested for psychrotrophic count was efficient to inhibit growth of Gram positive organisms.

The isolated organisms were examined by biochemical and morphological tests, and microorganisms of the genus *Staphylococcus*, *Acetobacter* and the psychrotrophic *Achromobacter*, *Aeromonas* and *Pseudomonas* were identified.

I. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos o consumo de aves tem aumentado de forma acentuada, quer como decorrência da elevação dos preços de outras fontes de proteína animal, quer como consequência de uma alteração dos hábitos alimentares da população. Assim, é de interesse que se consiga prolongar a vida de prateleira desses produtos.

A carne de aves é facilmente deteriorável, devido ao elevado teor de nutrientes, alta atividade de água e pH próximo à neutralidade, fatores estes que possibilitam a proliferação e o desenvolvimento de microrganismos contaminadores oriundos da própria ave ou de fontes externas, devendo, por esse motivo, ser mantida sob refrigeração ou congelamento (ICMSF, vol. II, 1980).

Nos produtos de origem animal, os microrganismos psicrotróficos, especialmente as bactérias do gênero *Pseudomonas*, são responsáveis por alterações de odor, sabor e cor dos mesmos (Ayres et alii, 1950).

As bactérias pertencentes ao gênero *Pseudomonas* são originárias da pele, pés, intestinos ou outras partes de animais, assim como da água, gelo e dos equipamentos utilizados no processamento (Toule e Murphy, 1978).

Alguns microrganismos ocasionalmente presentes em carnes de aves podem acarretar toxinfecções alimentares, dentre os quais se destacam os pertencentes aos gêneros *Salmonella*,

Clostridium e *Staphylococcus* e cuja presença é devida a técnicas higiênico-sanitárias inadequadas empregadas no abatedouro, na distribuição e no consumo de aves, uma vez que tais microrganismos não se reproduzem a temperaturas ideais de estocagem frigorificada (Barnes e Thornley, 1966).

2. MÉTODOS DE AMOSTRAGEM, ENUMERAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MICRORGANISMOS

2.1. Amostragem

Os métodos de amostragem de carnes podem ser classificados em dois tipos básicos: métodos não destrutivos, como o da membrana "Millipore", esfregação com cotonete, esfregação com cotonete de alginato de cálcio, pressão local com gel nutritivo e enxaguadura; métodos destrutivos, como a excisão de tecido ou retirada de pele (Quadro 1).

Apesar dos métodos destrutivos apresentarem maiores contagens microbianas, têm a desvantagem de danificar parcial ou totalmente a carcaça amostrada, fato que não ocorre com a utilização dos métodos não destrutivos de amostragem.

2.2. Diluição da amostra

A seleção de diluente para a homogeneização e diluição de amostras pode influir bastante na contagem total de microrganismos presentes em carcaças.

Quando comparados o tampão fosfato de Butterfield, solução salina fisiológica a 0,85%, água peptonada a 0,1% e

Quadro 1. Resumo dos métodos de amostragem de carnes discutidos na literatura.

Método de Amostragem	Local de Amostragem	Resultados	Discussões	Referência
Membrana "Millipore" e perfurador com área conhecida.	Superfície de carnes.	Similares entre ambos os métodos.	O filtro "Millipore" é aconselhado como método não destrutivo por sua fácil remoção e dissolução.	Silliker et alii, 1957.
Esfregação com cotonete, com cotonete de alginato, pressão local, excisão de tecidos e enxaguadura de carcaças.	Superfície de carcaças de aves.	Maior efetividade para amostras de frango em ordem decrescente: excisão de tecido, cotonete de alginato, cotonete, pressão local.	Para galinhas, maior efetividade para excisão de tecido e cotonete de alginato, seguidos por cotonete e pressão local.	Fromm, 1959.
Cotonete, retirada de pele e combinação de ambos.	Diferentes pontos de carcaças de aves.	Maior efetividade para combinação de cotonete-retirada de pele, seguida pela retirada de pele.	Regiões mais contaminadas: pescoço, costas e ventre.	Patterson, 1972.
Placa metálica elíptica com área de 8,24 cm ² e esfregação com cotonete.	Diferentes pontos de carcaças bovinas.	O método da placa metálica apresenta simplicidade, rapidez e adaptabilidade à rotina.	Através do método da placa metálica pode-se amostrar qualquer tipo de carcaça.	Yokoya e Zulzke, 1975.
Esfregação com cotonete de alginato de cálcio por 2 meios distintos em área de 12,3 cm ² .	Carcaças de aves.	As contagens microbianas não diferiram significativamente nos 2 meios.	Aconselhado como método não destrutivo.	Thomson et alii, 1976.
Retirada de tecido e esfregação com cotonete de alginato de cálcio em área de 12,3 cm ² .	Superfície de aves frescas e congeladas.	O método de esfregação é o mais fácil e o mais conveniente método de amostragem.	O esfregação, apesar de não destrutivo, pode ser inexistente se for retirada amostra de ave resfriada ou congelada.	Cox et alii, 1976.
Excisão de pele do pescoço e esfregação com cotonete de alginato no peito.	Carcaças de aves.	O método de excisão demonstrou maiores contagens microbianas que o de esfregação em carcaças estocadas a 15°C por 7-18 dias.		Thomson e Bailey, 1978.

água deionizada, como diluentes recomendados para a homogeneização de amostras superficiais de aves, sob diferentes condições de agitação, constatou-se que a água peptonada a 0,1% e a solução salina fisiológica a 0,85% apresentaram contagens mais elevadas do que os outros diluentes utilizados.

No caso de carcaças de frangos, o melhor resultado foi obtido com a água peptonada a 0,1% por um período de agitação de 2 minutos (Avens e Miller, 1970).

2.3. Métodos de avaliação da qualidade microbiana

Dentre os métodos usados para a avaliação da qualidade microbiana de aves destacam-se os métodos convencionais, que apresentam como desvantagem a demora na obtenção de resultados, e os métodos rápidos, que permitem uma estimativa da carga microbiana no produto analisado num menor espaço de tempo e, freqüentemente, a menores custos.

Os principais métodos convencionais de enumeração e isolamento dos diferentes tipos de microrganismos encontrados em carnes estão sumariados no quadro 2; do qual se conclui que as contagens de microrganismos dependem dos meios de cultura utilizados (Silliker et alii, 1958), dos métodos de enumeração (Richmond e Chang, 1978), dos métodos de processamento (Tarver Jr e May, 1963 e Ostowar et alii, 1971), assim como das condições de estocagem dos produtos (Barnes e Thornley, 1966).

Dentre os métodos rápidos para a avaliação da contaminação microbiana de superfície de aves, temos o exame microscópico sob coloração de Gram e o método de redução da re-sazurina, que estão sintetizados no quadro 3.

Apesar desses métodos fornecerem apenas uma estima-

Quadro 2. Métodos de enumeração e isolamento dos principais tipos de microrganismos encontrados em carnes.

Métodos	Amostragem	Resultados e Discussões	Referência
Contagem total de microrganismos e de pseudomonas fluorescentes em meio de King.	Carnes bovinas frescas e aves.	Contagens microbianas totais de até 10 vezes mais no meio de cultura convencional que no meio de King, face ao menor valor nutritivo deste último.	Silliker et alii, 1958.
Contagem total microbiana.	Sacos aéreos de aves submetidas ou não a escaldamento.	Maiores contagens e maior contaminação em sacos aéreos de aves escaldadas que nos de não escaldadas.	Tarver Jr. e May, 1963.
Contagem total microbiana.	Aves estocadas a 1, 10 e 150C.	Vantagens do plaqueamento por superfície para a contagem de microrganismos psicrotróficos sobre o plaqueamento por profundidade, visto que, com esta última técnica, ocorre diminuição dos psicrotróficos pela temperatura do agar fundido. Vantagens do uso de plaqueamento por réplica no isolamento.	Barnes e Thornley, 1966.
Contagem total de aeróbios, coliformes fecais, <i>Salmonella</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Staphylococcus coagulase positiva</i> e psicrotolerantes.	Carnes desossadas de pescoço e dorso de galinhas e perus.	Maiores contagens microbianas ocorriam na carne desossada do que na íntegra. A desossa feita posteriormente ao processamento apresentava maiores contagens que a desossa efetuada como parte do processamento.	Ostowar et alii, 1971.
Plaqueamento por profundidade,	Excrementos desidratados de aves.	Nenhuma diferença entre os resultados obtidos com os 2 métodos. O método de gotas apresenta maior rapidez e economia.	Richmond e Chang, 1978.
Plaqueamento por gotejamento de inóculo com pipeta Pasteur.			

