

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA CARNE BOVINA
MOIDA COMERCIAL E SUA AVALIAÇÃO PELA
PROVA DA RESAZURINA**

MATHILDE RODRIGUES DE CAMARGO

Dissertação apresentada à Escola Superior de
Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universida-
de São Paulo, para obtenção do título de
Mestre em Microbiologia Agrícola.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Maio, 1979

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA CARNE BOVINA
MOIDA COMERCIAL E SUA AVALIAÇÃO PELA
PROVA DA RESAZURINA**

MATHILDE RODRIGUES DE CAMARGO

Orientador: PROF. DR. MURILO GRANER

**Dissertação apresentada à Escola Superior de
Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universida-
de São Paulo, para obtenção do título de
Mestre em Microbiologia Agrícola.**

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Maio, 1979

Aos meus pais,
Celina e Octavio,
e meus irmãos.
Marisa e Tavinho,

DEDICO`

AGRADECIMENTOS

A autora expressa seus agradecimentos:

- À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela bolsa de Mestrado concedida e por sugestões apresentadas.

- Ao Departamento de Tecnologia Rural, da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, pelos recursos que ofereceu para a realização do presente trabalho.

- Ao Prof. Dr. Murilo Graner, pela segura orientação e apoio recebidos.

- Ao Setor de Microbiologia do Departamento de Tecnologia Rural da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", em particular aos Professores Drs. Rodolpho de Camargo e Alcides Martinelli Filho, pela colaboração recebida, no sentido de facilitar o uso de instalações, equipamentos e material de consumo necessários.

- Aos Funcionários do Departamento de Tecnologia Rural, da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", que colaboraram para a realização deste trabalho, e em especial aos Srs. Preparadores Dirceu Lemaire de Moraes e Luiz Gonzaga de Carvalho.

- Ao Prof. Dr. Décio Barbin e a Profa. Clarice G.B. Demétrio, pelo auxílio prestado na análise estatística.

- Às Profas. Dras. M. Regina F. de Toledo e Rahme Nelly Neder, por sugestões relativas à identificação de *Salmonella*.

- Aos colegas do curso de pós-graduação em Microbiologia Agrícola da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz", pela amizade e estímulo.

- Em especial, ao Artur Bisseti, a quem deve a confecção dos gráficos, feita não só como colaboração, mas como demonstração de afeto.

- À Sra. Sônia Novaes Rasera, pelo trabalho de datilografia.

- E a todos que, direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho.

ÍNDICE

	<u>página</u>
1. RESUMO	1
2. INTRODUÇÃO	3
3. REVISÃO DE LITERATURA	5
3.1. Microbiologia da carne: Contaminação e deterioração	5
3.2. Contagem total de bactérias	8
3.3. Coliformes totais e <i>Escherichia coli</i>	12
3.4. Bactérias causadoras de envenenamentos e infecções alimentares. <i>Salmonella</i>	15
3.5. Avaliação da qualidade com indicador de óxido - redução: Prova da resazurina	16
3.6. pH da carne	21
4. MATERIAL E MÉTODOS	25
4.1. Amostragem	25
4.2. Contagem total de bactérias	25
4.3. Prova da resazurina	26
4.4. Enumeração de coliformes totais	27
4.5. Enumeração de <i>Escherichia coli</i>	27
4.6. Isolamento e identificação de <i>Salmonella</i>	31
4.7. Avaliação subjetiva da qualidade	31
4.8. Determinação do pH	31
4.9. Determinação do teor de umidade	31

4.10. Determinação do teor de gordura	32
4.11. Análise estatística	32
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5.1. Análise microbiológica	34
5.1.1. Contagem total de bactérias	34
5.1.2. Coliformes totais e <i>Escherichia coli</i> ...	45
5.1.3. <i>Salmonella</i>	54
5.1.4. Avaliação da qualidade com indicador de óxido-redução (prova da resazurina)	56
5.2. pH	75
5.3. Teores de umidade e de gordura	89
5.4. Período de conservação do produto	97
6. CONCLUSÕES	101
7. SUMMARY	104
8. LITERATURA CITADA	106
APÊNDICE	116

1. RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi contribuir para o conhecimento da qualidade microbiológica da carne bovina moída comercial e sua avaliação através da redução do indicador resazurina. Para tanto, amostras de supermercados e açougues de Piracicaba, SP, foram analisadas quanto a: 1) contagem total de bactérias (a 21,32 e 35^oC); 2) prova da resazurina (a 30 e 35^oC); 3) enumeração de coliformes (totais e *E. coli*); 4) provas para bactérias do gênero *Salmonella*; 5) avaliação subjetiva da qualidade do produto; 6) determinação do pH e dos teores de umidade e gordura. Verificou-se, entre outras conclusões que: 1) A contagem total foi, em geral, elevada, ultrapassando, para grande número de amostras, o limite máximo da legislação nacional. 2) O mesmo ocorreu com a enumeração de coliformes (totais e *E. coli*). 3) O tempo de redução da resazurina (a 30 e 35^oC) esteve negativamente correlacionado com a contagem total de bactérias (a 21,32 e 35^oC), com a enumeração de coliformes (totais e *E. coli*) e, positivamente,

com o período de conservação do produto sob refrigeração (3 a 6°C). 4) Este foi, no máximo, de 3 dias. 5) Com base nas correlações negativas entre o tempo de redução da resazurina, de um lado, a contagem total de bactérias e a enumeração de coliformes (totais e *E. coli*), de outro, e ainda considerando-se os padrões microbiológicos propostos para o produto, pode ser sugerida a seguinte classificação para a condição deste: aceitável (tempo de redução maior que 8,0 h), questionável (tempo maior que 5,0 h e menor ou igual a 8,0 h), inaceitável (tempo menor ou igual a 5,0 h). 6) O limite máximo de 6,10 pode ser sugerido para o pH do produto. 7) Bactérias do gênero *Salmonella* provavelmente ocorreram em 25% das amostras analisadas quanto à presença desses microrganismos.

2. INTRODUÇÃO

A carne bovina moída é uma forma comum e importante de comercialização da carne, sendo esse produto uma fonte de proteína de boa qualidade, em geral mais acessível à população de baixo poder aquisitivo, que a carne não moída. Pode ser preparada a partir de cortes de carnes de menor valor comercial e ainda ser utilizada de modos bastante variados e práticos em refeições. Constitue, entretanto, um meio bastante favorável à multiplicação de bactérias, estando ainda sujeita a uma contaminação por microrganismos mais elevada que a carne não moída.

As fontes de contaminação da carne são várias. Como o interior do tecido muscular proveniente de um animal sa dio, abatido em condições higiênicas, é livre ou praticamente livre de microrganismos, a contaminação originária do exterior do animal e de seu trato intestinal tem grande importância. Além disso, microrganismos podem ser adicionados através do

equipamento utilizado no processamento da carne, dos trabalhadores, do ar e da água. Com a operação de moagem, uma maior superfície do tecido fica exposta aos microrganismos, havendo ainda liberação de suco celular.

A população bacteriana encontrada no produto comercial depende da carne usada no seu preparo, das condições sanitárias existentes nos estabelecimentos do varejo e do tempo e da temperatura de armazenagem, entre outros fatores. O controle da qualidade da carne moída, sob o ponto-de-vista microbiológico, é importante, pois leva em conta a deterioração do alimento e seu controle e aspectos de saúde pública. A melhoria ou manutenção dessa qualidade e a segurança no consumo do produto podem ser conseguidas através de controle auxiliado pelo estabelecimento de limites microbiológicos, associado à educação sanitária em todas as fases do processamento e armazenamento da carne, inclusive a nível de consumidor.

O presente trabalho teve por objetivos: 1) contribuir para o conhecimento da qualidade microbiológica da carne bovina moída comercializada em Piracicaba, SP; 2) ampliar o conhecimento sobre a avaliação dessa qualidade, por meio de prova baseada na redução da resazurina.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. Microbiologia da carne: Contaminação e deterioração

AYRES (1955), em extensa revisão, discutiu a importância de diversas fontes de contaminação microbiana da carne e, segundo este autor, o desenvolvimento de métodos satisfatórios para prevenir ou retardar a deterioração é um problema sério, devendo medidas para minimizar a invasão e o crescimento bacteriano ser tomadas desde antes do abate do animal. As fontes de contaminação da carne foram discutidas também por *FRAZIER (1967)*.

KIRCH et alii (1952), num estudo sobre a bacteriologia da carne bovina moída refrigerada, relataram que a maioria dos microrganismos isolados pertenciam aos gêneros *Pseudomonas* ou *Achromobacter*, embora os gêneros *Micrococcus* e *Lactobacillus* também tivessem sido encontrados.

AYRES (1960) estudou a relação entre a temperatu

ra e algumas características da flora microbiana da carne refrigerada, e encontrou que os microrganismos isolados da carne bovina, conservada a 10^oC ou menos, e responsáveis pela produção de induto viscoso, eram quase sempre do gênero *Pseudomonas*.

Estudando o efeito da temperatura e do material de embalagem sobre o período de conservação e a flora bacteriana da carne bovina moída comercial, *JAYE et alii (1962)* verificaram que o estado inicial da carne deve ser bom, pois o efeito combinado da embalagem e do controle da temperatura pode somente manter a qualidade inicial, mas não a melhora.

Segundo *LECHOWICH (1971)*, os microrganismos associados com a deterioração da carne fresca são: *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Lactobacillus*, *Microbacterium* e *Micrococcus*. Os tipos de deterioração produzidos vão desde à produção de induto viscoso, descolorações, aparecimento de pigmentos e manchas, até a putrefação. Odor ácido é resultante da deterioração por bactérias do gênero *Pseudomonas* e bactérias do ácido lático.

DAINTY (1971) publicou uma revisão sobre o controle da deterioração da carne e os métodos mais comumente utilizados na sua avaliação.

SMITH et alii (1975), num trabalho sobre carne moída, identificaram e enumeraram bactérias psicrotólicas presentes no produto antes e após armazenagem por dois meses a

a 5°C, e observaram que ocorreu uma mudança nos tipos de psicotróficos predominantes.

O interesse em aumentar o período de conservação do produto em questão é evidente sob o ponto de vista da comercialização da carne. Tal melhoramento depende do controle bacteriológico, que deve ser efetuado em todos os estágios: do abate à aquisição do produto pelo consumidor (WISLOW, 1976).

EMSWILLER *et alii* (1976b) mostraram que, pelo uso de práticas comprovadas de higiene, carne bovina moída de boa qualidade microbiológica pode ser produzida comercialmente.

Durante o processamento, as bactérias contaminantes da superfície da carne são distribuídas por todo o produto final. Portanto, a flora bacteriana presente na carne bovina moída comercial depende da flora inicialmente presente na carne, das condições de higiene durante o processamento, da temperatura e do tempo de armazenagem antes da venda do produto (FOSTER, *et alii*, 1977).

O controle das bactérias e seu desenvolvimento no alimento pode ser feito com o auxílio de padrões microbiológicos. Mc CLORY (1977) discutiu as vantagens e desvantagens desses padrões para produtos cárneos frescos e não processados, e mencionou o emprego de bactérias indicadoras para a carne bovina moída.

SUMNER (1978) ressaltou que a qualidade microbiológica do produto final é uma resultante dos cuidados obser

vados nas diferentes fases do processamento.

3.2. Contagem total de bactérias

Visto que os microrganismos são geralmente considerados como os principais agentes causais da deterioração da carne, um método de avaliação do estado do produto é a determinação do seu número (contagem total). Segundo *DAINTY (1971)*, o método tem sérias desvantagens, porém é ainda muito usado. Uma desvantagem é a não existência de um único meio e método que seja totalmente não seletivo aos diferentes microrganismos. Além disso, alguns autores encontraram uma pequena correlação entre o número total de bactérias e as propriedades organolépticas da carne (*SAFFLE et alii, 1961*).

ROGERS e MC CLESKEY (1957) chamaram a atenção para o fato da determinação da contagem total de bactérias refletir a qualidade microbiológica da carne utilizada no preparo do produto em questão, o estado de limpeza do equipamento empregado no preparo deste, e o tempo e a temperatura de seu armazenamento. Independentemente do efeito que a carne moída possa ter sobre a saúde do consumidor, uma contagem total elevada pode constituir indício de um produto semi-deteriorado, ou que vai apresentar sintomas ou sinais de deterioração dentro de pouco tempo.

A contagem total de bactérias, segundo *ELLIOT e*

MICHENER (1961), pode ser recomendada no controle de qualidade da carne refrigerada, pois reflete as condições higiênicas existentes no processamento e o estado de decomposição do produto, e uma contagem inicial baixa está relacionada com um maior período de conservação.

FOSTER (1966) discutiu o valor da contagem total de microrganismos no estabelecimento de padrões microbiológicos para os alimentos, e a importância da metodologia envolvida. Segundo o autor, um número elevado de microrganismos presente na carne não significa que o alimento é, necessariamente, prejudicial à saúde do consumidor. Por outro lado, uma contagem total de bactérias baixa não significa que o alimento é livre de efeitos nocivos sobre a saúde do consumidor.

A contagem total de bactérias da carne moída, na cidade de Piracicaba, SP, foi realizada por *GRANER et alii (1971, 1973)* e *MARTINELLI FILHO et alii (1975)*, de acordo com as recomendações da "American Public Health Association" (*SHARE, 1972*). Alguns dos resultados a que chegaram os autores foram: 1) contagens obtidas para amostras provenientes de açougue foram significativamente mais elevadas que as provenientes de supermercado. 2) A incubação feita a 21°C resultou, em geral, em contagens mais elevadas que as correspondentes à temperatura de 32°C; todavia, a diferença observada não foi comprovada estatisticamente. 3) As contagens totais, em geral, foram elevadas; para um total de 80 amostras, a maioria proveniente de

supermercados, as contagens (32^o/48 h) variaram de $2,9 \times 10^5$ a $2,8 \times 10^8$ bactérias/g (média: $1,9 \times 10^7$ bactérias/g), com cerca de um terço (33,7%) apresentando valores maiores que 10^7 bactérias/g.

LARKIN et alli (1972) utilizaram a contagem total de bactérias para a avaliação da qualidade microbiológica da carne bovina moída, e encontraram 36% das amostras com mais de 5×10^6 bacterias/g.

HYYTIÄY et alii (1975) apresentaram sugestões para métodos de exame e avaliação microbiológica, inclusive o valor limite de 10^7 aeróbios totais/g de carne moída.

Segundo *LEININGER (1976)*, a contagem total, embora com limitações nutricionais para o crescimento de 100% dos organismos presentes na amostra, e as variações devidas à distribuição heterogenea das bactérias no alimento, dá uma medida útil da qualidade do produto.

A temperatura de incubação para a determinação da contagem total de bactérias deve ser especificada no estabelecimento de padrões microbiológicos para a carne moída. Contagens feitas após incubação a 28^oC ou 21^oC foram superiores às realizadas a 35^oC (*WESTHOFF e FELDSTEIN, 1976; PIVNICK et alii, 1976; GOEPFERT, 1976*). As duas primeiras temperaturas empregadas provavelmente resultam em contagens que refletem melhor a flora responsável pela deterioração; já a temperatura de

35°C pode ter maior significado sob o ponto de vista de saúde pública. Segundo *GOEPFERT (1976)*, a contagem total a 20°C reflete melhor o conteúdo microbiano da carne bovina moída (a flora predominante da carne fresca é de organismos psicrotróficos, incapazes de crescimento a 35°C) e proporciona uma melhor estimativa da manutenção da qualidade do produto.

PIVNICK et alii (1976) incluíram a contagem total de bactérias na carne moída, após incubação das placas a 35°C, entre os padrões microbiológicos que propuzeram para o produto, no Canadá. A contagem total aeróbica a 35°C, segundo os autores, deve ser menor ou igual a 10^7 bactérias/g para produtos não congelados, e menor ou igual a 10^6 para produtos congelados.

Estudos recentes da qualidade microbiológica da carne bovina moída (*AL-DELAIMY e STILES, 1975; WESTHOFF e FELDSTEIN, 1976*) consideraram como máximo para a contagem total o valor 10^7 bactérias/g, embora diversas amostras tivessem excedido esse número.