Quadro 3. Métodos rápidos para avaliação da contaminação microbiana de superfícies de aves.

Método	Amostragem	Resultados e Discussões	Referência
Exame microscópico sob coloração Gram.	Esfregação de superfície limosa de pele de peito de aves estocadas a diferentes temperaturas (-0,50C, 1,10C e 3,30C).	Aceitável - número reduzido de microrganismos sob microscopia. Inaceitável- número elevado de microrganismos.	Ziegler et alii, 1954.
Redução de resazurina com incubação a 30°C.	Esfregação com cotonete em área de 10 cm ² de aves estocadas a 4°C por 1-6 dias.	A correlação feita entre a condição das aves e o tempo de redução da resazurina demonstrou que aves frescas possuíam, como tempo de redução, 8 horas ou mais.	Walker et alii, 1959.
Redução de resazurina.	1. Esfregação com cotone<u>t</u>e. 2. Lavagem com seringa.	Similares entre os dois métodos empregados, sendo que para o segundo, o tempo de redução foi de 2 horas para aves próximas à deterioração.	Wells, 1959.

tiva do número de microrganismos existentes em certa amostra, podem ser utilizados quando rapidez e economia nas determinações são desejadas.

O método de redução da resazurina foi realizado à temperatura de 30°C, pois muitos dos microrganismos presentes nas aves e que se desenvolvem durante a estocagem refrigerada são do gênero *Pseudomonas-Achromobacter*, que crescem muito pobrememente a 37°C.

Simultaneamente, foram realizadas contagens totais de microrganismos com incubações a diferentes temperaturas, obtendo-se, a 37°C, 55-60% de Gram negativos; a 30°C, 70-75% de Gram negativos; a 15°C, 85-90% de Gram negativos e a 4°C, mais que 95% de microrganismos Gram negativos (Walker et alii, 1959).

2.4. Caracterização dos isolados

A caracterização dos principais microrganismos encontrados em produtos cárneos, tais como os pertencentes aos gêneros *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Achromobacter-Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Vibrio*, *Xanthomonas*, *Cytophaga*, *Moraxella*, *Staphylococcus* e *Micrococcus*, está baseada nos resultados obtidos de testes morfológicos, fisiológicos e bioquímicos. Os testes mais importantes estão sumariados no quadro 4.

3. MICRORGANISMOS DETERIORANTES E PATOGENICOS EM AVES

Diversos fatores podem colaborar com a deterioração de aves e, dentre eles, deve-se citar a flora microbiana, as características inerentes ao produto, as condições de proces-

Quadro 4. Caracterização dos principais microrganismos encontrados em produtos cárneos.

Testes	Gêneros	Referência
1. Morfologia, 2. Motilidade, 3. Flagelos, 4. Pigmentos, 5. Crescimento a 37°C, 6. Sensibilidade a antibióticos (penicilina e oxitetraciclina), 7. Leite litmus, 8. Caldo glicosado, 9. Gelatina.	<i>Pseudomonas</i> , <i>Aeromonas</i> e <i>Achromobacter</i> - <i>Alcaligenes</i> .	Nagel et alii, 1960.
1. Morfologia, 2. Gram, 3. Oxidase, 4. Sensibilidade a antibióticos, 5. Motilidade, 6. Pigmentos, 7. Fluorescência à U.V., 8. Formação de ácido 2-cetogluconico, 9. Utilização de carboidratos, 10. Coloração de flagelos, 11. Produção de pigmentos.	<i>Pseudomonas</i> , <i>Flavobacterium</i> , <i>Aeromonas</i> , <i>Vibrio</i> , <i>Xanthomonas</i> , <i>Cytophaga</i> e <i>Achromobacter</i> .	Shewan et alii, 1960.
1. Crescimento, 2. Sobrevivência e produção de pioverdina, 3. Atividade extra celular de proteinase, 4. Atividade extra celular de lipase.	<i>Pseudomonas</i> .	Rey et alii, 1969.
1. Morfologia, 2. Gram, 3. Motilidade, 4. Oxidativa/fermentativa, 5. Catalase, 6. Oxidase, 7. Redução do gluconato, 8. Hidrólise do amido, 9. Crescimento a 4 e 41°C, 10. Clivagem de polifenóis orto, 11. Exigência de metionina, 12. Poli-β-OH butirato.	<i>Pseudomonas fluorescens</i> e <i>Pseudomonas putida</i> .	Davidson et alii, 1973.
1. Crescimento em meio de cultura Baird-Parker, 2. Produção de fibrolisina, 3. Pigmentação, 4. Coagulação do plasma bovino e humano, 5. Redução do telurito, 6. Produção do hemolisina.	<i>Staphylococcus aureus</i> .	Deuriese et alii, 1975.
1. Oxidação de glicose, 2. Oxidase.	<i>Pseudomonas</i> , <i>Aeromonas</i> , <i>Achromobacter</i> (<i>Acinetobacter</i>), <i>Micrococcus</i> e <i>Staphylococcus</i> .	Labellec et alii, 1975.
1. Crescimento em meio de agar contagem padrão com pH 7,2, acrescido de fucsina básica, cicloheximida, cloreto de trifetil-tetrazólio, nitrofurantoina e ácido nalidixico.	<i>Pseudomonas</i> .	Grant e Holt, 1977.
1. Crescimento em meio de agar contagem padrão e em meio para psicrotróficos, com classificação posterior.	<i>Pseudomonas</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Moraxella</i> , <i>Flavobacterium</i> .	Newton et alii, 1978.
1. Reação de Gram, 2. Morfologia, 3. Motilidade, 4. Flagelos, 5. Reação de oxidase, 6. Utilização de glicose, 7. Produção de pigmento.	<i>Pseudomonas</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Moraxella</i> e <i>Alteromonas putrefaciens</i> .	Daud et alii, 1979.

samento e temperaturas de estocagem (ICMSF, vol. I, 1978).

A principal causa da deterioração de carcaças de aves evisceradas, armazenadas a temperaturas de refrigeração é a grande incidência e predominância de microrganismos psicotróficos do gênero *Pseudomonas* e *Acinetobacter*, sendo tal deterioração manifestada, principalmente, pelo desenvolvimento de odor e limo superficial nas carcaças (Ayres et alii, 1950).

No caso de carcaças de aves não evisceradas, a deterioração pode ser constatada pelo esverdeamento e odor pútrido que as acompanham, ocasionados pelo desenvolvimento de bactérias intestinais (Barnes e Impey, 1975).

Os resultados das análises de deterioração de aves, feitas por diferentes pesquisadores, estão resumidos no quadro 5.

A temperatura de escaldamento também influi na predominância dos microrganismos deteriorantes de gêneros *Pseudomonas* e *Achromobacter*, assim como a temperatura de armazenamento sob refrigeração propicia o desenvolvimento de *Pseudomonas* e *Acinetobacter* (Clark, 1968 e Barnes, 1976).

O crescimento de microrganismos patogênicos em aves, principalmente *Salmonella* e *Staphylococcus*, está relacionado a más condições de higiene e processamento, estando os dois gêneros implicados em problemas de infecção e toxi-infecção alimentares (ICMSF, vol. II, 1980).

No quadro 6 estão sumariados os microrganismos deteriorantes e patogênicos mais comuns em aves.

Quadro 5. Deterioração de aves armazenadas à temperatura de refrigeração.

Amostra	Temperatura de Estocagem (°C)	Tipo de deterioração	Observações	Referência
Aves evisceradas.	0,5; 4,4; 10.	Desenvolvimento de limo e odor superficial.	Incidência de microrganismos do gênero <i>Pseudomonas</i> .	Ayres et alii, 1950.
Aves.	1.	Por desenvolvimento de flora psicrotrófica.	Maior incidência de <i>Pseudomonas</i> , <i>Acinetobacter</i> e <i>P. putrefaciens</i> .	Barnes e Impey, 1968.
Pele de aves.	5.	Maior retenção de água e desenvolvimento de odor, pela presença de bactérias psicrotolerantes.	Contagens microbianas em torno de 10^8 /g.	Adamcic e Clark, 1970.
Carcças de aves evisceradas e não evisceradas.	4 e 10.	Desenvolvimento de odor para evisceradas e esverdeamento para as não evisceradas.	O desenvolvimento do odor ocorria mais rapidamente a 10°C que a 4°C.	Barnes e Impey, 1975.

Quadro 6. Microrganismos deteriorantes e patogênicos mais comuns em aves.

Gêneros	Crescimento em	Resultados e Discussões	Referência
<i>Pseudomonas, Achromobacter.</i>	Peles de aves escaldadas e não escaldadas.	Maior crescimento de <i>Achromobacter</i> em pele não escaldada, maior crescimento de <i>Pseudomonas</i> em pele escaldada a 59°C e crescimento intermediário dos dois gêneros em pele escaldada a 54°C.	Clark, 1968.
<i>Pseudomonas, Achromobacter.</i>	Peles com pH 6,5; músculo do peito com pH 5,9 ; partes internas do peito com pH 6,0; músculo dos pés com pH 6,4; intestinos com pH 6,5.	Aparecimento de odor na pele em primeiro lugar, sendo que as diferenças no aparecimento de odor não se relacionavam com o pH.	Clark, 1970.
<i>Pseudomonas.</i>	Carnes de peito de aves com água; peles de aves com água; caldos de galinha comerciais; caldos nutritivos.	Apesar de não ocorrer qualquer mudança significativa na produção de odores, as linhagens não pigmentadas produziam odores putrido e amoniacal mais intensos que as linhagens pigmentadas.	Cox et alii, 1975.
<i>Clostridium, Salmonella, Staphylococcus, Pseudomonas, Acinetobacter.</i>	Carcças de aves processadas.	O desenvolvimento de <i>Clostridium, Salmonella</i> e <i>Staphylococcus</i> deu-se devido a condições inadequadas de higiene, enquanto que o crescimento de <i>Pseudomonas</i> e <i>Acinetobacter</i> deveu-se ao armazenamento a baixas temperaturas.	Barnes, 1976.
<i>Aeromonas, Proteus, Pseudomonas, Arthrobacter, Flavobacterium, Microbacterium, Corynebacterium, Bacillus, Staphylococcus.</i>	Aves cozidas refrigeradas. Meio ambiente.	A deterioração das aves ocorria em 5-18 dias, sendo os microrganismos mais deteriorantes <i>Pseudomonas putida</i> e <i>Aeromonas hydrophila</i> .	Toule e Murphy, 1978.

4. PREVENÇÃO DA DETERIORAÇÃO

4.1. Agentes físicos

Dentre os fatores que podem interferir na vida de prateleira de aves, temos o efeito das diferentes temperaturas de escaldamento, resfriamento e refrigeração. Os resultados obtidos da literatura, estão sintetizados no quadro 7.

4.2. Agentes químicos

4.2.1. Cloro e derivados

Os agentes clorados (cloro, dióxido de cloro e hipoclorito de sódio) podem ser utilizados em diferentes etapas de processamento de aves, aumentando a vida útil do produto.

O cloro é efetivo contra grande número de espécies, esporos bacterianos e bacteriófagos, não é afetado pela água dura e é relativamente barato quando comparado a outros agentes químicos.

Apesar disso, requer alguns cuidados pois é corrosivo, pode provocar irritações na pele dos manipuladores, é afetado pela matéria orgânica, sua atividade decresce com o armazenamento e aumento do pH (ICMSF, vol. I, 1978).

As pesquisas referentes ao emprego de cloro e derivados no processamento de aves estão resumidas no quadro 8.

O uso do dióxido de cloro pela avicultura foi sugerido porque o ClO_2 possui maior solubilidade em água que o cloro, não se combina com a amônia ou compostos nitrogenados, incluindo aminoácidos, e não tem sua ação enfraquecida em pH alto (Lillard, 1979).

Quadro 7. Fatores que interferem na vida útil das aves: temperaturas de escaldamento, resfriamento e refrigeração.

Temperatura empregada	Material	Resultados e Discussões	Referência
Escaldamento: 53,3°C por 50, 55 e 60"; 57,7°C por 45"; 58,8°C por 30 e 60"; armazenamento: 1,1°C; 3,3°C.	Aves frescas resfriadas em bandejas.	Foram encontradas similaridades nas contagens microbianas e desenvolvimento de limo superficial nas diferentes temperaturas de escaldamento, sendo que não ocorrem diferenças na vida de prateleira.	Essary et alii, 1958.
Diferentes tratamentos térmicos.	Carcacas de aves.	Dentre os diferentes tratamentos térmicos, o banho de água a 70°C por 2 minutos foi o melhor na redução de <i>S. aureus</i> , variando as reduções de 63-99%, sem a completa eliminação de outros microrganismos.	Paterson, 1975.
Resfriamento.	Aves de duas diferentes plantas de processamento.	As contagens totais de microrganismos foram baixas em aves vivas, aumentando após a depenação e diminuindo no pré-resfriamento e resfriamento. Os psicrotolerantes comportavam-se de modo similar na depenação, porém aumentavam rapidamente durante a lavagem e resfriamento, tendo estes últimos grande importância na redução da vida útil do produto.	Clark e Lentz, 1969.
Resfriamento.	Aves retalhadas e empacotadas a quente, lavadas e imersas em resfriador.	Aves empacotadas a quente mostraram 5 a 7 dias a mais de vida útil que aquelas somente resfriadas por imersão, sendo que partes lavadas apresentavam vida útil intermediária entre os dois tratamentos.	Arafa e Chen, 1977.
Resfriamento: circulação de ar a 4,4°C; mistura de água e gelo com agitação; água gelada a 0,5°C com agitação.	Carcacas de frangos evisceradas.	O uso do resfriamento com mistura de água, gelo e agitação reduzia o número de bactérias por cm ² de pele, em quanto que o resfriamento com circulação de ar aumentava as contagens.	Casale et alii, 1965.
Estocagem a 3°C.	Patês de galinha, embalados em filme de polietileno, selado a quente.	Após 10 dias de estocagem, as contagens totais evoluíram de 9x10 ³ a 7x10 ⁶ , não ocorrendo mudanças de cor no produto pelo período de 2 semanas, apresentando bom visual ao fim da estocagem.	Cunningham e Bowers, 1977.
Refrigeração.	Moelas de aves de diferentes fontes.	A vida de prateleira da moela é sensivelmente menor que a da carne refrigerada. A vida útil das moelas variou de 2,41 a 3,92 dias.	Charoenpong e Chen, 1979.

Quadro 8. Fatores que interferem na vida útil das aves: agentes clorados.

Agentes clorados	Uso	Resultados e Discussões	Referência
Cloro.	Água de resfriamento de aves.	Maior efetividade quando usadas 10-20 ppm de cloro, quanto à preservação do produto. Observaram também maior efetividade da água de resfriamento clorada em aves escaldadas a 52,8°C por 40 segundos que nas escaldadas a 59,4°C por 40 segundos.	Ziegler e Stadelman, 1955.
Cloro.	Água de resfriamento de aves evisceradas.	Destruição da maioria das bactérias com uso de 45-50 ppm de cloro por 5 litros de água por carcaça ou 25-30 ppm por 8 litros de água por carcaça, sendo mais efetiva a cloração na água de resfriamento que a injeção contínua de gás cloro no tanque.	Mead e Thomas, 1973.
Cloro.	Água de resfriamento de aves evisceradas.	Maior efetividade do cloro com o uso de unidades de resfriamento, pela lavagem do material orgânico da carcaça e diluição sucessiva dos microrganismos.	Mead e Thomas, 1973.
Cloro. Dióxido de cloro.	Água de resfriamento de aves.	Igualmente bactericidas 5 ppm de ClO ₂ e 34 ppm de Cl ₂ ou 20 ppm de Cl ₂ e 3 ppm de ClO ₂ . O uso de ClO ₂ na indústria foi sugerido devido às vantagens do mesmo sobre o cloro.	Lillard, 1979.
Hipoclorito de sódio.	Água de lavagem final de carcaças de frangos.	Menores contagens microbianas e de coliformes quando usado o hipoclorito de sódio com 40-60 ppm de cloro.	Sanders e Blackshear, 1971.