Em controle de qualidade é frequentemente difícil saber que bactérias ou grupo de bactérias enumerar para um determinado produto alimentício, porém, para a maioria dos produtos, a contagem total viável, usando-se duas temperaturas de incubação determinadas, pode ser usada como índice de qualidade (*GREEN, 1976*).

CHAMBERS et alii (1976) propuseram como valores aceitáveis para a carne bovina moída fresca aqueles inferiores a 15×10^6 organismos/g (contagem total após incubação das placas a 32°C por 48 h).

SUMNER (1978), numa avaliação da carne bovina moída comercial, encontrou 13% das amostras analisadas com mais de 10^7 microrganismos/g, e após armazenagem a $5^{\circ}\text{C}/24$ h, 43% excederam esse valor.

Segundo a Resolução nº 13/78, aprovada pela *COMISSÃO NACIONAL DE NORMAS E PADRÕES PARA ALIMENTOS (1978)* e publicada no Diário Oficial da União em julho desse ano, a contagem limite para a carne moída é 3×10^6 bactérias/g do produto. Este mesmo limite foi estabelecido pelo *GOVÊRNO DO ESTADO DE SÃO PAULO (1978)*, conforme o Decreto nº 12.486, de outubro do mesmo ano, que "Aprova Normas Técnicas Especiais Relativas a Alimentos e Bebidas".

3.3. Coliformes totais e *Escherichia coli*

Segundo *ROGERS e Mc CLESKEY (1957)*, a contagem de coliformes tem uma importância discutível para a carne moída. Embora a presença em grande quantidade de coliformes possa ser considerada como evidência de uma higiene precária na produção e manuseio do produto, no estudo feito por esses autores, o número de coliformes encontrado nas amostras comercializadas teve uma variação muito grande e não esteve bem correla-

cionado com a contagem total, o que também foi observado por *RAO (1970) e WESTHOFF e FELDSTEIN (1976)*.

A condição microbiológica da carne bovina moída reflete seu tratamento prévio, exposição a contaminantes, refrigeração e congelamento. A presença de *Escherichia coli* indica contaminação fecal por causa da sua ocorrência no trato intestinal do animal e do homem (*BUCK e PRATT, 1970-1971*).

Segundo *BALDWIN et alii (1973)*, o tipo e o número de microrganismos presentes no momento da compra podem ser uma indicação de como a carne foi manuseada e armazenada após a moagem. Esses autores observaram que *E. coli* sobrevive, mas não aumenta, numa temperatura de 5 a 7°C durante o período de 10 dias de armazenagem.

DEBEVERE e VOLTS (1974), num estudo comparativo em carne moída fresca, concluíram que o método do número mais provável (NMP) foi o mais preciso para a enumeração de coliformes e *Enterobacteriaceae*.

HYTTIÄY et alii (1975) apresentaram como valores limites 10^3 coliformes totais/g de carne e 10^2 coliformes termo-tolerantes (coliformes fecais)/g. Segundo *PIVNICK et alii (1976; 1978)*, o limite máximo proposto para *E. coli* é 10^2 /g.

Em trabalho realizado por *EMSWILLER et alii (1976b)*, verificou-se que a contagem de coliformes e *E. coli* diminuiu durante a armazenagem refrigerada da carne ($-1,7 \pm$

0,6°C].

Segundo *CORLETT (1976)*, os organismos indicados (coliformes, coliformes fecais e *E. coli*) são usados para indicar falhas durante o processamento. O autor discutiu os problemas da proposição de padrões microbiológicos e dos microrganismos considerados indicadores para determinação de segurança de qualidade e/ou condições de produção, com particular referência à *E. coli*.

GOEFFERT (1976) levantou questões sobre a necessidade de padrões microbiológicos para a carne crua e a validade da incorporação de *E. coli* a tais padrões. Segundo esse autor, a imprecisão da análise e a falta de homogeneidade na distribuição bacteriana é razão suficiente para reconsiderar a inclusão de *E. coli* entre aqueles organismos para os quais há limite numérico fixo. Considerou ainda esse autor ser questionável o número de *E. coli* como indicador de condições não higiênicas e observou a falta de correlação entre *E. coli* e patógenos da carne.

Embora a validade da enumeração de coliformes e *E. coli* seja muito discutida, trabalhos recentes incluem análises desses microrganismos. *WESTHOFF e FELDSTEIN (1976)*, em um estudo sobre a qualidade bacteriológica da carne bovina moída, encontraram 43% das amostras analisadas com mais de 50 coliformes fecais/g. As médias para coliformes, coliformes fecais e *E. coli*, por grama, foram, respectivamente, 200, 10 e 5.

FOSTER et alii (1978a), comparando a carne bovina moída com e sem proteína de soja, concluíram que não houve diferença significativa na análise de coliformes, e que a adição de proteína de soja não teve nenhum efeito sobre a contagem de *E. coli*.

A determinação de *E. coli* tem assumido maior importância, considerando-se que existem numerosos "strains" dessa bactéria, isolados de alimentos e da água, que são enteropatógenicos ou enterotoxigênicos, e capazes de causar gastroenterites no ser humano (*INSALATA, 1973; CHORDASH e INSALATA, 1978*).

Segundo a Resolução nº 13/78, aprovada pela COMISSÃO NACIONAL DE NORMAS E PADRÕES PARA ALIMENTOS (1978) e publicada no Diário Oficial da União em julho desse ano, para carne moída, o limite máximo estabelecido para bactérias do grupo coliforme de origem fecal é de 3×10^2 /g. O GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO (1978), estabeleceu este mesmo limite (Decreto Nº 12.486, de outubro de 1978).

3.4. Bactérias causadoras de envenenamentos e infecções alimentares. *Salmonella*

AUBERT et alii (1974), estudando as características químicas e bacteriológicas da carne moída, encontraram contagens relativamente baixas de bactérias patogênicas e toxigênicas.

Segundo *LADIGES et alii* (1974) e *GOEPFERT e KIM* (1975), a probabilidade de proliferação do *Clostridium perfringens* na carne moída crua refrigerada é muito pequena. Contudo, se esse produto não for refrigerado ou a temperatura da refrigeração não for adequada, por um tempo prolongado, *C. perfringens* pode multiplicar-se até um nível capaz de causar envenenamento alimentar.

GOEPFERT e KIM (1975) consideraram a carne moída como um alimento que oferece pequeno risco à saúde humana, por tratar-se de alimento refrigerado e que é consumido cozido. Esse pequeno risco é dependente, então, de uma refrigeração adequada (baixa temperatura) e de uma cocção bem feita (alta temperatura) da carne moída, além das condições higiênicas existentes na obtenção desse tipo de produto.

O consumo de alimentos com contaminação fecal pode causar febre tifóide, disenteria ou hepatite infecciosa ; assim, a preocupação com o produto deve ser no sentido da prática da boa higiene, e a carne bovina moída deve ser rigorosamente cozida pelo consumidor (*BUCK e PRATT, 1970-1971*). Segundo *FOSTER et alii* (1977), foi constatado que aproximadamente 50% da carne bovina consumida nos EUA está na forma de carne moída ou hamburger, e grande parte do produto é consumido parcialmente cozido.

FOSTER et alii (1977), numa avaliação sobre a bacteriologia da carne bovina crua moída, verificaram que não

existe nenhuma informação de casos de envenenamento alimentar onde o *Staphylococcus aureus* foi proveniente desse produto. Entretanto, se for dada oportunidade, poderá ocorrer rápida multiplicação de *S. aureus* e a tal produto pode, portanto, ser associado um risco potencial, pois a enterotoxina desse microrganismo é termoestável.

Em diversos trabalhos (*DUISTSCHAEVER et alii, 1973; LADIGES e FOSTER, 1974; WESTHOFF e FELDSTEIN, 1976; SUMNER, 1978*), a análise das amostras não isolou bactérias do gênero *Salmonella*. Segundo *GOEPFERT e KIM (1975)* as salmonelas são incapazes de proliferar em carne bovina moída crua mantida sob refrigeração adequada. Entretanto, a possibilidade de ocorrência da *Salmonella* em carne bovina moída existe, e, segundo *FOSTER et alii (1977)*, se esse microrganismo está presente, a cocção, manuseio ou armazenamento inadequados podem tornar o produto perigoso.

FAGERBERG e AVENS (1976) fizeram uma extensa revisão sobre a metodologia de enriquecimento e crescimento em placas para detecção de *Salmonella* em alimentos, e concluíram que a mesma deve ser determinada para cada tipo de alimento. Assim, todas as variáveis que influem na detecção de *Salmonella* devem ser testadas, e a combinação mais efetiva para detectar números muito baixos desse microrganismo entre níveis altos de competidores, em um dado alimento, deve ser adotada como "método do padrão", e usada em todos os laboratórios analíticos.

PIVNICK et alii (1976) sugeriram que bactérias do gênero *Salmonella* devem estar ausentes em 25 g de carne moída.

Segundo *SHEWAM* (1976), a dificuldade em se cumprirem os padrões incluem os problemas de amostragem, padronização de métodos, custos e problemas legais.

No seu trabalho, *GREEN* (1976) justificou que os padrões para *Salmonella* são omitidos por causa dos métodos de isolamento serem ainda muito diversos.

KAFEL e BRYAN (1977) estudaram os efeitos dos meios de enriquecimento e as condições de incubação no isolamento de *Salmonella* de filtrado de carne moída, que contém grande número de outras bactérias. Esses autores sugeriram que se continue a pesquisa para melhorar os meios e os métodos usados no isolamento de *Salmonella* em alimentos onde o número de competidores é grande.

Segundo *FOSTER et alii* (1977), a carne bovina moída crua é um produto com uma flora microbiana grande e variada, que frequentemente inclui um número de organismos potencialmente patogênicos. Para melhorar a qualidade bacteriana e a segurança no consumo desse produto, devem ser tomadas medidas no sentido de reduzir a carga microbiana. O estabelecimento de limites microbiológicos, baseados em grande número de dados que derivam de métodos testados para padronização, pode re

sultar em um produto de conteúdo microbiano reduzido, com maior "vida de prateleira" e potencial reduzido para transmissão de organismos patogênicos.

GANGAROSA e HUGHES (1977), discutindo sobre padrões microbiológicos, deram maior ênfase ao aspecto educativo, ou seja, melhores informações sobre princípios de cocção adequada, manuseio e armazenagem de alimentos.

Segundo *FOSTER et alii (1978b)* indivíduos normais sadios são resistentes a doses subinfecciosas da maioria das bactérias. Portanto, a ingestão de carne bovina moída cozida ou parcialmente cozida, com sua flora concomitante, constitui um risco pequeno para a maioria dessa população. Contudo, se esse alimento é usado em serviço alimentar de instituições, o potencial de infecção associado ao alimento é aumentado. De acordo com esses mesmos autores, a contaminação de outros alimentos (contaminação cruzada), particularmente aqueles servidos não cozidos, pode conduzir a surtos de infecção alimentar. Em hospitais e sanatórios, a contaminação cruzada, através de manuseio inadequado, pode ter consequências críticas e mesmo fatais.

SWAMINATHAN et alii (1978) estudaram a incidência de *Salmonella* em carnes cruas comercializadas, tendo encontrado 11,1% das amostras de carne bovina contaminadas.

Conforme a Resolução nº 13/78, aprovada pela

COMISSÃO NACIONAL DE NORMAS E PADRÕES PARA ALIMENTOS (1978) e publicada no Diário Oficial da União em julho desse ano, bactérias do gênero *Salmonella* devem estar ausentes em 25 g de carne.

3.5. Avaliação da qualidade com indicador de oxido-redução:

Prova da resazurina

Um método indireto de avaliar o número total de bactérias é baseado na estimativa de sua atividade metabólica, como por exemplo a redução de um indicador, já que enzimas secretadas pelos microrganismos crescendo ativamente são capazes de catalizar reações de redução. O tempo necessário à ocorrência da mudança de cor do indicador é usado como um índice do número de células e, conseqüentemente, como uma avaliação da qualidade da carne (DAINTY, 1971). Esta é uma prova relativamente rápida, quando comparada com a contagem de microrganismos viáveis, onde pelo menos 48 horas são necessárias para que a qualidade do produto seja estabelecida, podendo ser, assim, um instrumento valioso no controle de qualidade do produto.

Os métodos enzimicos mais estudados para detectar a atividade microbiana incluem ensaios com azul de metileno, sais de tetrazolio e resazurina (HOLLEY et alii, 1977).

Na tentativa de encontrar um método rápido para determinação da "vida de prateleira" da carne, SAFFLE et alii (1961) estudaram três provas, incluindo entre elas a da redu-

ção da resazurina. Esses autores verificaram que o tempo necessário à redução do indicador esteve melhor correlacionado com valores atribuídos ao odor das amostras do que com a contagem total das bactérias.

GRANER et alii (1973) estudaram uma modificação da prova proposta por *SAFFLE et alii (1961)*, para a avaliação da qualidade da carne bovina moída comercial, e verificaram que houve uma correlação altamente significativa entre a contagem total de bactérias e o tempo necessário à redução do indicador. Aqueles autores apresentaram uma tentativa de classificação do produto, quando à sua condição, ligeiramente modificada em publicação posterior (*MARTINELLI FILHO et alii, 1975*), baseada na descoloração da resazurina.

BAUMGART et alii (1975) chamaram a atenção para a necessidade de métodos de avaliação que sejam tão simples e rápidos quanto possível e estudaram a prova da resazurina para o exame do conteúdo bacteriano da superfície da carne, empregando espectrofotometria para medir a alteração da cor do indicador.

EMSWILLER et alii (1976a) fizeram um estudo sobre método baseado em redução de indicadores para estimar a contagem bacteriana de aeróbios totais e psicrotróficos na carne bovina moída, utilizando três substâncias, entre elas a resazurina. Os autores mostraram que o tempo de redução da resazurina esteve correlacionado com o número de bactérias presen-

tes na carne.

Um estudo de avaliação rápida da qualidade da carne pela redução da resazurina e os fatores afetando a validade da prova foi feito por *HOLLEY et alii* (1977). O tempo de redução foi afetado pelo número e tipo de organismo presente e pelos reagentes que afetam o pH do meio. Os autores concluíram que, apesar da variação no tipo e número de organismos encontrados durante a deterioração de diversas carnes, parece haver uma relação entre o número de bactérias e o tempo de redução da resazurina.

DODSWORTH e KEMPTON (1977) discutiram as vantagens da prova da resazurina aplicada à indústria de carnes, e declararam que a mesma foi aplicável a todos os cortes de carnes (bovina ou de porco, fresca ou congelada). *MARTINELLI FILHO et alii* (1975) também encontraram resultados que sugerem a possibilidade de aplicação do teste para carne bovina moída, preparada a partir de carne previamente congelada.

3.6. pH da carne

Segundo *LAWRIE* (1974), após o abate do animal, ocorre uma diminuição do pH do músculo. A extensão da redução do pH depende, entre outros fatores, da quantidade de glicogênio do músculo, quando o animal é abatido. O pH pode passar, assim, de 7,2-7,4 para 5,3 a 6,0. A velocidade com que se verifica essa diminuição é variável, dependendo de diversos fato

res, como espécie, tipo de músculo, temperatura ambiente, além da variação de animal para animal. Decorrido certo tempo depois do abate, pode ocorrer uma pequena elevação do pH, independente da ação microbiana. O pH da carne está associado a propriedades importantes, entre as quais a resistência à deterioração bacteriana.

Segundo *DAINTY (1971)*, a correlação entre o pH da carne e o número de bactérias não parece ser consistente, em bora o uso desse Índice para avaliar qualidade seja sugerido, porque, ocorrendo na carne deterioração aeróbia, o pH quase invariavelmente aumenta de aproximadamente 5,5 para 6,5 ou mais.

A relação entre o pH e a microflora da carne bovina moída foi estudada por *LABADIE et alii (1975)*. Segundo esses autores a composição da flora depende do pH inicial e altera-se de acordo com o pH que resulta da ação dessa flora sobre a carne.