4.2.2. Antibióticos

Após o grande sucesso terapêutico do emprego de antibióticos para o controle de doenças ocasionadas por bactérias, foram realizados vários estudos com o intuito de utilizar os antibióticos como agentes conservadores de alimentos.

Uma vez comprovado que o tratamento térmico causava a destruição de clorotetraciclina e oxitettraciclina, permitiu-se o uso destes antibióticos nos EUA a partir de 1955, em alimentos que sofressem posterior cocção. Os estudos relacionados com a utilização de antibióticos em aves estão apresentados no quadro 9.

Entretanto, Ng et alii (1957) e Walker e Ayres (1958) observaram o desenvolvimento de bactérias resistentes aos antibióticos regularmente utilizados em plantas de processamento de aves.

Estes e outros estudos implicaram na rescisão da permissão do emprego destes aditivos nos EUA.

Na legislação brasileira, os antibióticos foram introduzidos na lista de conservadores (P. VI) em 1965, sendo cancelada a permissão para o emprego destes aditivos em alimentos no ano de 1978.

4.2.3. Conservadores

De acordo com a legislação brasileira, não existe permissão específica para o emprego de agentes conservadores em aves.

Entretanto, trabalhos de Robach (1978, 1979) demonstraram que o sorbato de potássio é eficiente na inibição do

Quadro 9. Fatores que interferem na vida útil das aves: antibióticos.

Tipo(s)	Uso	Resultados e Discussões	Referência
Clorotetraciclina.	Águas de resfriamento de aves.	A adição de 10-30 ppm de clorotetraciclina na água de resfriamento aumentava a vida útil do produto de 14 dias ou mais.	Kohler et alii, 1955.
Clorotetraciclina.	Águas de resfriamento de aves.	O antibiótico produzia efeito benéfico após 10 dias de estocagem, sendo mínimo nos primeiros dias.	Essary et alii, 1960.
Clorotetraciclina, Oxitetetraciclina, Tetraciclina.	Águas de resfriamento de aves.	Maior eficiência da clorotetraciclina (10-30 ppm) no prolongamento da vida útil do produto, seguida da oxitetetraciclina (30 ppm).	Ayres et alii, 1956.
Clorotetraciclina, Oxitetetraciclina, Tetraciclina.	Águas de resfriamento de aves.	Com o uso de 20 ppm de cada antibiótico, foi verificado que ocorria um aumento na vida útil do produto conforme antibiótico usado (maior com tetraciclina, intermediário com clorotetraciclina e menor com oxitetetraciclina).	Vaughn et alii, 1957.
Clorotetraciclina, Oxitetetraciclina, Tetraciclina.	Águas de resfriamento de aves.	Aumento na vida útil do produto de 61,4% com o uso de clorotetraciclina, 23,8% com oxitetetraciclina e 39,4% com tetraciclina, quando o produto foi estocado a 30°C.	Wells et alii, 1957.
Clorotetraciclina, Oxitetetraciclina, Tetraciclina.	Águas de imersão de aves.	Não ocorreu decréscimo apreciável da potencialidade das tetraciclina durante estocagem a 40°C.	Walker e Ayres, 1958.

crescimento de *Pseudomonas fluorescens* em alimentos refrigerados, desde que usado na concentração de 0,05% em pH 5,5 ou 0,20% em pH 6,0.

O mesmo pesquisador também observou que a imersão de aves em solução de sorbato de potássio, a 5% por 30 segundos, aumentava a vida útil do produto em 9 dias.

4.2.4. Cloroacetamida e iodoacetamida

O uso de cloroacetamida e iodoacetamida, na concentração de 5000 ppm, inibiu o crescimento de 5 culturas isoladas de aves e de *Pseudomonas fluorescens*, *Alcaligenes viscolactis* e *Salmonella typhimurium*, inoculadas em aves, conseguindo-se uma vida útil do produto, em média, de 10 e 11 dias respectivamente, maior portanto que a vida útil de 7,5 dias das amostras controle (Islam et alii, 1978).

Outros compostos, como o ácido ascórbico, podem ser utilizados para propiciar um aumento na vida útil de aves.

Tal fato foi demonstrado por Arafa e Chen (1978), que observaram que a imersão de aves em solução de ácido ascórbico a 1% em pH 2,75 por 3 minutos e à temperatura de 1-2°C, retardava o crescimento microbiano, prolongando a vida útil do produto por 6 a 7 dias.

4.3. Gases

Dentre os gases utilizados para a preservação de alimentos, o dióxido de carbono é um dos mais usados, pois pode destruir ou inibir o crescimento de microrganismos (bólores, leveduras e bactérias Gram negativas principalmente), de

pendendo, para tanto, do tipo de microrganismo, da concentra
ção de CO₂ utilizada, da temperatura de incubação, estocagem
ou de distribuição, da idade das células quando o gás for aplica
do e da atividade de água do produto ou meio de cultura
(ICMSF, vol. I, 1978).

O dióxido de carbono é usado, geralmente, na concentra
ção de 10-40% em alimentos como carnes vermelhas e de aves.

Dentre as bactérias Gram positivas, o gênero mais
resistente à ação do CO₂ é o *Lactobacillus*, sendo que os gêneros
Pseudomonas e *Achromobacter* (Gram negativos, aeróbios)são
os mais afetados, o que constitui fato de grande importância,
pois estes últimos crescem com grande rapidez em carnes, pro-
duzindo, principalmente, alteração de odores, quando estoca-
das a baixas temperaturas.

Os microrganismos patogênicos têm o seu crescimento
ou desenvolvimento inibido quando crescem em baixas temperaturas
pelo rápido desenvolvimento de microrganismos psicrotrófi
cos deteriorantes competitivos, os quais possuem como tempe-
ratura mínima de crescimento -5 a 5°C, ótima de 25 a 30°C e
máxima de 30 a 35°C).

O uso do dióxido de carbono inibe o crescimento de
Pseudomonas fluorescens, desde que o aumento da pressão de
CO₂ seja superior a 100 mm de Hg (Gill e Tan, 1979).

A estocagem de aves a 65% de CO₂ permite um dia a
mais de vida útil do produto que as estocadas a 20% de CO₂, e
quase 5 dias a mais que as embaladas em gelo, sem a presença
do gás.

Finalmente, a ação seletiva do CO₂ sobre os micror-
organismos foi também verificada, uma vez que as carcaças esto-
cadas na presença de CO₂ apresentavam odor ácido e mais de

90% dos microrganismos presentes pertenciam ao gênero *Lactobacillus*, enquanto que as mantidas em gelo possuíam um odor pútrido e 95% das bactérias encontradas pertenciam ao gênero *Pseudomonas*, não apresentando pigmentação (Bailey et alii, 1979).

II. MATERIAIS E MÉTODOS

1. AMOSTRAGEM

As etapas envolvidas no processamento de aves, no abatedouro em que foram feitas as amostragens, estão descritas no fluxograma 1, sendo que a capacidade de abate era, em média, de 10000 aves por dia.

As condições de processo relevantes para a amostragem microbiológica estão apresentadas abaixo:

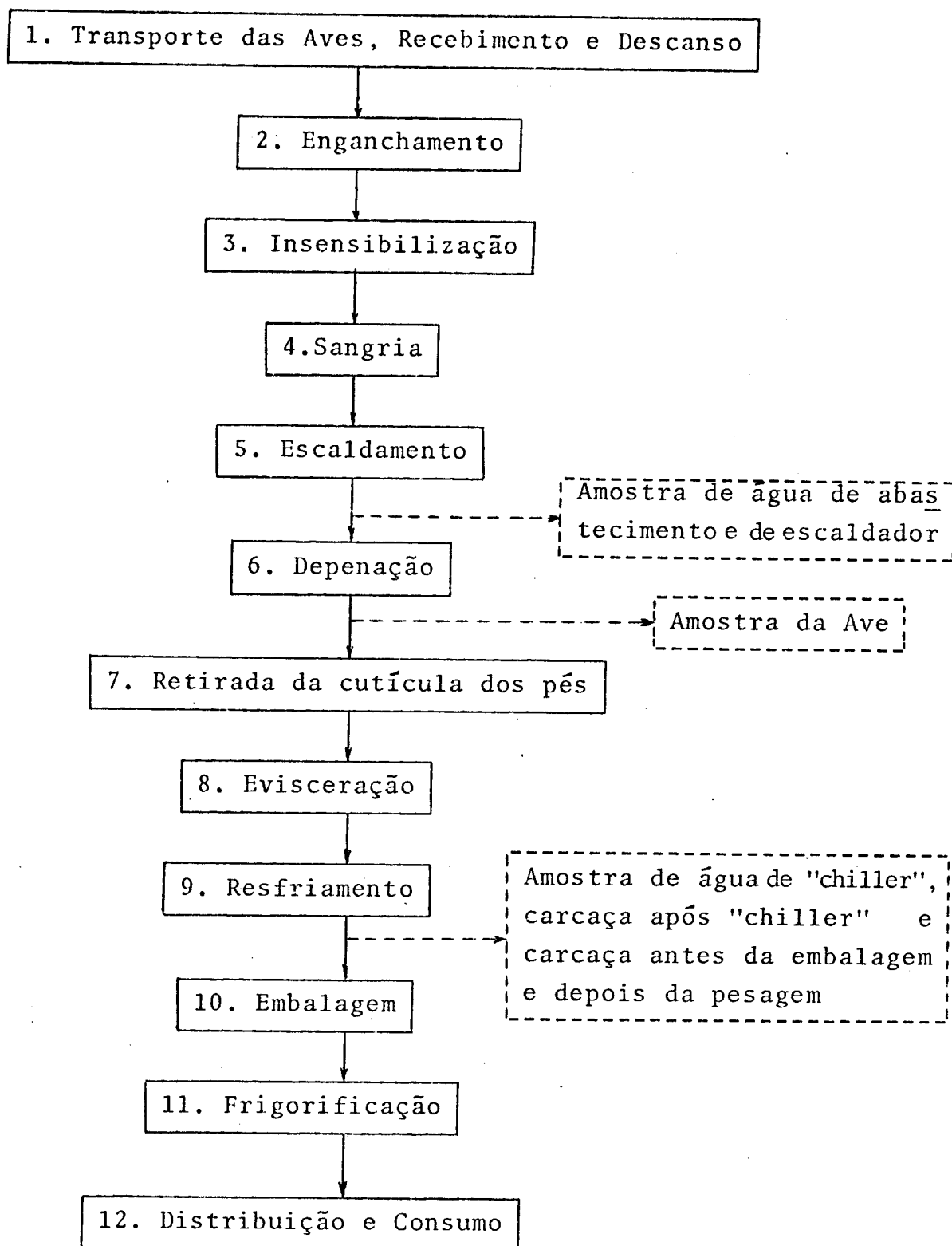
Escaldamento: realizado em tanque tipo "Escaldiflex", com rigoroso controle de temperatura e vazão de água. As aves permaneciam imersas no tanque de escaldamento por 60 segundos, a uma temperatura de 55°C.

Depenação: feita em depenadeira de disco tipo "Discoflex", complementada por depenadeira tipo "Roloflex" e depois manualmente, em partes não atingidas por processos mecanizados.

Evisceração: efetuada por corte transversal na parte inferior do abdome da ave e posterior tração das vísceras abdominais para o exterior, onde ocorre a inspeção.

Resfriamento: realizado em tambor com parafuso de rosca sem fim tipo "Grecochill", com água e gelo em escamas, onde as carcaças são mergulhadas, percorrendo a sua extensão em 40 minutos a uma temperatura de 3°C. O equipamento é provido de borbulhamento de ar, facilitando o movimento e o tombo das carcaças para a renovação de água interna e perfeito res

Fluxograma 1. Etapas de processamento de frango e retiradas de amostras.



friamento.

Foram retiradas amostras de água de abastecimento , água do escaudador, água do "chiller", (tanque de resfriamento) e gelo, utilizando-se frascos estéreis devidamente identificados e abertos somente por ocasião da retirada do material em questão.

Foram retiradas também amostras de aves após a depenação, aves após a passagem pelo "chiller" e aves antes de serem embaladas (ave final), através da técnica de fricção de um cotonete em uma área delimitada por uma placa metálica elíptica de 8,24 cm², colocada sobre a pele do peito das mesmas, nas diferentes etapas de processamento.

Foi escolhida a região peitoral das aves pelo fato de que a mesma se adapta mais facilmente à placa metálica elíptica utilizada.

As amostragens foram tomadas em 10 dias diferentes.

Os cotonetes, após a amostragem, foram transferidos para tubos de ensaio com tampas rosqueáveis, contendo água peptonada a 0,1%,estéril, sendo os tubos posteriormente agitados para a dispersão dos microrganismos coletados do cotonete.

As amostras dos esfregaços de aves, de água e gelo, foram colocadas em caixas de isopor envolvidas com gelo em escamas e transportadas imediatamente ao laboratório, onde foram efetuadas as análises, num prazo de tempo inferior a uma hora após a coleta destes materiais.

2. ENUMERAÇÃO DE MICRORGANISMOS

2.1. Diluição

Assim que as amostras chegavam ao laboratório, procediam-se as diluições decimais, utilizando-se tubos de ensaio contendo 9,0 ml de água peptonada a 0,1%, estéril.

2.2. Contagem total de aeróbios

A contagem total dos microrganismos presentes nas diferentes amostras foi realizada empregando-se a técnica de inoculação por superfície, com 0,1 ml de inóculo. Empregou-se o meio de cultura "Plate Count Agar" (PCA) com incubação por 24 horas com posterior contagem, continuação da incubação até 48 horas, com nova contagem ao final deste último período.

2.3. Contagem total de psicrotróficos

A contagem total de microrganismos psicrotróficos foi realizada em meio de cultura Cristal Violeta Tetrazólio (CVT), utilizando-se o método de inoculação por superfície, com 0,1 ml de inóculo e incubação a 30°C por 48 horas (Speck, 1976).

3. ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE MICRORGANISMOS

As colônias de microrganismos crescidas nos diferentes meios de cultura e que possuíam características visuais semelhantes, eram transferidas para tubos de ensaio contendo o meio PCA inclinado e incubadas a 30°C por 24 horas, seguidas de estocagem a 10°C.

Se necessário, repetiam-se as repicagens para asse-

gurar a pureza das colônias isoladas.

A identificação dos microrganismos encontrados nas diferentes fases de amostragem, foi realizada de acordo com o comportamento frente aos seguintes testes: motilidade, fluorescência à luz ultra-violeta, coloração de Gram, oxidase, desidrolase de arginina, oxidação/fermentação, catalase e morfologia (Harrigan e McCance, 1976).

III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. CONTAGENS MICROBIANAS

Examinando-se os quadros 10 e 11 verifica-se, como era esperado, que as contagens microbianas totais foram maiores a 48 horas de incubação que a 24 horas, para todas as amostras.

Pelos dados constantes nesses quadros, pode-se observar que o comportamento dos resultados das contagens de psicrotróficos foi semelhante ao daqueles apresentados pelas contagens totais.

Desta forma, a ordem das contagens pode ser estabelecida da seguinte maneira: a água do escaaldador apresentou maiores contagens que a do "chiller", e esta, por sua vez, maiores que a água de abastecimento.

Isto se explica, também, pelo fato da água do escaaldador estar sujeita a maior carga microbiana, uma vez que várias aves são nela imersas, simultaneamente, bem como porque a temperatura do escaaldador propicia, possivelmente, um maior desenvolvimento de microrganismos.

A água de abastecimento, que se caracteriza pela temperatura menor que a água do escaaldador, apresentou contagens inferiores que as demais amostras, provavelmente por ser de boa qualidade microbiológica.

A água do "chiller", que possui temperatura menor que a do escaaldador e a de abastecimento, apresentou contagens microbianas maiores que o gelo, por causa da menor tempe

ratura do mesmo, e que da água de abastecimento, por sua qualidade microbiana, com contagens menores, porém, que as da água do escaudador, em razão da maior temperatura desta.

Um outro motivo pelo qual as contagens microbianas se apresentaram maiores na água do "chiller", reside no fato de haver contato das carcaças entre si, no tanque, o que contribui com a contaminação da água.