HYTTIÄY et alii (1975) recomendaram um pH menor que 6,4 da carne para que esta seja considerada boa para o consumo humano.

CHAMBERS et alii (1976) utilizaram o pH como um dos critérios para avaliar as práticas de manuseio, armazenamento e higiene da carne bovina moída fresca; propuzeram como valores aceitáveis aqueles menores que 5,85, juntamente com a contagem total, a contagem de microrganismos oxidase-positivos

(como indicador de psicrotróficos potenciais) e a de coliformes.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Amostragem

Foram analisadas vinte amostras de carne bovina cozida durante o 2º semestre de 1977, e outras 20 (vinte) amostras provenientes dos mesmos estabelecimentos durante o 1º semestre de 1978. Essas amostras, pesando cerca de 0,5 kg cada, provenientes de dez supermercados (A, B, ..., J) e de dez açougues (K, L, ..., T), de maneira alternada (uma ou duas amostras de açougue, seguidas de uma ou duas amostras de supermercados), foram obtidas sempre pela manhã (entre 8 e 8,5 h) e transportadas imediatamente para o laboratório, a fim de serem submetidas a análises microbiológicas o mais rapidamente possível.

4.2. Contagem total de bactérias (SHARE, 1972)

Foi feita com base em recomendações da "American

Public Health Association", utilizando-se 50 g da amostra para o preparo da diluição inicial, e incubando-se as placas de Petri (em duplicatas) a 21^oC (72 h) e a 32^oC (48 h), conforme as referidas recomendações, mas também a 35^oC (48 h).

4.3. Prova da resazurina (*GRANER et alii, 1973*)

Para a determinação do tempo de redução da resazurina, 1 ml de suspensão (diluição 10⁻¹) preparada para a contagem total de bactérias, foi adicionada a um tubo contendo 10 ml de caldo nutriente, mais 0,5% de extrato de levedura, e 1 ml de solução do indicador de óxido-redução. Sobre o conteúdo de cada tubo foi ainda colocada uma camada de óleo mineral esterilizado (cerca de 1 ml).

O tempo necessário para a redução do indicador nos tubos (em duplicatas), colocados em banho-maria, ao abrigo da luz, a 30^oC (conforme o método citado) e também a 35^oC, foi determinado. Foram feitas observações de meia em meia hora, até que o conteúdo tivesse sua coloração (inicialmente azul-violeta) modificada para amarelo, estado este correspondente à forma incolor da resazurina.

Para o preparo da solução indicadora de óxido-redução, foram colocados 10 mg de resazurina em 200 ml de água destilada, recém esterilizada, quente. Diluiu-se e esfriou-se logo em seguida, guardando-se a solução (que era renovada periodicamente) em frasco escuro previamente esterilizado,

bem fechado, em geladeira.

4.4. Enumeração de coliformes totais (SHARF, 1972)

Foram inoculadas, com porções de 1 ml cada, 5 tubos contendo caldo de lactose-bile-verde-brilhante, para cada diluição. Após incubação a 35°C por 24 h, os tubos foram observados quanto à produção ou não de gas. A última diluição para a qual os 5 tubos foram positivos, assim como as duas diluições seguintes, foram separadas para a determinação do número mais provável (NMP), mediante consulta a tabela apropriada (SHARF, 1972). O NMP/g de amostra foi calculado pela seguinte fórmula:

$$\frac{\text{Valor encontrado na Tabela}}{100} \times \text{fator de diluição} = \text{NMP/g}$$

onde a referida diluição corresponde à média entre as três consideradas.

4.5. Enumeração de *Escherichia coli* (SHARF, 1972)

A enumeração de *E. coli* foi feita também determinando-se o número mais provável, a partir dos tubos de fermentação. Para tanto, inoculou-se o material de cada tubo positivo das três diluições consideradas sobre a superfície do meio ágar-eosina-azul de metileno (ágar-EMB), e procurou-se observar a ocorrência de colônias ligeiramente elevadas, com 2-3

milímetros de diâmetro, topo plano ou côncavo, com centro escuro e brilho metálico esverdeado. As placas positivas, correspondentes às três diluições, com o auxílio da tabela de NMP e da fórmula anterior (4.4), forneceram o NMP de *E.coli*/g de amostra.

4.6. Isolamento e identificação de *Salmonella* (BANWART, 1975)

Para o isolamento de *Salmonella*, adicionaram-se 25 g do produto a 225 ml de caldo selenito-cistina. Após incubação a 35°C por 24 ± 2 h, foram feitas estrias com uma alça de platina, previamente mergulhada no caldo inoculado, sobre placas de ágar-verde-brilhante, ágar-*Salmonella-Shigella* e ágar-sulfito de bismuto, em duplicatas. Após nova incubação a 35°C, por 24 ± 2 horas, procurou-se observar o aparecimento de colônias típicas de *Salmonella*, conforme as indicações de BANWART (1975). Essas colônias foram transferidas, com uma agulha de platina, para tubos contendo o meio ágar-açúcar-tríplo-ferro (ágar-TSI) inclinado, sendo a inoculação feita na forma de estrias na superfície inclinada e por introdução da agulha no meio.

Os tubos contendo ágar-TSI, inoculados, foram incubados a 35°C por 24 ± 2 horas e procurou-se observar o crescimento dos microrganismos através da produção de cor vermelha (reação alcalina) no meio e cor amarela (reação ácida) nas fen

das, bem como a produção de H₂S (enegrecimento do ágar).

A partir dos tubos positivos, correspondentes às amostras do 1º semestre/1978, foram realizadas as seguintes provas bioquímicas: urease, descarboxilase de lisina, indol, vermelho-de-fenol-lactose, vermelho-de-fenol-sacarose, Voges-Proskauer, vermelho-de-metila e citrato de Simmon (BANWART, 1975).

A Tabela 1 mostra as reações bioquímicas típicas dos testes executados para *Salmonella*, comparadas com as dos gêneros *Arizona* e *Citrobacter*, que também são membros da tribo *Salmonelleae*.

Tabela 1. Reações características dos gêneros *Salmonella*, *Arizona* e *Citrobacter*.

Prova	<u>Salmonella</u>		<u>Arizona</u>		<u>Citrobacter</u>	
	signal	%	signal	%	signal	%
H ₂ S (em ágar-TSI)	+	92,4	+	98,7	+	84,0
Urease	-	100,0	-	100,0	+	76,3
Descarboxilase de lisina	+	94,6	+	100,0	-	100,0
Indol	-	98,9	-	98,0	-	93,3
Vermelho-de-fenol-lactose	-	99,2	+	78,0	+	92,2
Vermelho-de-fenol-sacarose	-	99,5	-	95,3	+	75,3
Voges-Proskauer	-	100,0	-	100,0	-	100,0
Vermelho-de-metila	+	100,0	+	100,0	+	99,5
Citrato de Simmon	+	87,1	+	100,0	+	94,7

4.7. Avaliação subjetiva da qualidade

Porções das amostras, pesando cada cerca de 100 g, foram armazenadas sob refrigeração (3 a 6°C), em placas de Petri previamente esterilizadas e recobertas por material de embalagem flexível com baixa permeabilidade ao vapor d'água e alta permeabilidade ao oxigênio (polietileno de baixa densidade). Periodicamente (a cada 24 horas), esse material foi submetido a avaliação do odor e da cor. Foram preparadas duas placas por amostra, sendo uma delas utilizada para a determinação do pH (4.8).

4.8. Determinação do pH

O pH das amostras foi determinado no início da armazenagem refrigerada e a cada 24 horas, até o aparecimento de sintomas de deterioração. Para tanto, foram suspensas 20 - 25 g de carne em igual quantidade de água destilada, com auxílio de um bastonete de vidro, e o pH foi determinado em potenciômetro Metrohm, modelo E-350.

4.9. Determinação do teor de umidade (HORWITZ, 1970, modificado)

O restante do material correspondente a cada amostra foi moído por mais duas vezes e transferido para um frasco de vidro que foi fechado herméticamente e armazenado em congelador. As amostras foram descongeladas (sem abrir os

frascos), à medida que iam sendo utilizadas para análise.

Para determinação de umidade, foram usadas cápsulas de aço inoxidável, com 70 mm de diâmetro e altura de 20 mm. Em cada cápsula, previamente seca e tarada, foram colocadas cerca de 10 g de amostra, determinando-se a seguir o peso exato. Foram utilizadas duas cápsulas por amostra. Levou-se o material para secar em estufa com circulação mecânica de ar a 125^oC por quatro horas. As placas foram transferidas para dessecador e, depois de resfriadas, foram pesadas novamente.

4.10. Determinação do teor de gordura (*KELLEY et alii, 1957*)

Uma porção de 9 gramas de carne moída, preparada como foi descrito anteriormente (4.9), foi pesada em frasco "Paley", adicionando-se 5 ml de água a 70^oC, logo a seguir. Dispersou-se a amostra com o auxílio de um bastonete de vidro. Foram adicionados, então, 5 ml de ácido acético glacial e 15 ml de ácido sulfúrico concentrado, misturando-se bem, até completar a digestão (4 a 5 min). Em seguida, centrifugou-se o material a 1500 rpm, por 5 min (Centrífuga Internacional Modelo K). Deixou-se em banho-maria a 70^oC por 2 min e fez-se a leitura (direta). Foram utilizadas duas porções de 9 g por amostra.

4.11. Análise Estatística

O tratamento estatístico dos dados incluiu a

análise da variância (teste F), realizada individualmente para supermercados e para açougues, seguida de uma análise conjunta para os dois tipos de estabelecimento. Foram utilizados os seguintes esquemas:

<u>Dados</u>	<u>Esquemas</u>
- Contagem total de bactérias	- Fatorial 3 x 2 em blocos casualizados com 10 repetições
- Redução da resazurina	- Fatorial 2 x 2 em blocos casualizados com 10 repetições
- Enumeração de coliformes, pH, teores de umidade e de gordura e período de conservação.	- Blocos casualizados com 10 repetições.

Na análise conjunta, foi utilizado o resíduo médio oriundo dos resíduos das análises individuais para supermercados e açougues, desde que a interação tipos de estabelecimento por tratamento não foi significativa.

Quando necessário, foi utilizado o teste de Tukey (5%) para a comparação de médias, duas a duas.

Foram também calculados os coeficientes de correlação linear simples para as várias séries de dados obtidos, tendo-se usado o teste t para a verificação de sua significância ou não.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Análise microbiológica

5.1.1. Contagem total de bactérias

Os resultados da contagem total de bactérias para as amostras de supermercados encontram-se na Tabela 2 e, para as amostras de açougues, na Tabela 3. Os resumos das análises estatísticas realizadas com os dados da contagem total são apresentados nas Tabelas 4 e 5, respectivamente: análises individuais da variância e análise conjunta. Verificou-se que:

1) Tanto para supermercados como para açougues, as contagens observadas no 2º semestre/1977 foram em geral mais elevadas, diferindo estatisticamente, ao nível de 1% de probabilidade, das obtidas no 1º semestre/1978. Essa variação entre os dois semestres estudados pode ser melhor visualizada na Figura 1.

No 2º semestre/1977, a contagem total a 21°C para as amostras de supermercados e açougues variou de $2,4 \times 10^6$ bactérias/g a valores maiores que $3,0 \times 10^8$; a 32°C, de $7,4 \times 10^5$ a valores maiores que $3,0 \times 10^8$; e, a 35°C, esteve na faixa $3,6 \times 10^5$ a $4,8 \times 10^7$ bactérias/g. No 1º semestre/1978, as seguintes variações foram encontradas: $5,15 \times 10^5$ a $2,0 \times 10^8$ (21°C); $3,8 \times 10^5$ a $1,6 \times 10^8$ (32°C); e, $1,28 \times 10^5$ a $1,8 \times 10^7$ bactérias/g (35°C).

Quanto à distribuição das contagens totais de bactérias verificadas no 2º semestre/1977 (Figura 2), a 32 e 35°C, um maior número de amostras (55 e 70%, respectivamente), apresentou contagens na faixa $n \times 10^6$ bactérias/g ($10 > n \geq 1$); e, a 21°C, na faixa $n \times 10^7$ (45%). No 1º semestre/1978 (Figura 3), nas contagens a 32 e 35°C, houve um maior número de amostras (45 e 60%, respectivamente) na faixa $n \times 10^5$ bactérias/g, enquanto a 21°C, na faixa $n \times 10^6$ bactérias/g (45%).

2) As contagens obtidas após incubação das placas a 21°C foram significativamente maiores que as obtidas a 35°C, tanto para um como para outro tipo de estabelecimento. Na análise conjunta para supermercados e açougues, constatou-se que as contagens após incubação a 32°C foram significativamente mais elevadas que as correspondentes a 35°C. Não foi constatada diferença significativa entre as contagens após incubação a 21°C e 32°C. As contagens para as diferentes temperaturas de incubação estiveram positivamente correlacionadas :

$r = 0,90$ (21/32°C); $r = 0,85$ (21/35°C); e $r = 0,87$ (32/35°C).

3) Tanto para supermercados como para açougues, a análise estatística acusou diferenças significativas entre estabelecimentos; todavia, não foi constatada diferença entre as contagens correspondentes a um tipo de estabelecimento e as verificadas para o outro tipo.

De acordo com estudos realizados nos EUA e no Canadá (*WESTHOFF e FELDSTEIN, 1976; PIVNICK et alii, 1976*), para a carne moída a contagem total máxima sugerida foi de 10^7 bactérias/g (após incubação a 35°C); verificou-se, no presente trabalho, que 15% das amostras analisadas excedeu esse valor.

Comparando os resultados da contagem total a 32°C, com o critério proposto por *CHAMBERS et alii (1976)*, de valores menores que 15×10^6 organismos/g (após incubação das placas a 32°C por 48 h), observou-se que 25% das amostras ultrapassaram esse valor. Comparando ainda esses resultados com o limite máximo adotado por *DUITSCHAEVER et alii (1973)* e *AL-DELAIMY e STILES (1975)*, para placas incubadas a 32°C por 48 h, 30% das amostras analisadas apresentaram contagens superiores a 10^7 bactérias/g.

De acordo com a Resolução nº 13/78 aprovada pela *COMISSÃO NACIONAL DE NORMAS E PADRÕES PARA ALIMENTOS (1978)*, publicada no Diário Oficial da União em 25 de julho desse ano, e que apresentou como limite máximo de contagem para a carne moída

da 3×10^6 bactérias/g, 42,5% das amostras, considerando as contagens a 35°C , ultrapassaram esse valor; assim como 57,5%, nas contagens a 32°C ; e 70%, nas contagens a 21°C .

Conforme decreto do *GOVÊRNO DO ESTADO DE SÃO PAULO (1978)*, o limite máximo para a contagem total de bactérias no produto também é 3×10^6 bactérias/g.

Tabela 2. Contagem total de bactérias ($\times 10^5$ bact/g) para as amostras de supermercados.

Estabelecimentos	2º semestre/1977			1º semestre/1978		
	21°C	32°C	35°C	21°C	32°C	35°C
A	71,50	82,00	33,00	1.150,00	203,00	82,50
B	24,00	28,00	23,65	5,15	3,85	3,20
C	271,00	470,00	182,00	425,00	225,50	49,00
D	485,00	310,00	159,00	109,50	64,50	16,90
E	855,00	76,00	93,00	19,65	12,70	3,30
F	86,00	71,50	19,00	32,00	16,05	9,35
G	110,00	82,50	78,50	7,65	7,10	10,30
H	3.000,00*	3.000,00*	460,00	10,85	9,60	4,55
I	320,00	36,00	34,50	8,80	7,75	6,30
J	38,00	23,00	12,70	11,25	8,85	7,60
Médias	526,05*	417,85*	109,535	177,985	55,89	19,30

(*) Valores utilizados na análise estatística; as contagens correspondentes à amostra H (2º semestre/1977, 21 e 32°C) ultrapassaram 300 colônias por placa.