O gelo, que possui temperatura menor que as outras fontes, apresentou contagens superiores somente à água de abastecimento, fato que pode ser explicado pelo mesmo ficar exposto ao ambiente do abatedouro, sendo uma parte dele acrescentado ao "chiller" manualmente, o que representa nova causa de contaminação.

Pela observação dos quadros 12 e 13, verifica-se que as contagens microbianas totais foram maiores a 48 horas de incubação que a 24 horas, para todas as amostras, obtendo-se contagens microbianas totais na seguinte ordem: a ave final, antes de ser embalada, apresentou contagens maiores que a ave após a passagem pelo "chiller" e esta, maiores contagens que ave após a depenação.

Por sua vez, as contagens de psicotróficos apresentaram a seguinte ordem de grandeza, em escala decrescente: a ave antes de ser embalada, ou ave final, apresentou maiores contagens que a ave após a depenação e esta, maiores contagens que a ave após a passagem pelo "chiller".

O fato da ave final ter apresentado maiores contagens microbianas, possivelmente se deve à ação da temperatura do ambiente e do transporte da mesma na nória, o que deixa as aves mais sujeitas a contaminações.

Como as aves são despejadas em uma calha de aço ino

xidável, pesadas e embaladas manualmente, no final do processamento, a contaminação pelo manuseio assume um papel relevante na microflora total da carcaça.

As aves amostradas após a passagem pelo "chiller" apresentaram contagens microbianas intermediárias entre a ave final e a ave após a depenação, em razão de sua temperatura e por estarem sujeitas à contaminação da água e do gelo empregados no tanque de resfriamento, bem como ao contato das carcaças entre si, o que favorece sua contaminação.

Nota-se, também, que a ave após a depenação mostrou menores contagens que em outras situações, pois está sujeita ao tratamento térmico ocorrido no escaldador e à ação mecânica da depenadeira. Esses tratamentos podem, de certa forma, agir na remoção de microrganismos da ave.

Quanto à contagem de psicotróficos, a ave final e a ave após a depenação apresentaram resultados superiores à ave após a passagem pelo "chiller", pois as primeiras estão sujeitas a maiores temperaturas. Tal fato denota a preferência dos microrganismos psicotróficos por temperaturas mais elevadas do que a da água do "chiller".

As variações observadas nas contagens microbianas totais foram devidas principalmente às condições de abatedouro no dia de coleta. Porém não diferem daquelas obtidas por Barnes e Impey (1975) de $9,7 \times 10^3/\text{cm}^2$ de carcaça e Mead e Thomas (1973) que variavam de $5,4 \times 10^2/\text{cm}^2$ a $5,3 \times 10^5/\text{cm}^2$.

Quanto ao uso do meio CVT para a contagem de microrganismos psicotróficos, foi comprovada a sua seletividade relativa, uma vez que inibiu o crescimento de microrganismos Gram positivos neste estudo.

2. MICRORGANISMOS ISOLADOS

Os quadros 14 e 15 demonstram os resultados obtidos nas culturas isoladas das diferentes fontes de amostragem.

As culturas H.C.-1, G.-1, G.-2, A.D.-1, A.D.-2, A.D.-3, A.F.-1 e A.F.-2, foram identificadas como pertencentes ao gênero *Staphylococcus*.

A cultura H.C.-6 foi identificada como pertencente ao gênero *Aeromonas*.

Foram identificadas como pertencentes ao gênero *Acetobacter*, as culturas H.E.-1 e H.C.-7; as culturas H.C.-4 e A.F.-3 foram identificadas como do gênero *Achromobacter* e do gênero *Pseudomonas* as culturas H.C.-3 e G.-3.

Os microrganismos encontrados coincidem com aqueles achados por Clark (1968), Clark (1970), Cox et alii (1975) e Barnes (1976).

Os testes e métodos utilizados para a identificação a nível de gênero foram similares àqueles realizados e/ou sugeridos por Silliker et alii (1958), Thornley (1966), Ostowar et alii (1971), Nagel et alii (1960), Shewan et alii (1960), Davidson et alii (1973), Deuriese et alii (1975), Lahellec et alii (1975), Daud et alii (1979) e Cowan et alii (1974).

Quadro 10. Contagens microbianas totais (UFC/ml), após 24 horas de incubação a 30°C.

Repetição	Água do esaldador (x 10 ³)	Água de abastecimento (x 10 ³)	Água do "chiller" (x 10 ³)	Gelo (x 10 ³)
1	6,0	14,1	15,6	22,3
2	TNTC	4,9	24,7	7,0
3	16,2	0,1	2,6	1,1
4	15,2	1,2	7,5	9,7
5	4,2	0,6	2,1	0,2
6	2,3	0	0,3	0
7	11,5	0,2	1,8	TNTC
8	TNTC	0,2	TNTC	0
9	18,1	0	1,6	0
10	241,0	1,0	7,0	0,5

Legenda:

TNTC = incontáveis.

Quadro 11. Contagens microbianas totais e de psicrotróficos (UFC/ml), após 48 horas de incubação a 30°C.

Repetição	Água do escaaldador (x 10 ³)			Água de abastecimento (x 10 ³)			Água do "chiller" (x 10 ³)			Gelo (x 10 ³)		
	C	P	R	C	P	R	C	P	R	C	P	R
1	7,7	4,5	58,4	16,7	0,8	4,8	24,0	5,6	23,3	TNTC	16,0	-
2	TNTC	0,7	-	9,1	0,1	1,0	TNTC	3,2	-	10,8	0,6	5,6
3	TNTC	8,7	-	2,0	0	0	4,4	3,1	70,5	1,9	0,2	10,5
4	TNTC	3,2	-	TNTC	0	-	10,5	5,5	52,4	10,0	3,0	30,0
5	9,2	8,0	87,0	3,0	0	0	3,3	1,1	33,3	0,3	0	0
6	24,2	1,3	5,4	0	0	0	0,5	0,1	20,0	0,4	0,1	25,0
7	TNTC	8,0	-	1,1	0,5	45,5	TNTC	1,6	-	TNTC	0	-
8	TNTC	5,8	-	0,5	0	0	TNTC	4,8	-	0,1	0	0
9	29,2	2,2	7,5	0,1	0	0	2,7	0,2	7,4	0,1	0	0
10	TNTC	80,0	-	1,5	0	0	32,5	15,0	46,2	2,0	0	0

Legenda:

C = Contagem total de microrganismos.

P = Contagem total de microrganismos psicrotróficos.

R = Relação entre as contagens de microrganismos psicrotróficos e totais, em porcentagem (P/C x 100).
TNTC = incontáveis.

Quadro 12. Contagens microbianas totais (UFC/cm²), após 24 horas de incubação a 30°C.

Repetição	Ave após a depenação (x 10 ³)	Ave após a passagem pelo "chiller" (x 10 ³)	Ave antes de ser embalada (ave final) (x 10 ³)
1	1,3	0,5	0,3
2	0,6	0,1	0,6
3	0,4	TNTC	9,4
4	1,2	TNTC	TNTC
5	0,8	0	0
6	0,7	1,0	TNTC
7	1,1	0,09	0,1
8	0,8	0,1	0,1
9	0,1	5,7	0
10	5,9	0	13,1

Legenda:

TNTC = incontáveis.

Quadro 13. Contagens microbianas totais e de psicrotróficos (UFC/cm²), após 48 horas de incubação a 30°C.

Repetição	Ave após depenação (x 10 ³)			Ave após a passagem pelo "chiller" (x 10 ³)			Ave antes de ser embalada (ave final) (x 10 ³)		
	C	P	R	C	P	R	C	P	R
1	1,6	0	0	0,9	0	0	2,1	0,2	9,5
2	1,0	0,1	10,0	0,4	0,09	22,5	1,0	0,09	9,0
3	0,6	0,1	16,7	TNTC	0,1	-	10,3	3,0	29,1
4	2,0	0	0	TNTC	0,1	0	TNTC	0,1	-
5	1,3	0,1	7,7	0,3	0	0	0,3	0,2	66,7
6	1,0	0	0	1,1	0,09	8,2	TNTC	TNTC	-
7	2,1	0,1	4,8	0,1	0	0	0,2	0	0
8	1,2	0,1	8,3	0,2	0,09	45,0	0,2	0	0
9	0,3	0	0	6,6	0,5	7,6	0,3	0,04	13,3
10	15,0	3,1	20,7	1,3	0	0	16,3	5,0	30,7

Legenda:

C = Contagem total de microrganismos.