Tabela 3. Contagem total de bactérias ($\times 10^5$ bact/g) para as amostras de açougues.

Estabelecimentos	2º semestre/1977			1º semestre/1978		
	21°C	32°C	35°C	21°C	32°C	35°C
K	41,50	7,40	3,60	38,00	6,05	3,05
L	865,00	46,00	43,50	169,50	77,50	22,05
M	141,00	132,00	56,50	14,40	17,25	1,87
N	1.735,00	1.085,00	480,00	39,00	38,00	3,05
O	147,00	108,50	91,00	18,65	9,05	1,28
P	77,50	76,00	25,80	9,75	7,80	4,30
Q	42,00	19,15	17,00	8,75	7,05	10,30
R	302,00	176,00	37,50	1.995,00	1.620,00	41,50
S	51,00	45,00	20,20	14,75	16,55	8,65
T	1.400,00	204,00	161,50	610,00	530,00	177,00
Médias	408,2	189,95	93,66	291,78	232,92	27,305

Tabela 4. Contagem total de bactérias: Resumo das análises individuais da variância para supermercados e açougues.

Causa da Variação	G.L.	Supermercados		Açougues	
		Q.M.	F.	Q.M.	F.
Temperaturas (T)	2	1,2556	5,61**	2,6825	12,62**
Períodos (P)	1	8,6812	38,85**	4,7476	22,35**
T x P	2	0,0002	0,0009	0,1497	0,70
Tratamentos	(5)				
Blocos	9	1,2288	5,50**	1,8203	8,57**
Resíduo	45	0,2234		0,2124	
Total	59				
C.V.			28,48%		27,69%
Médias (Temperaturas)	21 ^o C	1,8988		1,9985	
	32 ^o C	1,6802		1,7216	
	35 ^o C	1,3990		1,2728	
Δ (5%) (Temperaturas)		0,3625		0,3534	

Tabela 5. Contagem total de bactérias: Resumo da análise conjunta para supermercados e açougues.

Causa de Variação	G.L.	Q.M.	F
Tipos de Estabelecimento (E)	1	0,0007	0,003
Períodos (P)	1	13,1344	60,28**
Temperaturas (T)	2	3,8007	17,44**
E x P	1	0,2945	1,35
E x T	2	0,1375	0,63
P x T	2	0,0794	0,36
E x P x T	2	0,0705	0,32
Resíduo médio ^{a/}	90	0,2179	
Médias (Temperaturas)	21 ^o C	1,9486	
	32 ^o C	1,7009	
	35 ^o C	1,3359	
Δ (Temp.) (5%)	0,2495		

^{a/} Oriundo dos resíduos das análises individuais para supermercados e açougues.

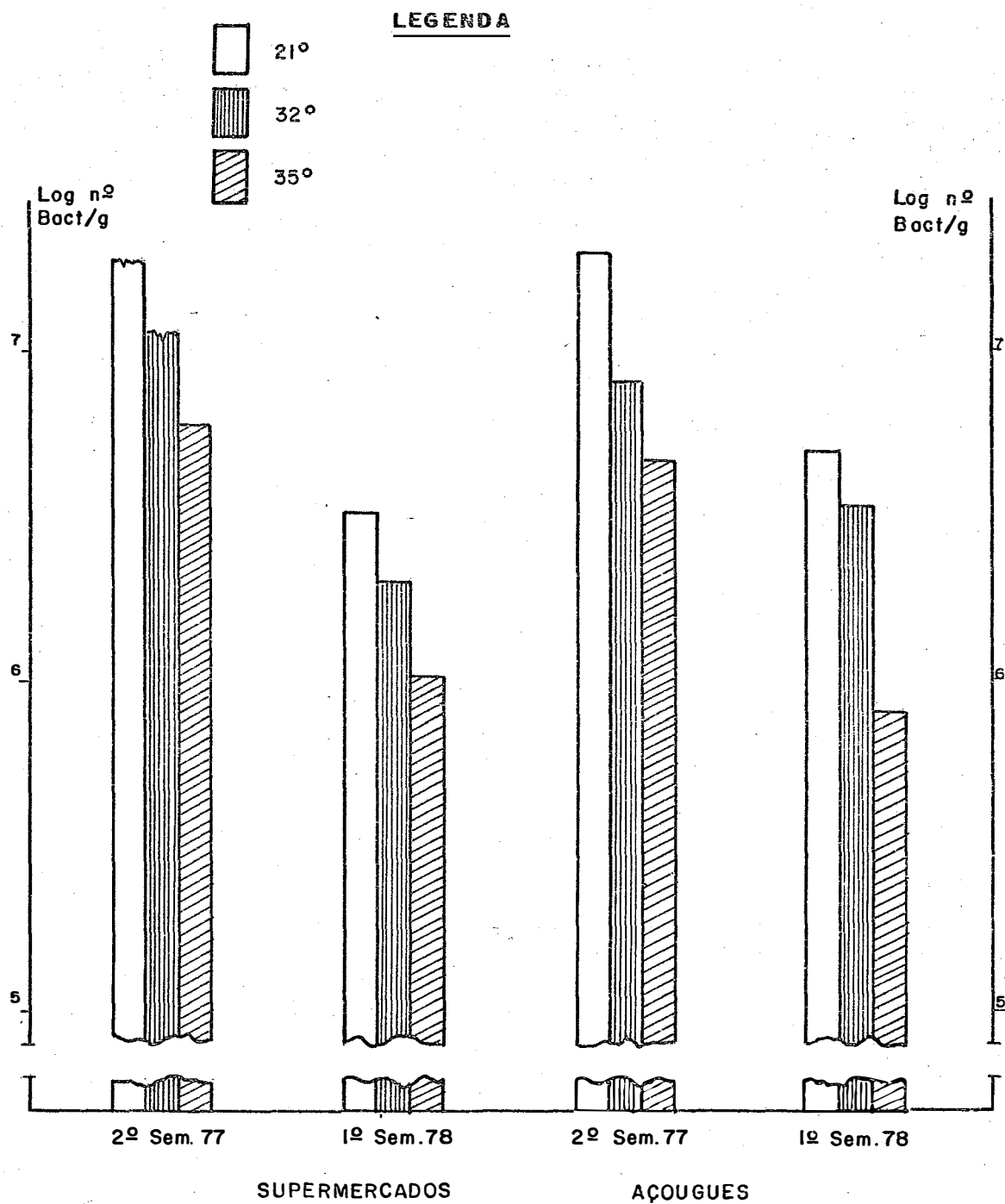


FIG. 01 - Contagem total de bactérias (n° de bact/g), após a incubação a 21, 32 e 35°C, para os dois tipos de estabelecimentos e os dois semestres.

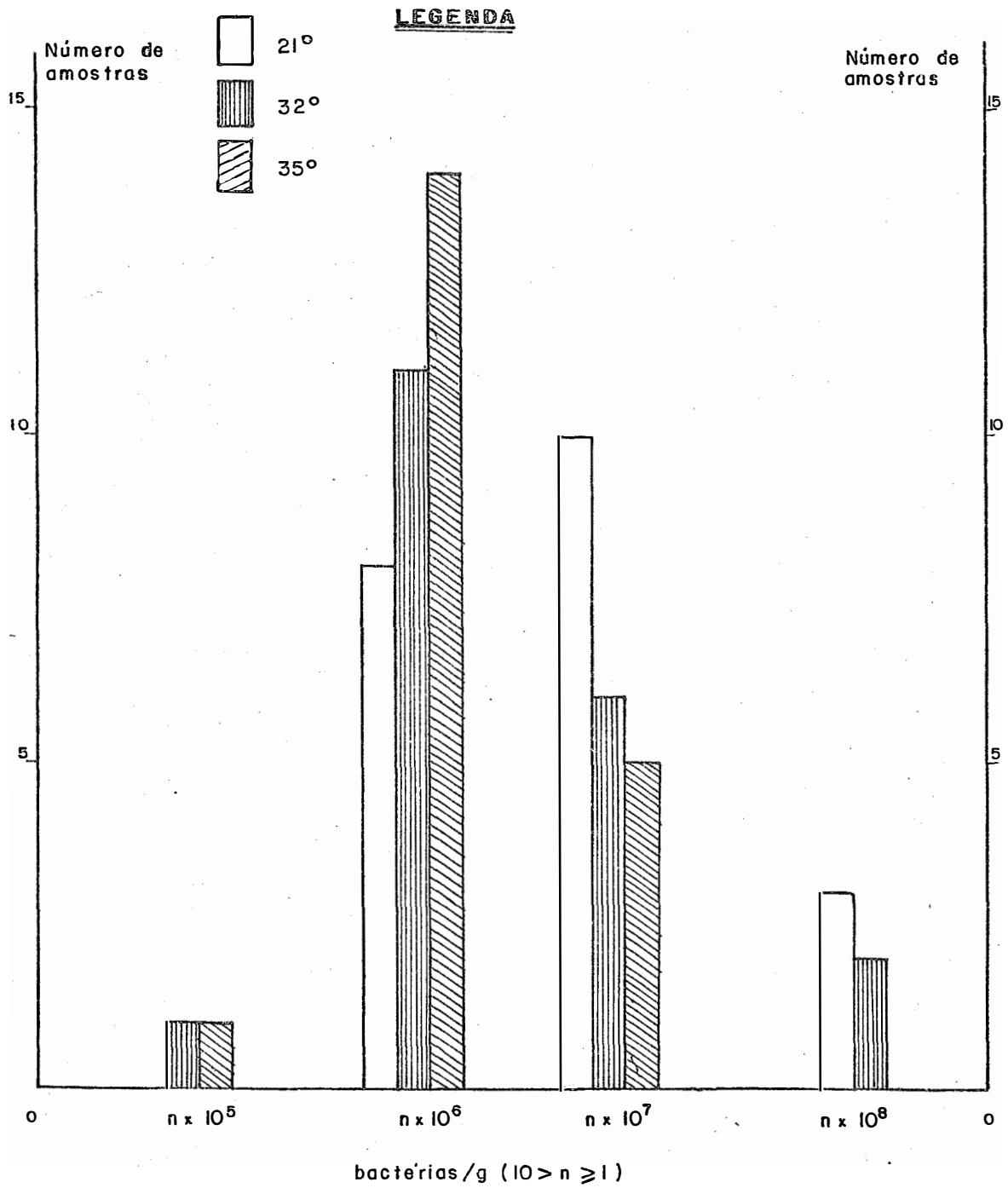


FIG. 02 — Distribuição das contagens totais de bactérias verificadas no 2º semestre de 1977.

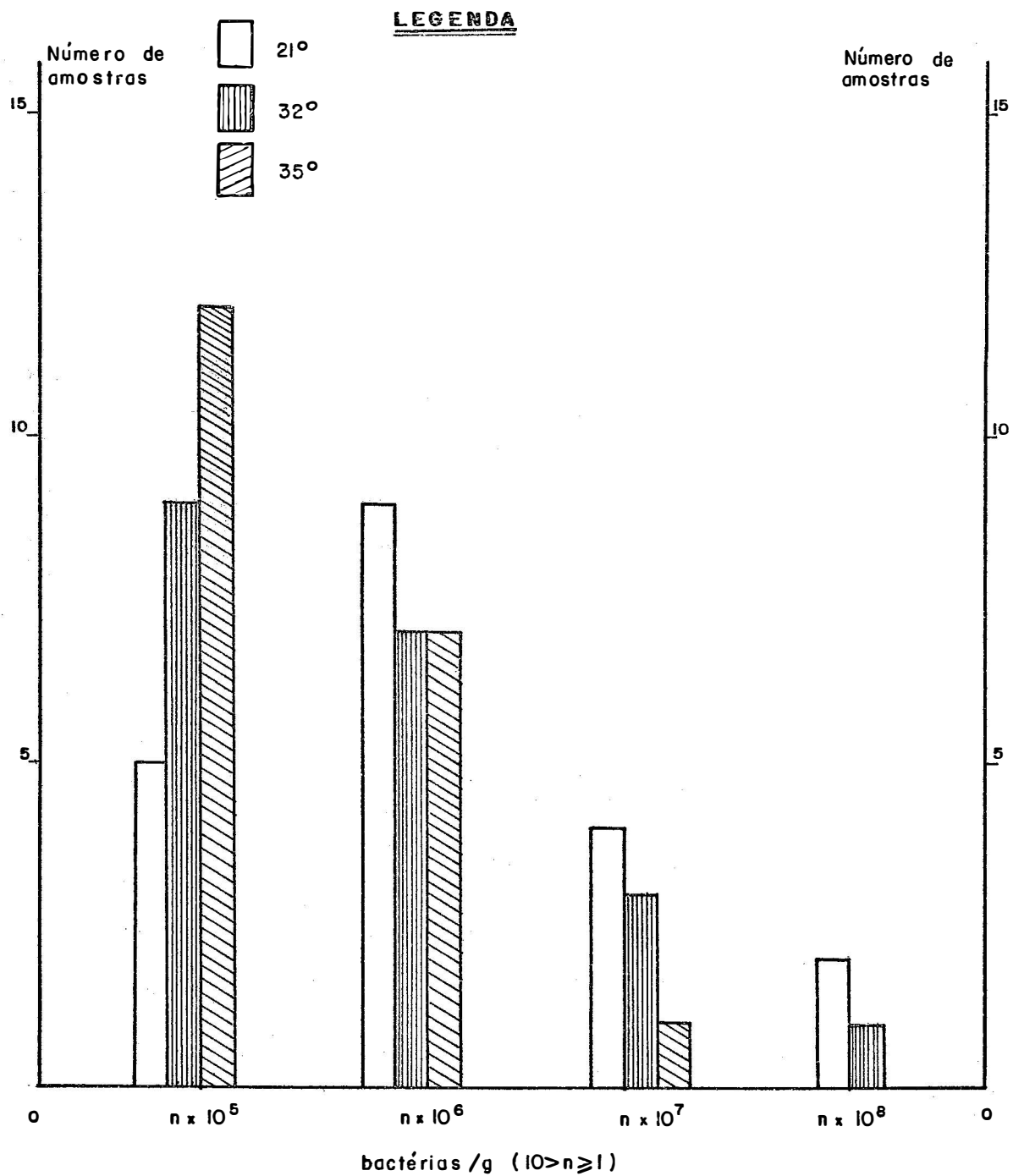


FIG. 03 — Distribuição das contagens totais de bactérias verificadas no 1º semestre de 1978.

5.1.2. Coliformes totais e *Escherichia coli*.

As Tabelas 6 e 7 mostram a ocorrência de coliformes totais e *E. coli*, através do número mais provável (NMP)/g de produto, para as amostras de supermercados e açougues. Os resumos das análises estatísticas realizadas com os dados da enumeração de coliformes totais e *E. coli* estão nas Tabelas 8 e 9 (análises individuais da variância) e 10 (análises conjuntas). Observou-se que:

1) Todas as amostras analisadas foram positivas, tanto para coliformes totais como para *E. coli*. A Figura 4 mostra os resultados da enumeração desses microrganismos para os dois estabelecimentos nos dois semestres estudados. Foi verificada uma correlação altamente significativa entre o NMP de coliformes totais e o de *E. coli* ($r = 0,91$).

2) Não foi constatada diferença significativa na enumeração de coliformes totais e de *E. coli*, para os diferentes períodos de amostragem nem para os dois tipos de estabelecimentos. As seguintes variações foram observadas: coliformes totais, de $4,9 \times 10^1$ a $2,4 \times 10^5$ bactérias/g; e *E. coli*, de 4,5 a $2,4 \times 10^5$.

3) Tanto o NMP de coliformes totais como o de *E. coli* esteve correlacionado significativamente (ao nível de 1% de probabilidade) com as contagens totais de bactérias correspondentes às três temperaturas de incubação (21,32 e 35°C).

Os maiores coeficientes de correlação foram observados para contagem total após incubação a 35°C (coliformes totais: 0,77; *E. coli*: 0,66). AL-DELAIMY e STILES (1975) encontraram um coeficiente de correlação de 0,70 entre a contagem total (32°C) e a de coliformes. Este tipo de correlação, porém, não foi encontrado em trabalhos anteriores, como os de ROGER e Mc CLESKEY (1957), RAO (1970), WESTHOFF e FELDSTEIN (1976) e EMSWILLER *et alii* (1976b). A Figura 5 mostra a relação entre o NMP de coliformes (totais e *E. coli*) e a contagem total de bactérias a 35°C.