P = Contagem total de microrganismos psicrotróficos.

R = Relação entre as contagens de microrganismos psicrotróficos e totais, em porcentagem (P/C x 100).
TNTC = incontáveis.

Quadro 15. Identificação, a nível de gênero, dos principais microrganismos isolados das diferentes fontes de amostragem.

Microrganismo isolado	Fontes de isolamento	Gênero
H.E.-1	Água do Escaldador.	<i>Acetobacter.</i>
H.C.-1	Água do "Chiller".	<i>Staphylococcus.</i>
H.C.-3	Água do "Chiller".	<i>Pseudomonas.</i>
H.C.-4	Água do "Chiller".	<i>Achromobacter.</i>
H.C.-6	Água do "Chiller".	<i>Aeromonas.</i>
H.C.-7	Água do "Chiller".	<i>Acetobacter.</i>
G.-1	Gelo.	<i>Staphylococcus.</i>
G.-2	Gelo.	<i>Staphylococcus.</i>
G.-3	Gelo.	<i>Pseudomonas.</i>
A.D.-1	Ave após Depenação.	<i>Staphylococcus.</i>
A.D.-2	Ave após Depenação.	<i>Staphylococcus.</i>
A.D.-3	Ave após Depenação.	<i>Staphylococcus.</i>
A.F.-1	Ave Final.	<i>Staphylococcus.</i>
A.F.-2	Ave Final.	<i>Staphylococcus.</i>
A.F.-3	Ave Final.	<i>Achromobacter.</i>

IV. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que:

- As contagens microbianas totais encontradas foram similares às da literatura consultada.
- A proporção de psicrotróficos na população microbiana total, apesar de oscilar, devido, principalmente, às condições do abatedouro, mostrou a possibilidade do uso do meio de cultura CVT na contagem de microrganismos psicrotróficos, inibindo o desenvolvimento de microrganismos Gram positivos.
- Os microrganismos psicrotróficos predominantes foram os dos gêneros: *Achromobacter*, *Pseudomonas* e *Aeromonas*.
- O aparecimento de microrganismos do gênero *Staphylococcus*, isolados de placas de Petri com meio de cultura PCA, demonstrou que, apesar de serem mesófilos, podem ser encontrados em fontes sujeitas a diferentes temperaturas.

V. BIBLIOGRAFIA

- ADAMCIC, M. & CLARK, D.S. Bacteria induced biochemical changes in chicken skin stored at 5°C. Journal of Food Science, 35 (2): 103 - 106, Mar. - Apr., 1970.
- ARAFI, A.S. & CHEN, T.C. Characteristics of microorganisms associated with hot packaged, washed and immersion chilled broilers. Poultry Science, 56 (3): 918 - 923, May, 1977.
- ARAFI, A. S. & CHEN, T. C. Ascorbic acid dipping as a means of extending shelf life and improving quality of cut-up broiler parts. Poultry Science, 57 (1): 99 - 103, Jan., 1978.
- AVENS, J.S. & MILLER, B.F. Optimum skin blending method for quantifying poultry carcass bacteria. Applied Microbiology, 20 (1): 129 - 132, Jul., 1970.
- AYRES, J.C.; OGILVY, W.S.; STEWART, G.F. Post mortem changes in stored meats. I. Microorganisms associated with development of slime on eviscerated cut-up poultry. Food Technology, 4 (5): 199 - 205, May, 1950.
- AYRES, J.C.; WALKER, H.W.; FANELLI, M.J.; KING, A.W.; THOMAS, F. Use of antibiotics in prolonging storage life of dressed chicken. Food Technology, 10 (11): 563 - 568, Nov. 1956.
- BAILEY, J.S.; REAGAN, J.O.; CARPENTER, J.A.; SCHULER, G. A. THOMSON, J.E. Types of bacteria and shelf life of evacuated carbon dioxide-injected and ice-packed broilers. Journal

of Food Protection, 42 (3): 218 - 221, Mar., 1979.

BARNES, E.M. & THORNLEY, M.F. The spoilage flora of eviscerated chickens stored at different temperatures. Journal of Food Technology, 1 (2): 113 - 119, Jun., 1966.

BARNES, E.M. & IMPEY, C.S. Psychrophilic spoilage bacteria of poultry. Journal of Applied Bacteriology, 31 (1): 97 - 107, Mar., 1968.

BARNES, E.M. & IMPEY, C.S. The shelf-life of uneviscerated and eviscerated chicken carcasses stored at 10°C and 4°C. British Poultry Science, 16 (3): 319 - 326, May, 1975.

BARNES, E.M. Microbiological problems of poultry at refrigerator temperatures. A Review. Journal of the Science of Food and Agriculture, 27 (8): 777 - 782, Aug., 1976.

CASALE, J.O.; MAY, K.N.; POWERS, J.J. Effects of three chilling methods on bacteriological, organoleptic and physical properties of broiler chickens. Food Technology, 19 (5): 859 - 861, May, 1965.

CHAROENPONG, G. & CHEN, T.C. Microbiological quality of refrigerated chicken gizzards from different sources as related to their shelf-lives. Poultry Science, 58 (4): 824 - 829, Jul., 1979.

CLARK, D.S. Growth of psychrotolerant pseudomonads and achromobacter on chicken skin. Poultry Science, 47 (5): 1575 - 1578, Sept., 1968.

CLARK, D.S. & LENTZ, C.P. Microbiological studies in poultry processing plants in Canada. Canadian Institute of Food

Technology Journal, 2 (1): 33 - 36, Jan., 1969.

CLARK, D.S. Growth of psychrotolerant pseudomonads and achromobacteria on various chicken tissue. Poultry Science, 49 (5): 1315 - 1318, Sept., 1970.

COX, N.A.; JUVEN, B.J.; THOMSON, J.E.; MERCURI, A.J.; CHEW, V. Spoilage odors in poultry meat produced by pigmented and nonpigmented *Pseudomonas*. Poultry Science, 54 (6): 2001-2006, Nov., 1975.

COX, N.A.; MERCURI, A.J.; THOMSON, J.E.; CHEW, V. Swab and excised tissue sampling for total and Enterobacteriaceae counts of fresh and surface-frozen broiler skin. Poultry Science, 55 (6): 2405 - 2408, Nov., 1976.

COWAN, S.T.; HOLT, J.G.; LISTON, J.; MURRAY, R.G.E.; NIVEN, C. F.; RAVIN, A.W.; STAINER, R.Y. Bergey's manual of determinative bacteriology, 8. ed. Baltimore, The Williams and Wilkins, 1974, 1267 p.

CUNNINGHAM, F.E. & BOWERS, J.A. Composition, microbial content and stability of chickens patties held at refrigerator temperatures. Poultry Science, 56 (1): 93 - 97, Jan., 1977.

DAUD, H.B.; MC MEEKIN, T.A.; THOMAS, C.J. Spoilage association of chicken skin. Applied and Environmental Microbiology, 37 (3): 399 - 401, Mar., 1979.

DAVIDSON, C.M.; DOWDELL, M.J.; BOARD, R.G. Properties of Gram negative aerobes isolated from meats. Journal of Food Science, 38 (2): 303 - 305, Feb., 1973.

DEURIESE, L.A.; DEVOS, A.H.; DAMME, L.R. Quantitative aspects of the *Staphylococcus aureus* flora of poultry. Poultry Science, 54 (1): 95 - 101, Jan., 1975.

ESSARY, E.O.; MOORE, W.E.C.; KRAMER, C.Y. Influence of scald temperatures, chill times and holding temperatures on the bacterial flora and shelf-life of freshly chilled tray-pack poultry. Food Technology, 12 (12): 684 - 687, Dec., 1958.

ESSARY, E.O.; DAWSON, L.E.; MALLMANN, W.L. Effect of different length chill periods with chlortetracycline and different holding conditions on the shelf-life of dressed fryers. Food Technology, 14 (6): 286 - 289, Jun., 1960.

FROMM, D. An evaluation of techniques commonly used to quantitatively determine the bacterial population on chicken carcasses. Poultry Science, 38 (4): 887 - 893, Jul. 1959.