De acordo com HYYTIÄY *et alii* (1975), que apresentaram como limite máximo 10^3 coliformes totais por grama de carne, 67,5% das amostras analisadas excederam esse valor; assim como 87,5% ultrapassaram o limite máximo para *E. coli* (10^2 /g), proposto por PIVNICK *et alii* (1976, 1978).

Considerando-se a Resolução nº 13/78, aprovada pela COMISSÃO NACIONAL DE NORMAS E PADRÕES PARA ALIMENTOS (1978), que estabeleceu como limite máximo para bactérias do grupo coliforme de origem fecal o valor 3×10^2 /g; e que o termo coliformes fecais é geralmente usado para caracterizar uma população de bactérias com elevada proporção de *E. coli* (CHORDASH e INSALATA, 1978), pode-se observar que 67,5% das amostras analisadas para essa bactéria excederam aquele limite.

De acordo com decreto do GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO (1978), o limite máximo para coliformes fecais tam-

bém é 3×10^2 bactérias/g.

Tabela 6. Enumeração de coliformes totais (número mais provável/g) para as amostras de supermercados e açougues.

Supermercados				Açougues		
Esta- bele- cimen- tos	2º Sem.1977	1º Sem.1978	Esta- bele- cimen- tos	2º Sem.1977	1º Sem.1978	
A	95,0	240.000,0	K	49,0	1.100,0	
B	2.800,0	1.300,0	L	3.300,0	7.900,0	
C	2.200,0	64.000,0	M	2.800,0	330,0	
D	13.000,0	790,0	N	540.000,0	170,0	
E	79.000,0	330,0	O	33.000,0	49,0	
F	13.000,0	7.900,0	P	7.900,0	1.300,0	
G	13.000,0	490,0	Q	4.900,0	330,0	
H	24.000,0	79,0	R	3.300,0	23.000,0	
I	3.300,0	230,0	S	24.000,0	230,0	
J	490,0	7.900,0	T	33.000,0	240.000,0	
Médias	15.088,5	32.301,9	Médias	65.224,9	27.440,9	

Tabela 7. Enumeração de *E. coli* (número mais provável/g) para as amostras de supermercados e açougues.

Supermercados			Açougues		
Estabelecimentos	2º Sem.1977	1º Sem.1978	Estabelecimentos	2º Sem.1977	1º Sem.1978
A	26,0	240.000,0	K	22,0	490,0
B	450,0	790,0	L	780,0	7.900,0
C	330,0	17.000,0	M	200,0	330,0
D	7.900,0	120,0	N	39.000,0	11,0
E	3.700,0	170,0	O	33.000,0	4,5
F	1.100,0	2.200,0	P	3.300,0	140,0
G	1.400,0	490,0	Q	400,0	330,0
H	1.300,0	49,0	R	200,0	23.000,0
I	1.700,0	30,0	S	2.300,0	45,0
J	140,0	1.700,0	T	7.800,0	27.000,0
Médias	1.804,6	26.274,9	Médias	8.700,2	5.925,05

Tabela 8. Coliformes totais: Resumo das análises da variância para supermercados e açougues.

Causa de Variação	G.L.	Supermercados		Açougues	
		Q.M.	F	Q.M.	F
Períodos (P)	1	0,4912	0,28	3,0402	2,23
Blocos	9	0,2677	0,15	0,9895	0,73
Resíduo	9	1,7233		1,3627	
Total	19				
C.V.		37,4%		33,34%	

Tabela 9. *E. coli*: Resumo das análises da variância para super
mercados e açougues.

Causa da Variação	G.L.	Supermercados		Açougues	
		Q.M.	F	Q.M.	F
Períodos (P)	1	0,0983	0,063	1,4627	0,714
Blocos	9	0,1925	0,124	0,7576	0,310
Resíduo	9	1,5482		2,0465	
Total	19				
C.V.		42,28%		49,99%	

Tabela 10. Coliformes: Resumo das análises conjuntas para supermercadados e açougues.

Causa de Variação	G.L.	Coliformes totais		<i>Escherichia coli</i>	
		Q.M.	F	Q.M.	F
Tipos de Estabelecimentos (E)	1	0,0001	-	0,0664	0,04
Períodos (P)	1	2,9877	1,94	0,4012	0,22
E x P	1	0,5436	0,35	1,1577	0,64
Resíduo Médio ^{a/}	18	1,5431		1,7974	

^{a/} Oriundo dos resíduos das análises individuais para supermercadados e açougues.

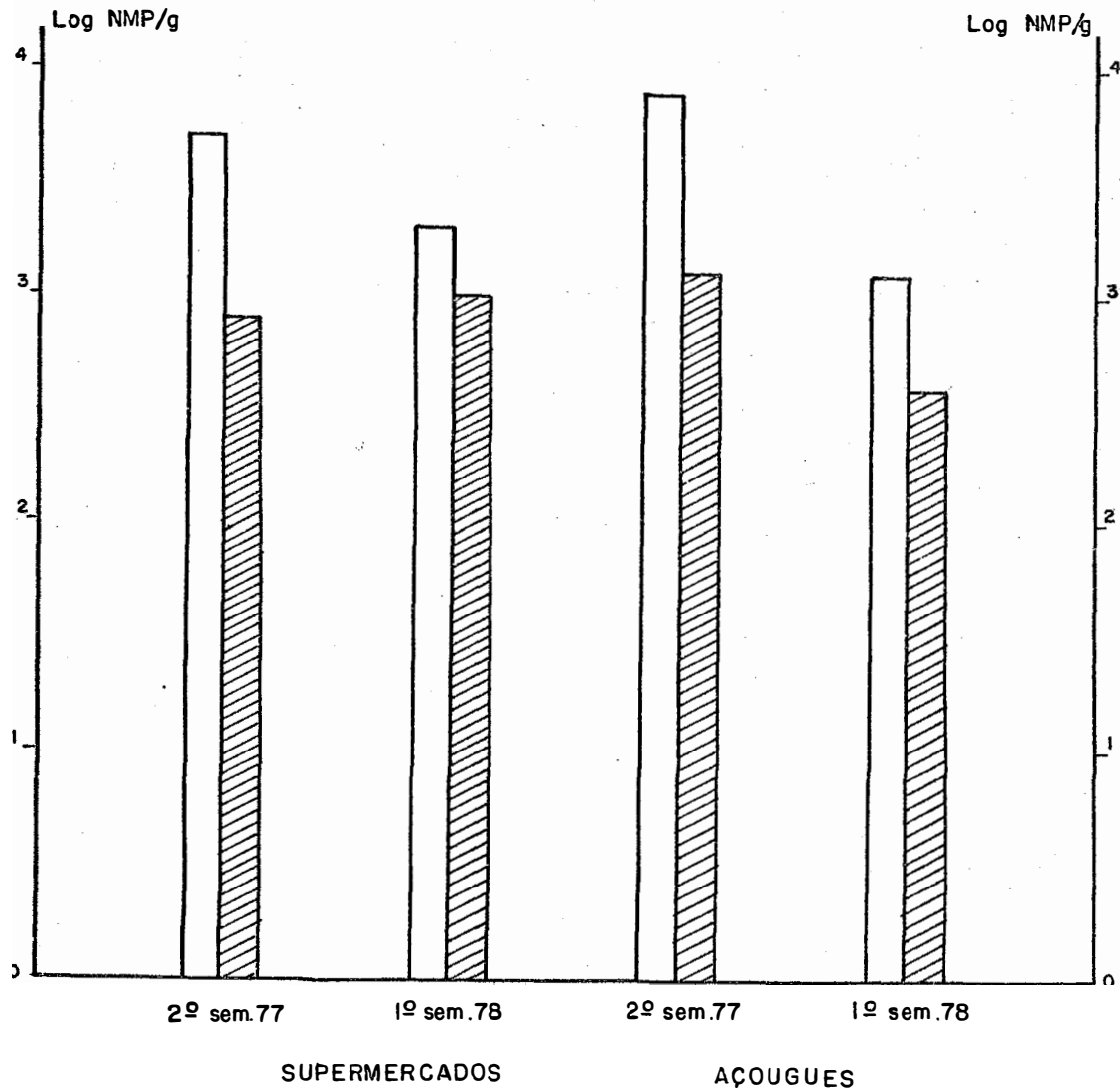
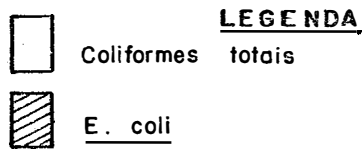


FIG. 04 — Enumeração de coliformes totais e E. coli (NMP/g), para dois tipos de estabelecimentos e dois semestres.

(A) $Y=1,8671+1,2238 X$ (coliformes totais - ●)

(B) $Y=1,5072+1,0043 X$ (E.coli - ○)

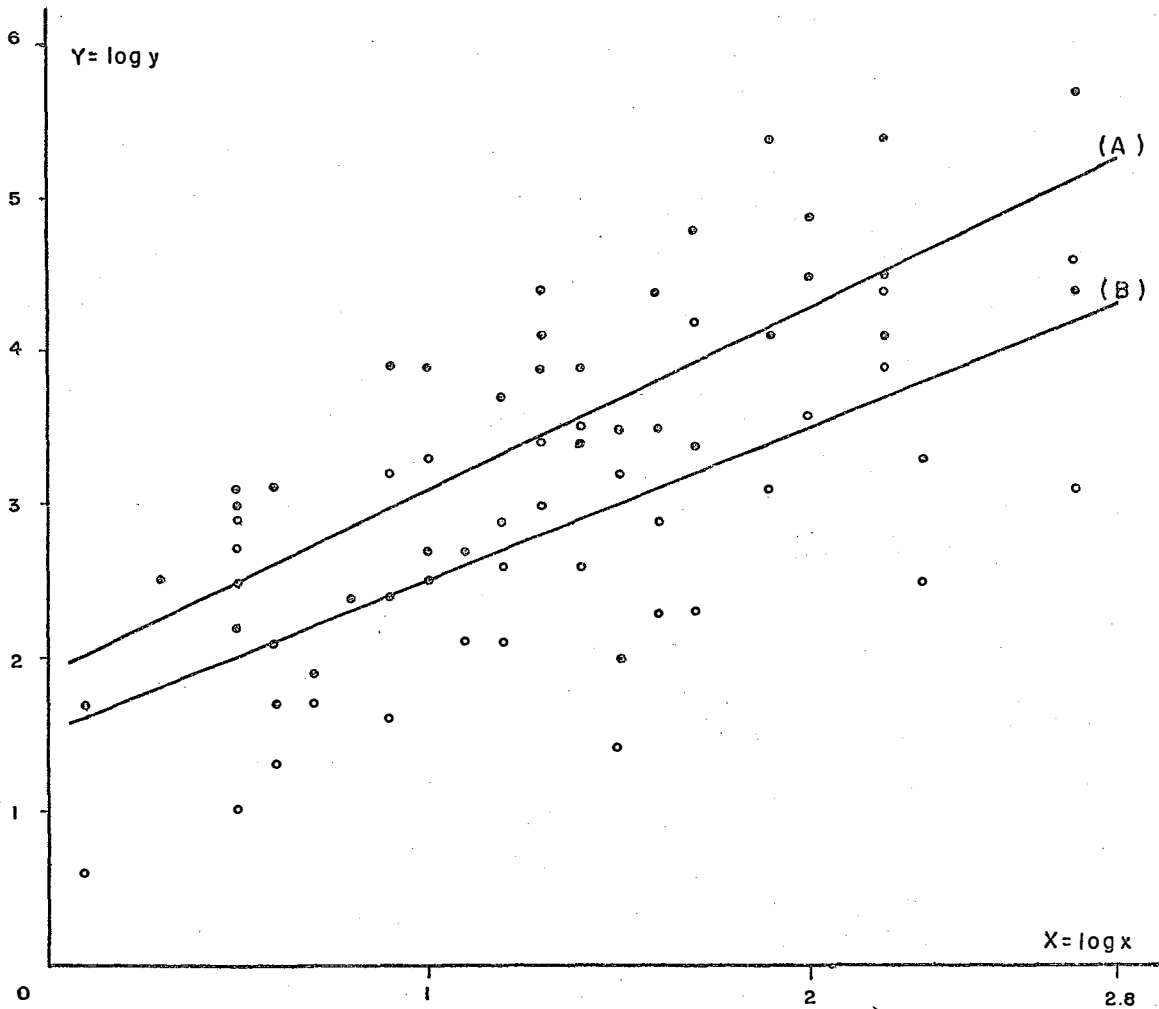


FIG. 05 - Relação entre o NMP (y bactérias/g) de coliformes (totais e E.coli) e a contagem total de bactérias ($\times 10^5$ bactérias/g) a 35°C.

5.1.3: *Salmonella*

Em todas as amostras analisadas observou-se crescimento de colônias típicas sobre a superfície dos três meios seletivos: 1) Ágar-verde-brilhante: colônias incolores, translúcidas e opacas, com o meio apresentando-se rosado em volta. 2) Ágar-*Salmonella-Shigella*: colônias incolores a rosa, sendo que algumas apresentaram centro pretos. 3) Ágar-sulfito de bismuto: colônias em geral pretas e algumas verdes. Quando essas colônias foram transferidas para tubos com meio ágar-açúcar-tríplo-ferro inclinado (ágar-TSI), muitas produziram coloração vermelha (reação alcalina) no meio e cor amarela (reação ácida nas fendas, com ou sem produção de H_2S - enegrecimento do meio). Até aqui, os testes foram considerados como presuntivos para a ocorrência do gênero *Salmonella*, tendo sido positivos para todas as amostras.

Para as amostras analisadas durante o 1º semestre/1978, foram realizadas provas bioquímicas para identificação de gênero *Salmonella*, e os resultados são apresentados nas Tabelas 11 e 34 (Apêndice). Embora tenham sido utilizados três meios seletivos, as células isoladas a partir do meio ágar-*Salmonella-Shigella* foram as que mostraram reações bioquímicas mais características do gênero *Salmonella*. Como pode ser observado na Tabela 11, principalmente, a análise indicou a ocorrência de bactérias do gênero *Salmonella* (em 25 g de carne) para 5 das amostras. De acordo com *PIVNICK et alii (1976)*, e com

os padrões estabelecidos para o País (Resolução nº 13/78 da COMISSÃO NACIONAL DE PADRÕES PARA ALIMENTOS, 1978), tais bactérias devem estar ausentes em 25 g do produto.

Tabela 11. Reações bioquímicas indicando a ocorrência do gênero *Salmonella* em amostras (25 g) do produto.

Prova	Reação típica	Reações observadas com as amostras :					
		G	I	J	L	Q	F*
H ₂ S	+ (-)	-	-	-	-	-	-
U	-	-	-	-	-	-	-
LD	+	+	+	+	+	+	+
I	-	-	-	-	-	-	-
PRL	- (+)	-	-	-	-	-	+
PRS	- (+)	+	-	+	+	+	-
VP	-	-	-	-	-	-	-
MR	+	+	+	+	+	+	+
SC	+ (-)	-	-	-	-	-	-

* Amostra apresentando reações típicas de *Salmonella* ou *Arizona*.

H₂S = Produção de H₂S em tubos de ágar-TSI.

U = Prova da urease.

LD = Prova da descarboxilase de lisina.

I = Prova do indol.

PRL = Prova do vermelho-de-fenol-lactose.

PRS = Prova do vermelho-de-fenol-sacarose.

VP = Prova de Voges-Proskauer.

MR = Prova do vermelho-de-metila.

SC = Prova do citrato de Simmon.

5.1.4. Avaliação da qualidade com indicador de $\bar{\text{oxido}}$ -redução (prova da resazurina)

As Tabelas 12 e 13 mostram o tempo de redução da resazurina para as amostras de supermercados e açougues; e as Tabelas 14 e 15, os resumos das análises individuais da variância e da análise conjunta, respectivamente. Verificou-se que:

1) Na análise conjunta da variância (supermercados e açougues), para o tempo de redução da resazurina, a temperatura de incubação de 35°C resultou em uma diminuição significativa (nível de 1% de probabilidade) desse tempo. Os valores obtidos a 30°C e a 35°C estiveram positivamente correlacionados ($r = 0,98$).

As diferenças no tempo de redução do indicador nas temperaturas de incubação utilizadas para os dois tipos de estabelecimentos e nos dois semestres estudados podem ser visualizadas na Figura 6. O tempo (h) de redução da resazurina para as amostras de supermercados e açougues no 2º semestre / 1977 variou de 4,25 a 8,75 h (30°C) e de 4,0 a 8,25 h (35°C); no 1º semestre/1978, de 5,50 a 10,0 h (30°C) e de 5,25 a 9,25 h (35°C).

2) Constatou-se que houve correlações significativas ao nível de 1% de probabilidade entre o tempo de redução do indicador (a 30°C e a 35°C), de um lado, e as contagens to-

tais de bactérias realizadas após incubação das placas de Petri a 21, 32 e 35^oC, de outro (Tabela 16). Tanto para uma como para outra temperatura de incubação (prova da resazurina), os maiores coeficientes de correlação foram obtidos para a temperatura de 35^oC (contagem total de bactérias). Por outro lado, os coeficientes de correlação foram um pouco maiores considerando-se a temperatura de 30^oC, na prova de resazurina, em relação a 35^oC, no mesmo teste (Tabela 16). As relações entre as contagens totais de bactérias a 21, 32 e 35^oC e o tempo de redução da resazurina a 30^oC acham-se, respectivamente, nas Figuras 7, 8 e 9, e, reunidas, na Figura 10. As relações entre as contagens totais nas três temperaturas de incubação e o tempo de redução da resazurina a 35^oC, da mesma forma, acham-se nas Figuras 11, 12, 13 e 14.

3) Foram constatadas correlações significativas (nível de 1% de probabilidade) entre o tempo de redução da resazurina (a 30 e a 35^oC) e a enumeração de coliformes (totais e *E. coli*) (Tabela 16 e Figuras 15 e 16).

4) Para os dados obtidos com as amostras provenientes de açougues, o tempo de redução da resazurina no 2^o semestre/1977, foi significativamente (nível de 1% de probabilidade) menor que o correspondente ao 1^o semestre/1978; no caso de supermercados não foi constatada diferença significativa entre os períodos de amostragem. Também não houve diferença significativa entre os tipos de estabelecimento.

Correlação altamente significativa ($r = -0,91$) entre o tempo de redução da resazurina e a contagem total de bactérias foi observada por *GRANER et alii* (1973), modificando o teste estudado por *SAFFLE et alii* (1961), para as temperaturas de incubação de 30°C (teste de resazurina) e 32°C (contagem total de bactérias), e utilizando amostras provenientes de 4 estabelecimentos do tipo supermercado. Os resultados do presente trabalho foram obtidos através da utilização de amostras provenientes de 20 estabelecimentos de 2 tipos, supermercados e açougues, e em dois períodos (2º semestre/1977 e 1º semestre/1978), mostrando que essa correlação negativa existe para diferentes temperaturas de incubação tanto dos tubos de ensaio (teste da resazurina) como das placas de Petri (contagem total de bactérias). Também foi demonstrada a existência de correlação negativa entre o tempo de redução do indicador e a enumeração de coliformes (totais e *E. coli*).

Os resultados obtidos sugerem que deve ser recomendada a temperatura de 30°C para a prova da resazurina, para a qual o tempo de redução do indicador apresentou-se melhor correlacionado com a contagem total de bactérias, principalmente quando a incubação das placas na contagem foi realizada a 21°C e a 32°C. Por outro lado, utilizando-se a temperatura de 35°C para a prova, houve diminuição do tempo de redução do indicador, que esteve bem correlacionado com a contagem total a 35°C. Em ambos os casos, houve boa correlação do tempo de redução da resazurina com a enumeração de coliformes (totais e

E. coli).

MARTINELLI FILHO *et alii* (1975) apresentaram uma tentativa de classificação da carne moída quanto à sua condição, com base no tempo de redução da resazurina, modificando ligeiramente a apresentada por GRANER *et alii* (1973). De acordo com esses autores, o produto pode ser colocado em três categorias: aceitável (tempo de redução > 7,5 h), questionável (tempo > 4,5 h e ≤ 7,5 h) e inaceitável (tempo ≤ 4,5 h). Os resultados do presente trabalho, melhor analisados nas Figuras 7, 8, 9, 11, 12 e 13, que mostram a relação entre as contagens totais (a 21, 32 e 35°C), e o tempo de redução da resazurina, permitem uma ligeira modificação na classificação anteriormente apresentada, com base, principalmente, na correlação negativa entre o tempo de redução do indicador e a contagem total de bactérias. Assim, considerando-se o limite máximo nacional (3×10^6 bactérias/g), e ainda, o limite apresentado por autores estrangeiros (10^7 bactérias/g), pode-se sugerir para o produto: aceitável (tempo de redução > 8,0 h), questionável (tempo > 5,0 h e ≤ 8,0 h) e inaceitável (tempo ≤ 5,0 h). Essa classificação apresentada levou em conta ainda a relação existente entre coliformes (totais e *E. coli*) e o tempo de redução da resazurina.

Tabela 12. Tempo (h) de redução da resazurina para as amostras de supermercados.

Estabelecimentos	2º semestre de 1977		1º semestre de 1978	
	30°C	35°C	30°C	35°C
A	8,50	8,00	5,75	5,25
B	8,25	7,50	7,50	6,50
C	6,75	5,75	5,50	5,25
D	6,50	6,00	8,00	7,00
E	4,75	4,25	8,50	7,50
F	8,00	7,00	7,25	6,00
G	6,50	5,75	7,00	6,00
H	4,50	4,00	8,00	7,50
I	6,00	5,25	8,50	7,50
J	7,75	6,75	6,75	6,00
Médias	6,75	6,02	7,27	6,45

Tabela 13. Tempo (h) de redução de resazurina para as amostras de açougues.

Estabele- cimentos	2º semestre de 1977		1º semestre de 1978	
	30°C	35°C	30°C	35°C
K	8,75	8,25	8,25	7,50
L	6,00	5,75	7,50	6,50
M	7,00	6,25	10,00	9,25
N	4,50	4,00	9,00	8,50
O	5,50	5,00	9,75	9,00
P	5,50	5,25	8,00	7,00
Q	7,50	6,75	7,50	6,25
R	5,50	5,00	6,50	6,50
S	6,75	6,00	8,25	7,25
T	4,25	4,00	6,25	5,50
Médias	6,12	5,62	8,10	7,32

Tabela 14. Tempo de redução de resazurina: Resumo das análises individuais da variância para supermercados e açougues.

Causa de Variação	G.L.	Supermercados		Açougues	
		Q.M.	F	Q.M.	F
Temperaturas (T)	1	6,0062	3,96	4,0640	4,22*
Períodos (P)	1	2,2562	1,49	33,7640	35,10**
T x P	1	0,0249	0,02	0,1890	0,20
Tratamentos	(3)				
Blocos	9	1,0381	0,69	3,7779	3,93**
Resíduo	27	1,5136		0,9617	
Total	39				
C.V.		18,57%		14,43%	

Tabela 15. Tempo de redução de resazurina: Resumo da análise conjunta para supermercados e açougues.

Causa de Variação	G.L.	Q.M.	F
Tipos de Estabelecimentos (E)	1	0,5695	0,46
Períodos (P)	1	26,7382	21,60**
Temperaturas (T)	1	9,9757	8,06**
E x P	1	9,2820	7,50** ^{b/}
E x T	1	0,0945	0,08
P x T	1	0,1757	0,14
E x P x T	1	0,03882	0,03
Resíduo Médio ^{a/}	54	1,2347	

^{a/} Oriundo dos resíduos das análises individuais para supermercados e açougues.

^{b/} No desdobramento dos graus de liberdade correspondente a esta interação, verificou-se que os períodos não diferiram dentro de supermercados, mas, dentro de açougues, diferiram ao nível de 1% de probabilidade (os valores obtidos no 1º semestre/1978 foram superiores aos do 2º semestre/1977).

Tabela 16. Tempo de redução da resazurina, contagem total de bactérias e enumeração de coliformes: Coeficientes de correlação.

Redução da Resazurina	Contagem Total de Bactérias			Enumeração de Coliformes	
	21 ^o C	32 ^o C	35 ^o C	Totais	<i>E. coli</i>
30 ^o C	-0,75	-0,66	-0,84	-0,81	-0,73
35 ^o C	-0,68	-0,60	-0,82	-0,80	-0,72

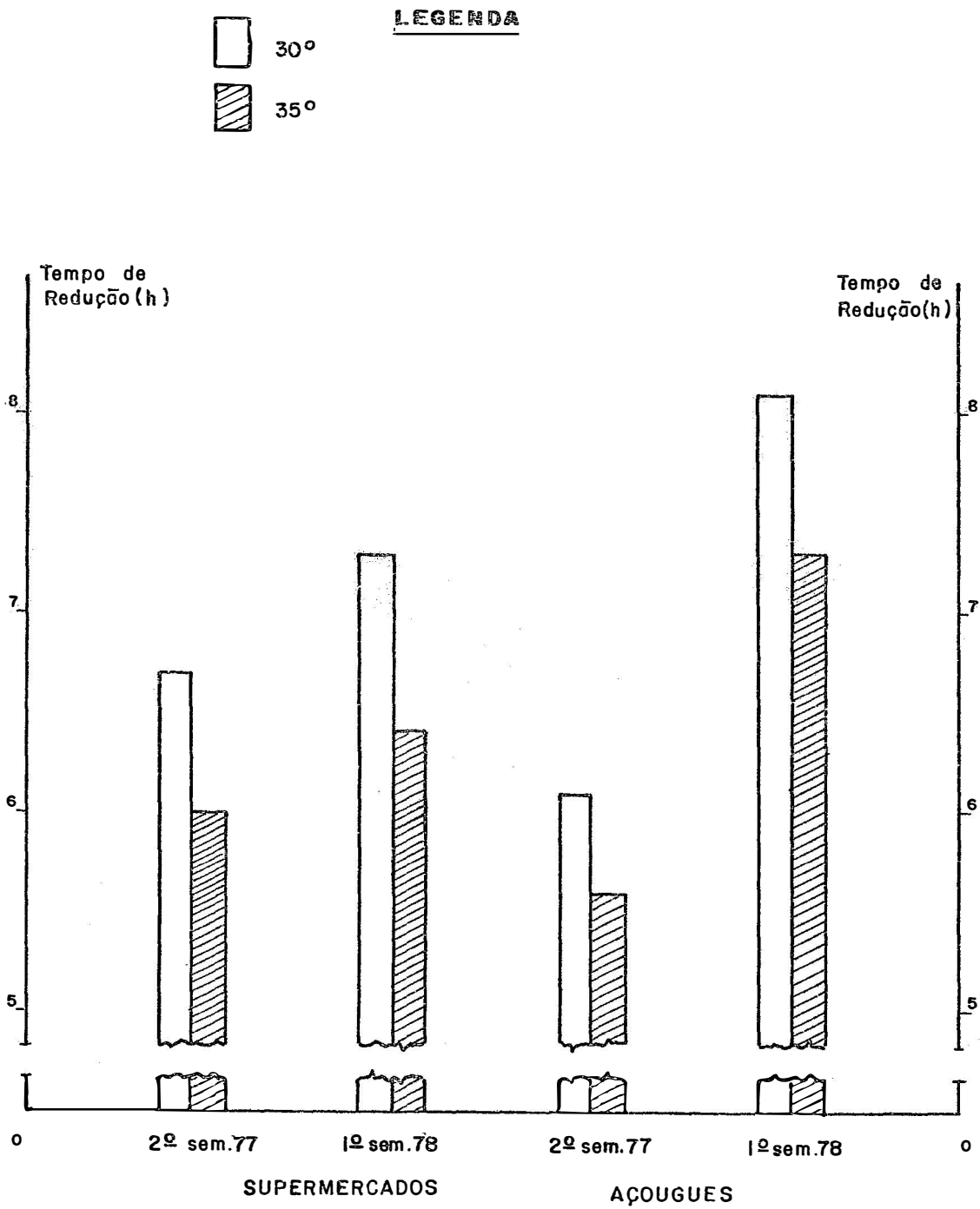


FIG. 06 — Tempo de redução do resazurina para dois tipos de estabelecimentos e dois semestres .

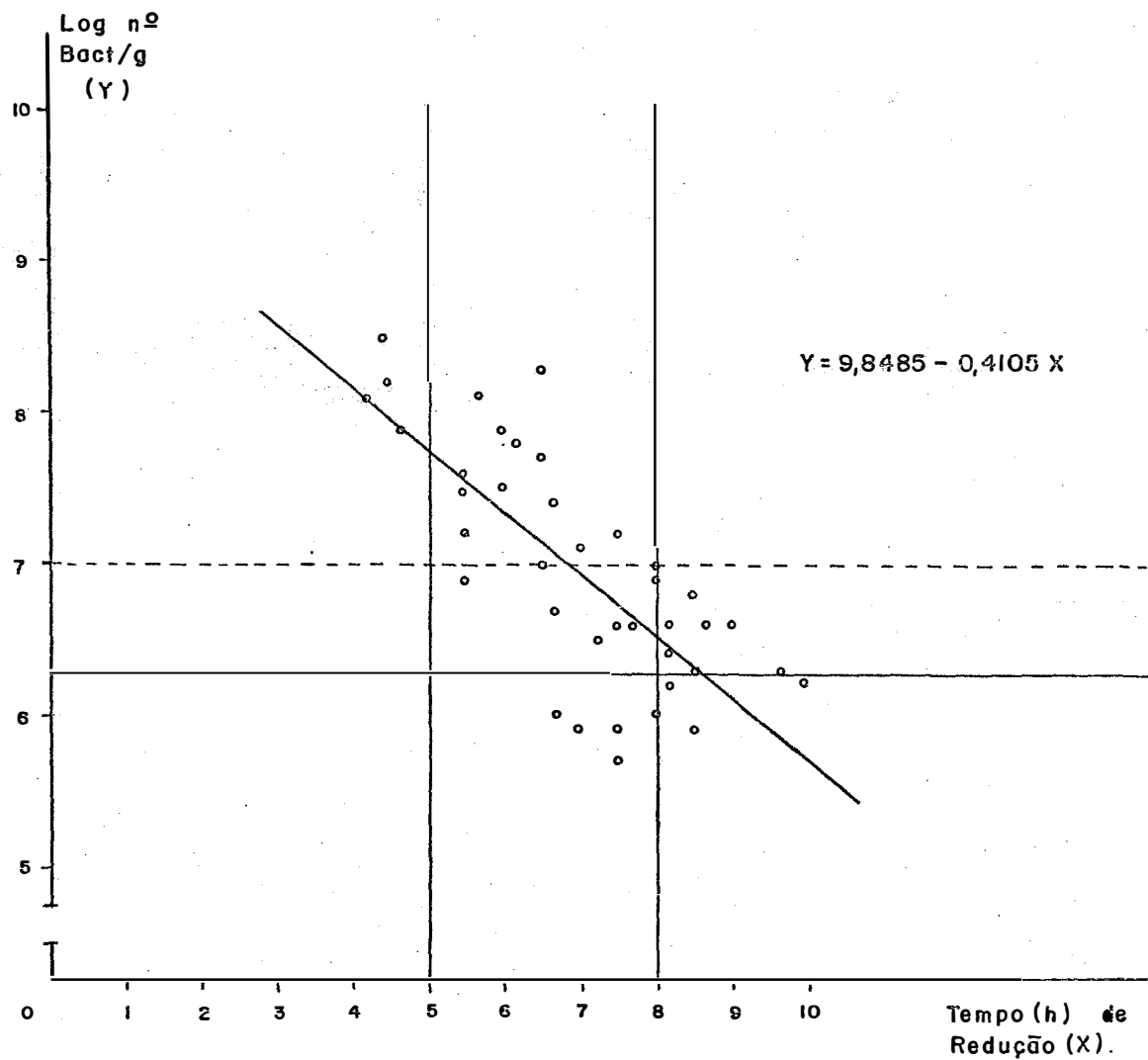


FIG. 07 - Relação entre a contagem total de bactérias (21°C) e o tempo de redução da resazurina (30°).