GILL, C.O. & TAN, K.H. Effect of carbon dioxide on growth of *Pseudomonas fluorescens*. Applied and Environmental Microbiology, 38 (2): 237 - 240, Aug., 1979.

GRANT, M.A. & HOLT, J.G. Medium for the selective isolation of members of the genus *Pseudomonas* from natural habitats. Applied and Environmental Microbiology, 33 (5): 1222 - 1224, May, 1977.

HARRIGAN, W.F. & MC CANCE, M.E. Laboratory Methods in Food Dairy Microbiology, Academic Press, N.Y., London - San Francisco, 1976, 353 p.

HUGH, R. & LEIFSON, E. The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates

by various Gram negative bacteria. Journal of Bacteriology, 66 (1): 24 - 26, Jul., 1953.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. Microorganisms in foods: their significance and methods of enumeration. 2 ed. Toronto, University of Toronto Press, vol. I, 1978.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. Microbial ecology of foods. New York, Academic Press, vol. 2, 1980.

ISLAM, W.N.; GRAY, R.J.H.; GEISER, J.N. Development of anti-microbial agents for the extension of poultry shelf-life. Poultry Science, 57 (5): 1266 - 1271, Sept., 1978.

KOHLER, A.R.; WILLER, W.H.; BROGQUIST, H. P. Aureomycin, Chlortetracycline and the control of poultry spoilage. Food Technology, 9 (3): 151 - 154, Mar., 1955.

LAHELLEC, C.; MEURIER, C.; BENNEJEAN, G.; CATASARAS, M.A. A study of 5920 strains of psychrotrophic bacteria isolated from chickens, Journal of Applied Bacteriology, 38 (2): 89 - 97, Apr., 1975.

LILLARD, H.S. Levels of chlorine and chlorine dioxide of equivalent bactericidal effect in poultry processing water. Journal of Food Science, 44 (6): 1594 - 1597, Nov. - Dec., 1979.

MEAD, G.C. & THOMAS, N.L. Factors affecting the use of chlorine in the spin chilling of eviscerated poultry. British Poultry Science, 14 (1): 99 - 117, Jan., 1973.

- MEAD, G.C. & THOMAS, N.L. The bacteriological condition of eviscerated chickens processed under controlled conditions in a spin - chilling system and sampled by two different methods. British Poultry Science, 14 (4): 413 - 419, Jul., 1973.
- NAGEL, C.W.; SIMPSON, K.L.; NG, H.; VAUGHN, R.H.; STEWART, G. F. Microorganisms associated with spoilage of refrigerated poultry. Food Technology, 14 (1): 21 - 23, Jan., 1960.
- NEWTON, K.G.; HARRISON, J.C.L.; WAUTERS, A.M. Sources of psychrotrophic bacteria on meat at the abattoir. Journal of Applied Bacteriology, 45 (1): 75 - 82, Aug., 1978.
- NG, H.; VAUGHN, R.H.; STEWART, G.F.; NAGEL, C.W.; SIMPSON, K. Antibiotics in poultry meat preservation: Development of resistance among spoilage organisms. Applied Microbiology, 5 (3): 331 - 333, Mar., 1957.
- OSTOWAR, K.; MAC NEIL, J.H.; O'DONNELL, K. Poultry product quality. V. Microbiological evaluation of mechanically deboned poultry meat. Journal of Food Science, 36 (7):1005 - 1007, Nov. - Dec., 1971.
- PATTERSON, J.T. Microbiological sampling of poultry carcasses. Journal of Applied Bacteriology, 35 (4): 569 - 575, Dec., 1972.
- PATTERSON, J.T. The effects of various treatments on the microbial flora of whole poultry carcasses with particular reference to *Staphylococcus aureus* contamination. British Poultry Science, 16 (3): 307 - 313, May, 1975.

- REY, C.R.; KRAFT, A.A.; SEALS, R.G.; BIRD, E.W. Influence of temperature on some biochemical characteristics of *Pseudomonas* associated with spoilage of chickens. Journal of Food Science, 34 (3): 279 - 283, May - Jun., 1969.
- RICHMOND, D. & CHANG, S.T. A comparison of drop-plate and pour plate methods for bacterial population counts of poultry anaphage (Dehydrated caged layer excreta). Poultry Science, 57 (1): 293 - 295, Jan., 1978.
- ROBACH, M.C. Effect of potassium sorbate on the growth of *Pseudomonas fluorescens*. Journal of Food Science, 43 (6): 1886 - 1887, Nov. - Dec., 1978.
- ROBACH, M.C. Extension of shelf-life of fresh, whole broilers, using a potassium sorbate dip. Journal of Food Protection, 42 (11): 855 - 857, Nov., 1979.
- SANDERS, D.H. & BLACKSHEAR, C.D. Effect of chlorination in the washer on bacterial counts of broiler chicken carcasses. Poultry Science, 50 (1): 215 - 219, Jan., 1971.
- SHEWAN, J.M.; HOBBS, G.; HODGKISS, W. A determination scheme for the identification of certain genera of gram-negative bacteria, with special reference to the pseudomonadaceae. Journal of Applied Bacteriology, 23 (3): 379 - 390, 1960.
- SILLIKER, J.H.; ANDREWS, H.P.; MURPHY, J.F. A new non-destructive method for the bacteriological sampling of meats. Food Technology, 11 (6): 317 - 318, Jun., 1957.
- SILLIKER, J.H.; SHANK, J.L.; ANDREWS, H. P. Simultaneous determination of total count and fluorescent *Pseudomonas* in fresh meat and poultry. Food Technology, 12 (5): 255 -

257, May, 1958.

SPECK, M.L. Compendium of methods for the Microbiological Examination of Foods, A.P.H.A., 1976, 702 p.

TARVER JR., F.R. & MAY, K.N. Effect of slaughter technique, immersion scald and refrigerated storage on bacterial counts of poultry air sacs. Poultry Science, 42 (5): 1141 - 1145, Sept., 1963.

THOMSON, J.E.; COX, N.A.; BAILEY, J.S.; HOLLADAY, J. H.; RICHARDSON, R.L. Bacteriological sampling of poultry carcasses by a template swab method. Poultry Science, 55 (1): 459 - 462, Jan., 1976.

THOMSON, J.E. & BAILEY, J.S. Innovations in sampling and culturing methods for bacteriological examination of broiler carcasses. Journal of Food Science, 43 (4): 1301 - 1302, Jul. - Aug., 1978.

TOULE, G. & MURPHY, O. A study of bacteria contaminating refrigerated cooked chicken; their spoilage potential and possible origin. Journal of Hygiene, 81 (2): 161 - 169, Oct., 1978.

VAUGHN, R.H.; NAGEL, C.W.; SAWYER, F.M.; STEWART, G. F. Antibiotics in poultry meat preservation. A comparison of the tetracyclines. Food Technology, 11 (8): 426 - 429, Aug., 1957.

WALKER, H.W. & AYRES, J.C. Antibiotic residual and microbial resistance in poultry treated with tetracyclines. Food Research, 23 (5): 525 - 531, Sept. - Oct., 1958.

WALKER, H.W.; COFFIN, W.J.; AYRES, J.C. A resazurin reduction test for the determination of microbiological quality of processed poultry. Food Technology, 13 (10): 578 - 581, Oct., 1959.

WELLS, F.E.; FRY, J.L.; MARION, W.W.; STADELMAN, W.J. Relative efficacy of three tetracyclines with poultry meat. Food Technology, 11 (12): 656 - 658, Dec., 1957.

WELLS, F.E. Resazurin reduction tests for shelf-life estimations of poultry meat. Food Technology, 13 (10): 584 - 586, Oct., 1959.

YOKOYA, F. & ZULZKE, M.L. Method for sampling meat surfaces. Applied Microbiology, 29 (4): 551 - 552, Apr., 1975.

ZIEGLER, F.; SPENCER, J.V.; STADELMAN, W.J. A rapid method for determining spoilage in fresh poultry meat. Poultry Science, 33 (6): Nov., 1954.

ZIEGLER, F. & STADELMAN, W.J. Increasing shelf-life of fresh chicken meat by using chlorination. Poultry Science, 34 (6): 1389 - 1391, Nov., 1955.