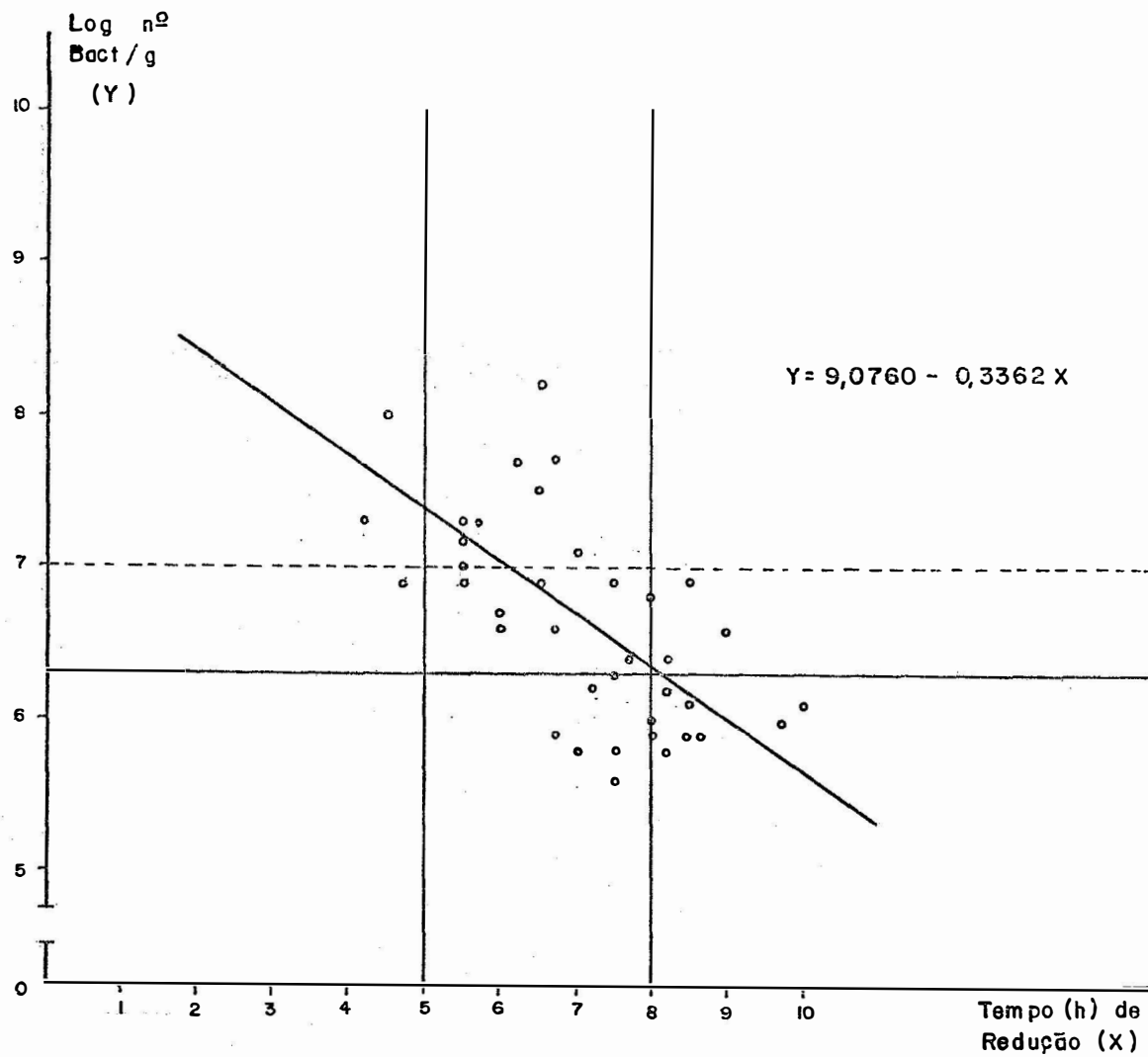


FIG. 8 - Relação entre a contagem total de de bactérias (32°) e o tempo de redução da resazurina (30°)

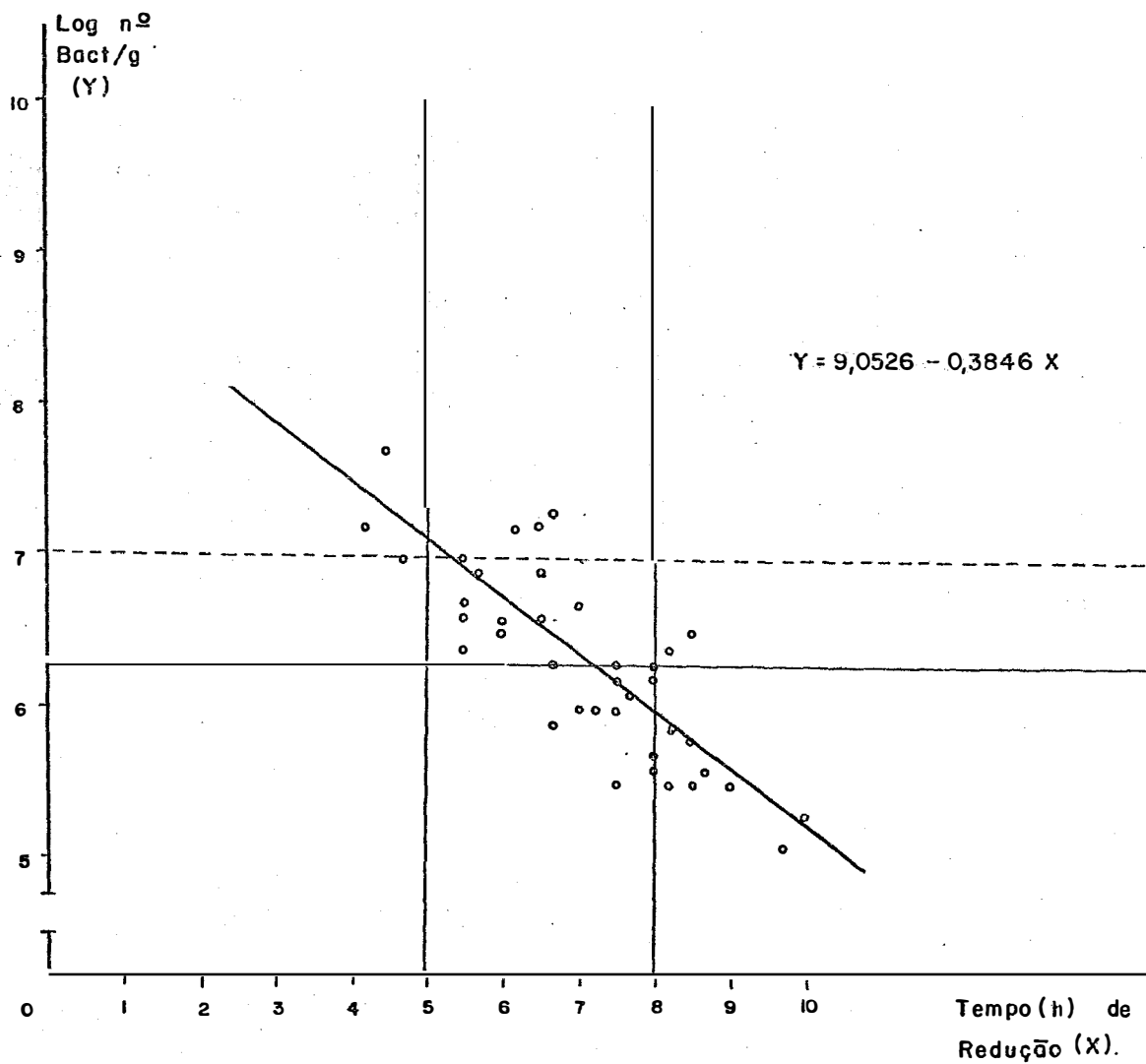


FIG. 09 - Relação entre a contagem total de bactérias (35°C) e o tempo de redução da resazurina (30°C).

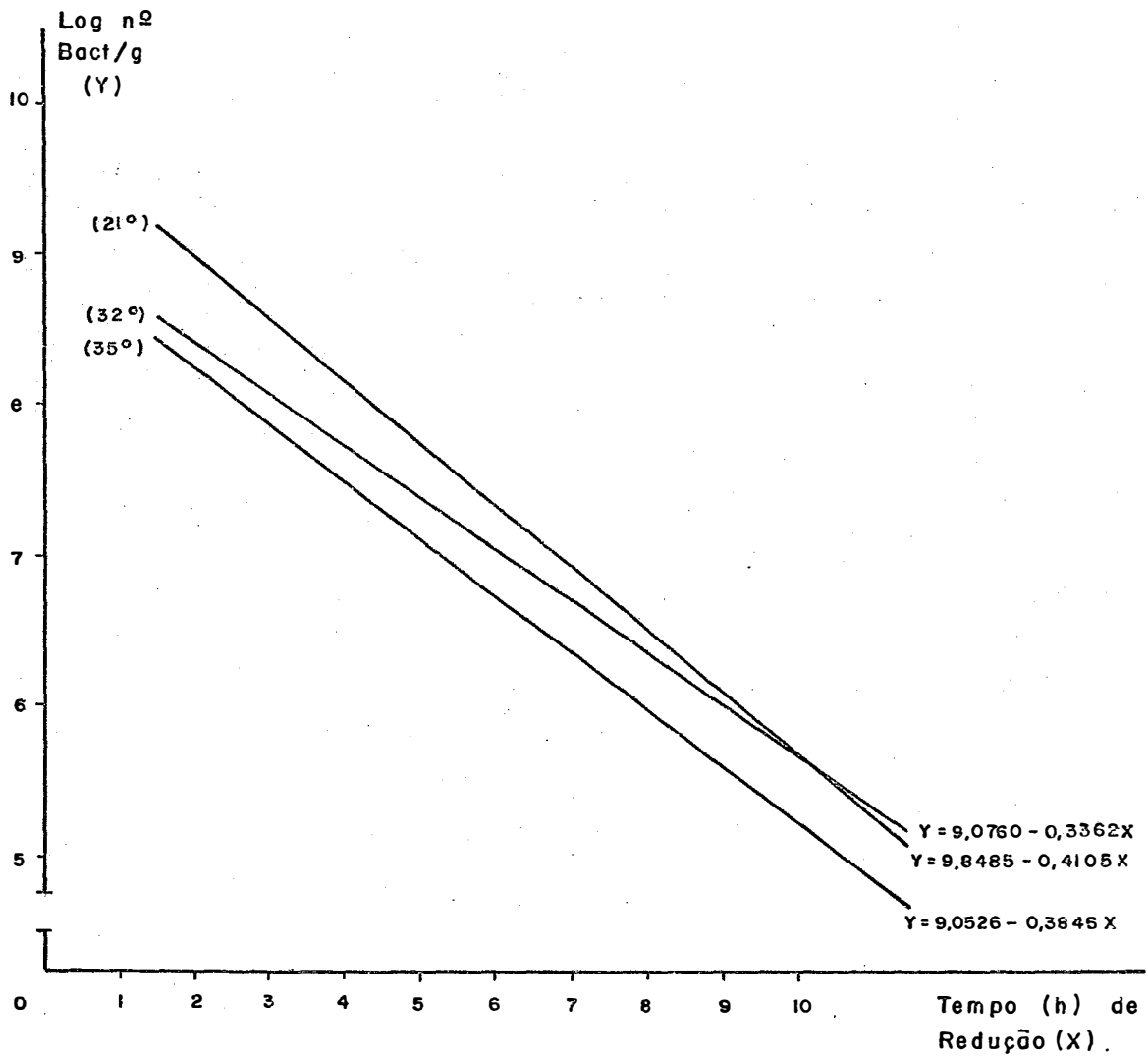


FIG. 10 — Relação entre a contagem total de bactérias (21, 32 e 35°C) e o tempo de redução da resazurina (30°C) .

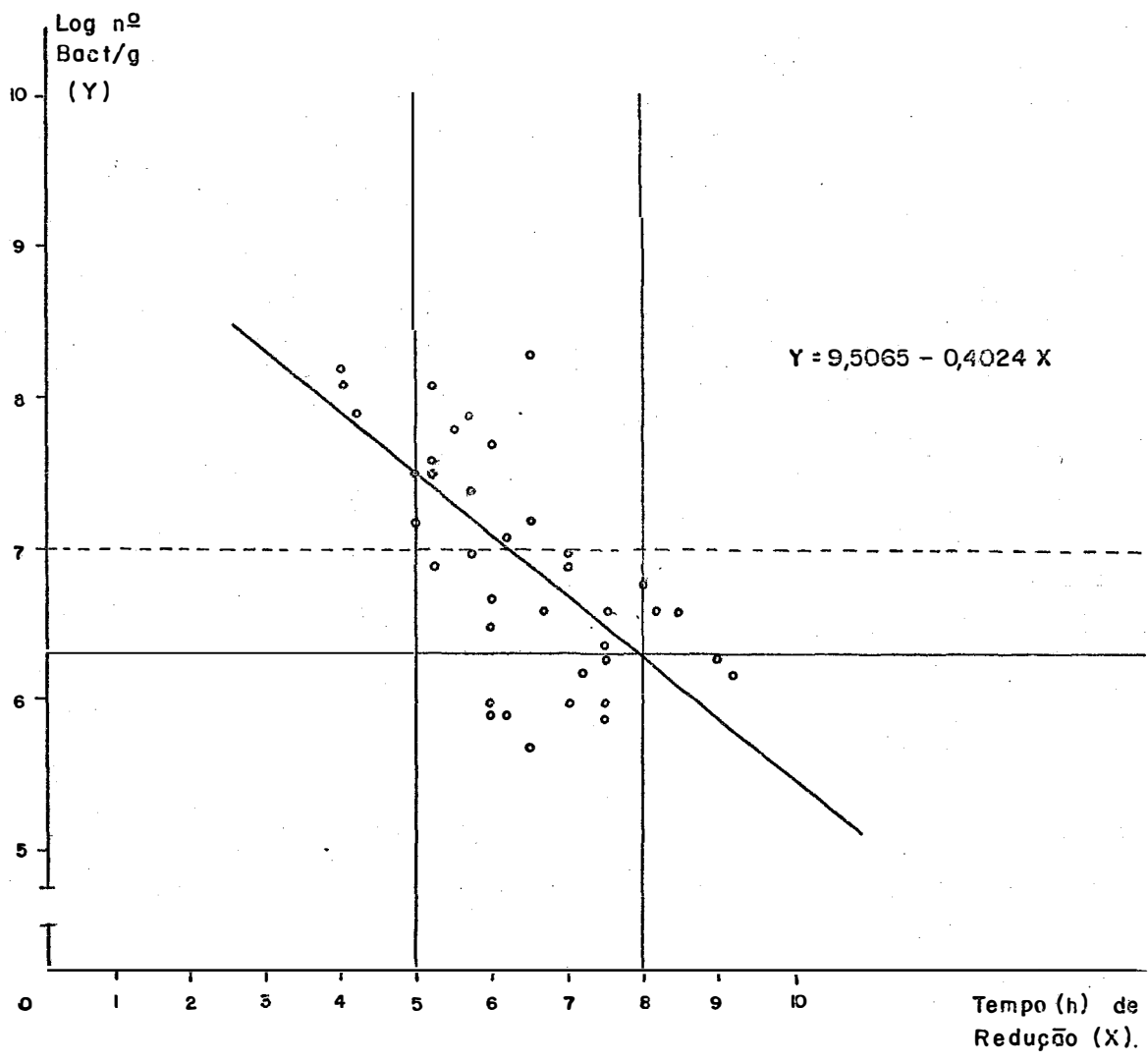


FIG. II - Relação entre a contagem total de bactérias (21°C) e o tempo de redução da resazurina (35°C).

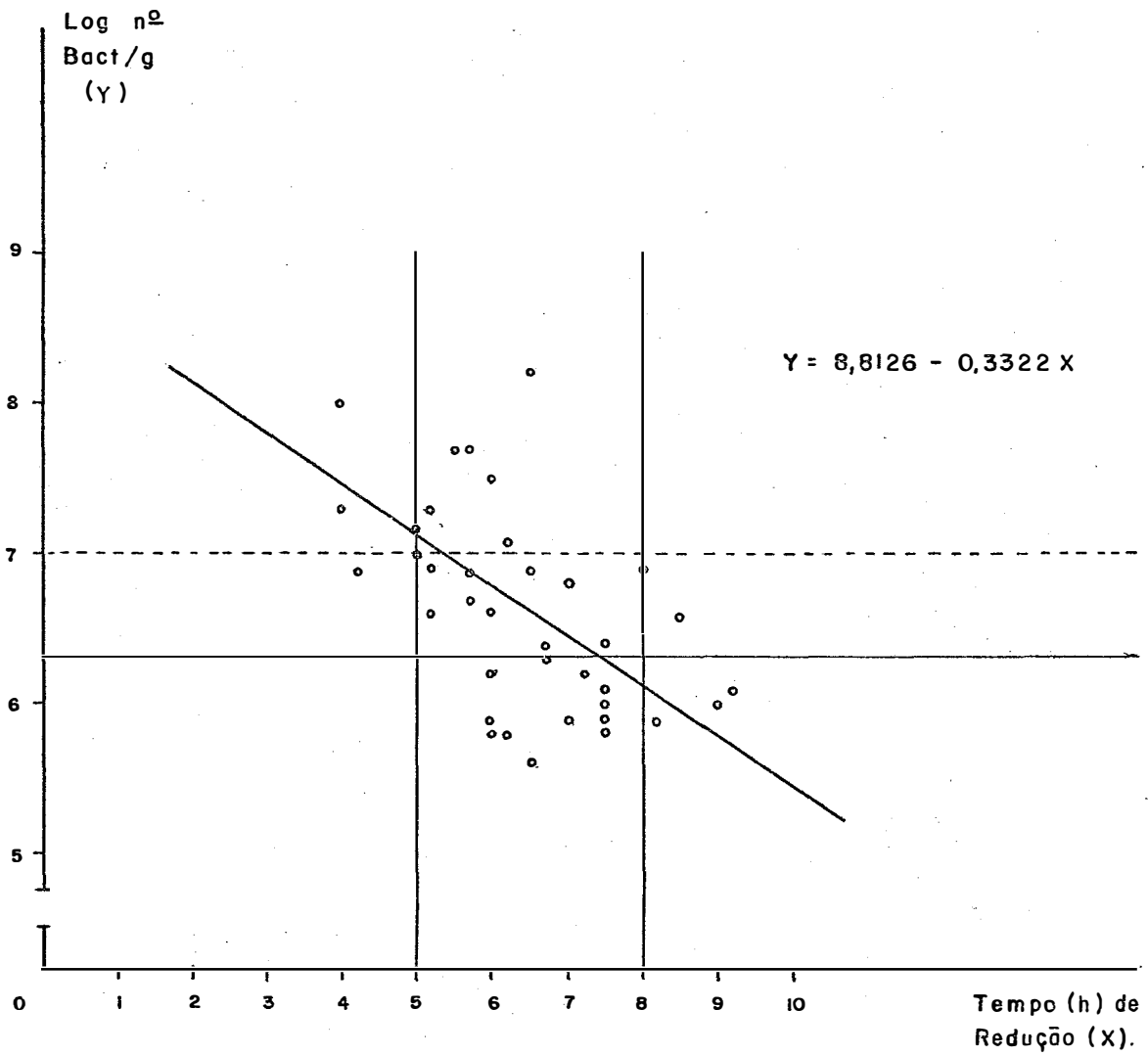


FIG. 12 - Relação entre a contagem total de bactérias (32°) e o tempo total da resazurina (35°).

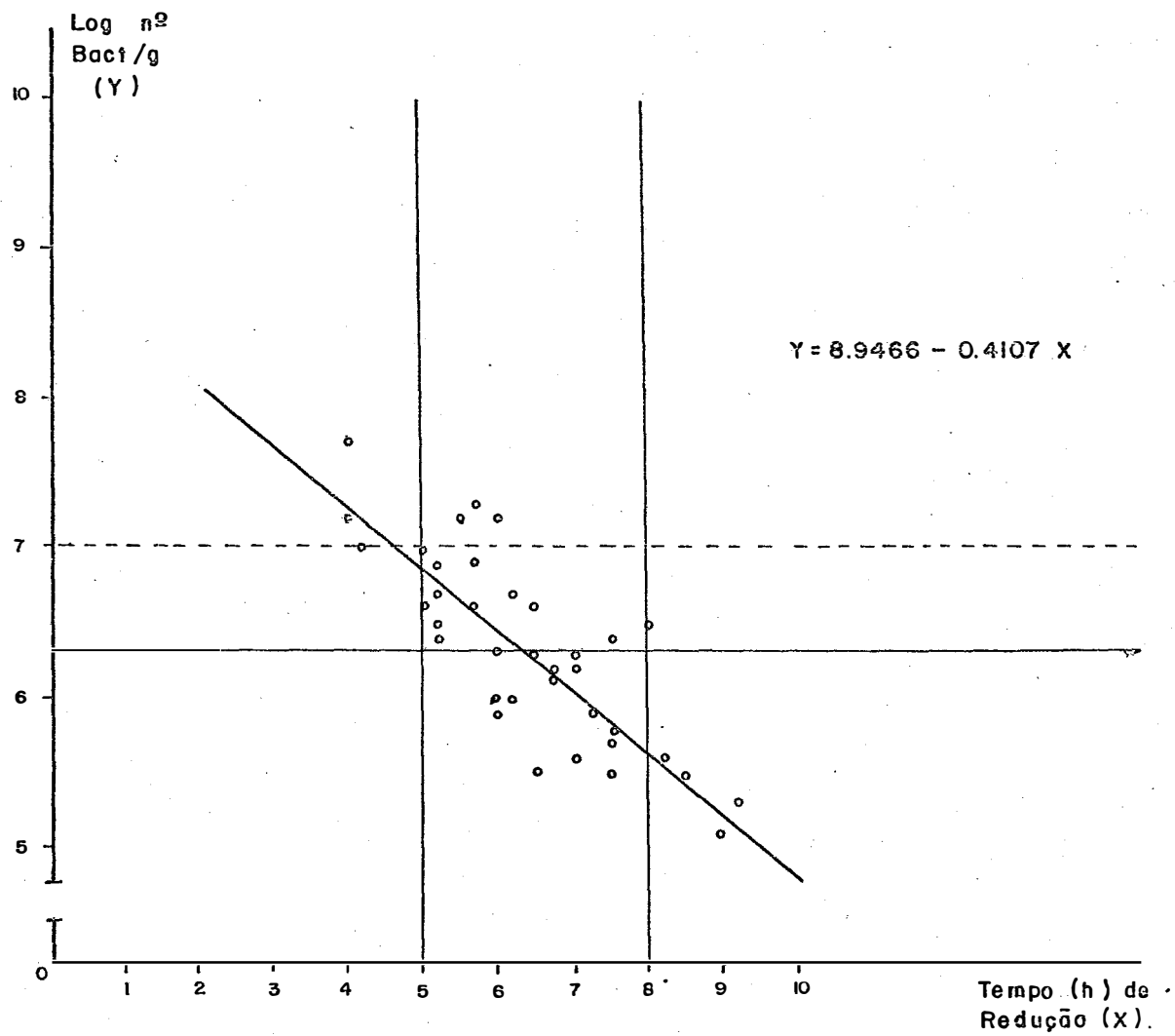


FIG. 13 Relação entre a contagem total de bactérias (35°) e o tempo de redução da resazurina (35°)

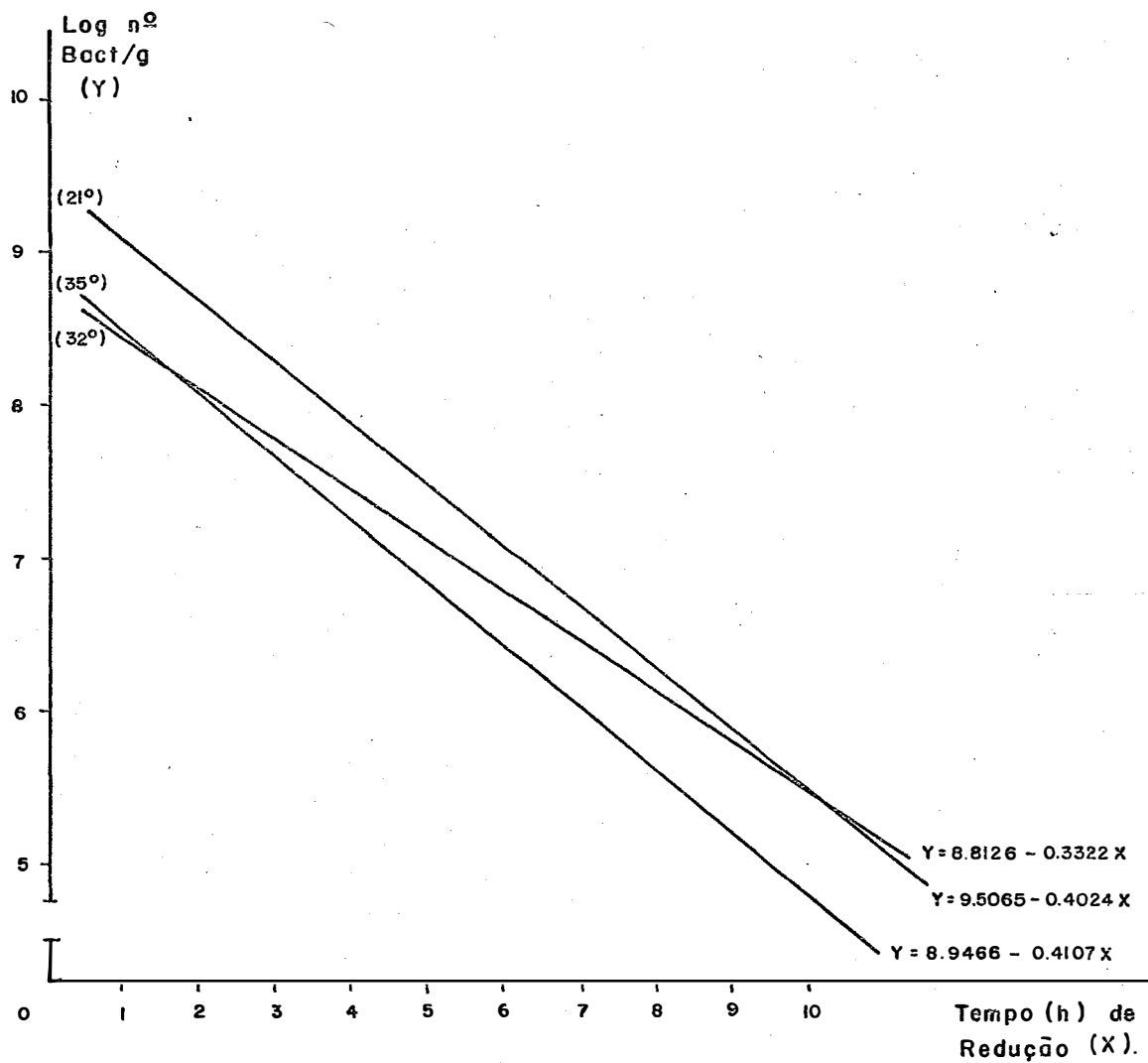


FIG.14 - Relação entre a contagem total de bactérias (21,32 e 35°C) e o tempo de redução da resazurina (35°C).

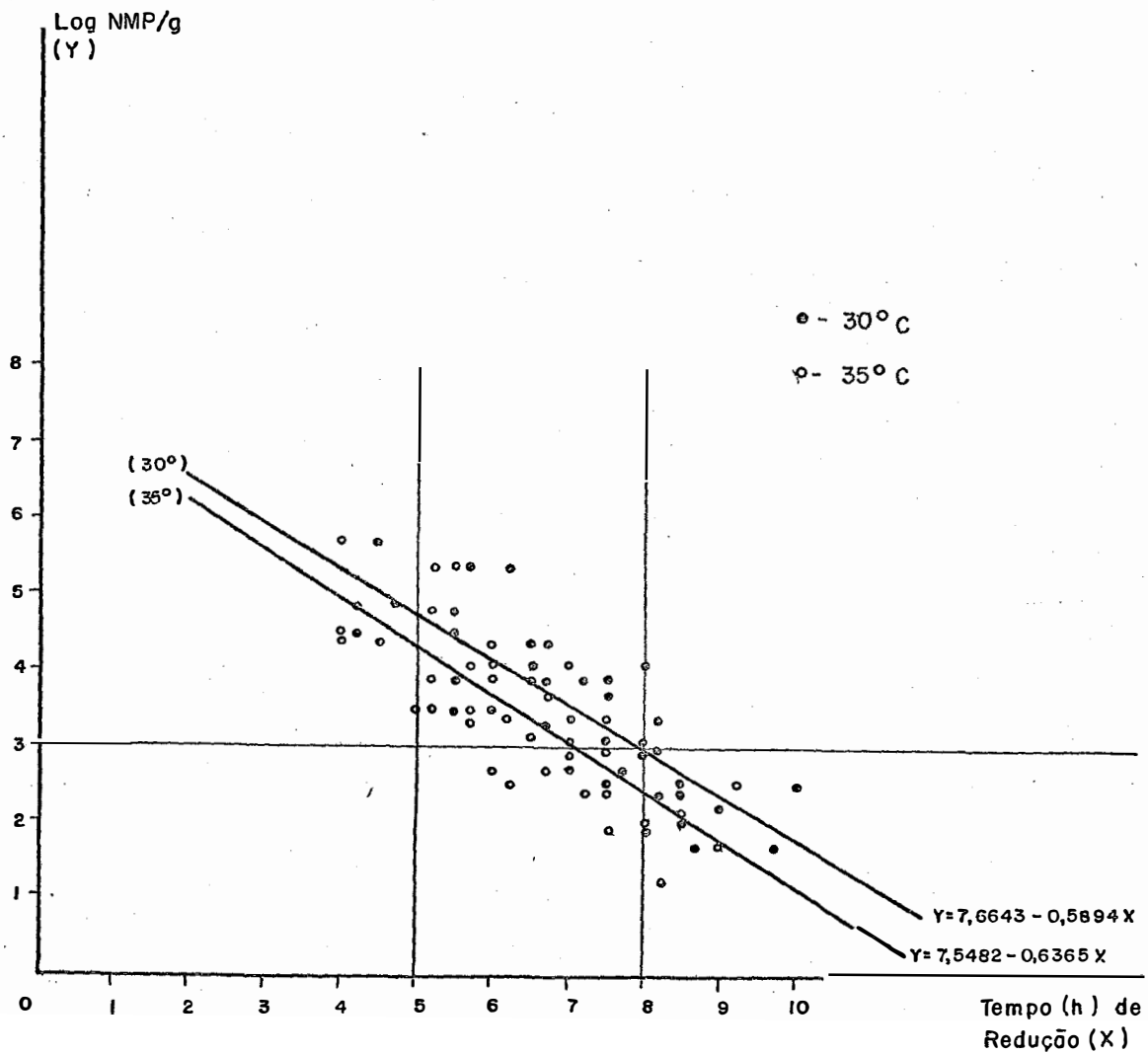


FIG. 15 - Relação entre a enumeração de coliformes totais e o tempo de redução da resazurina (30 e 35°C).

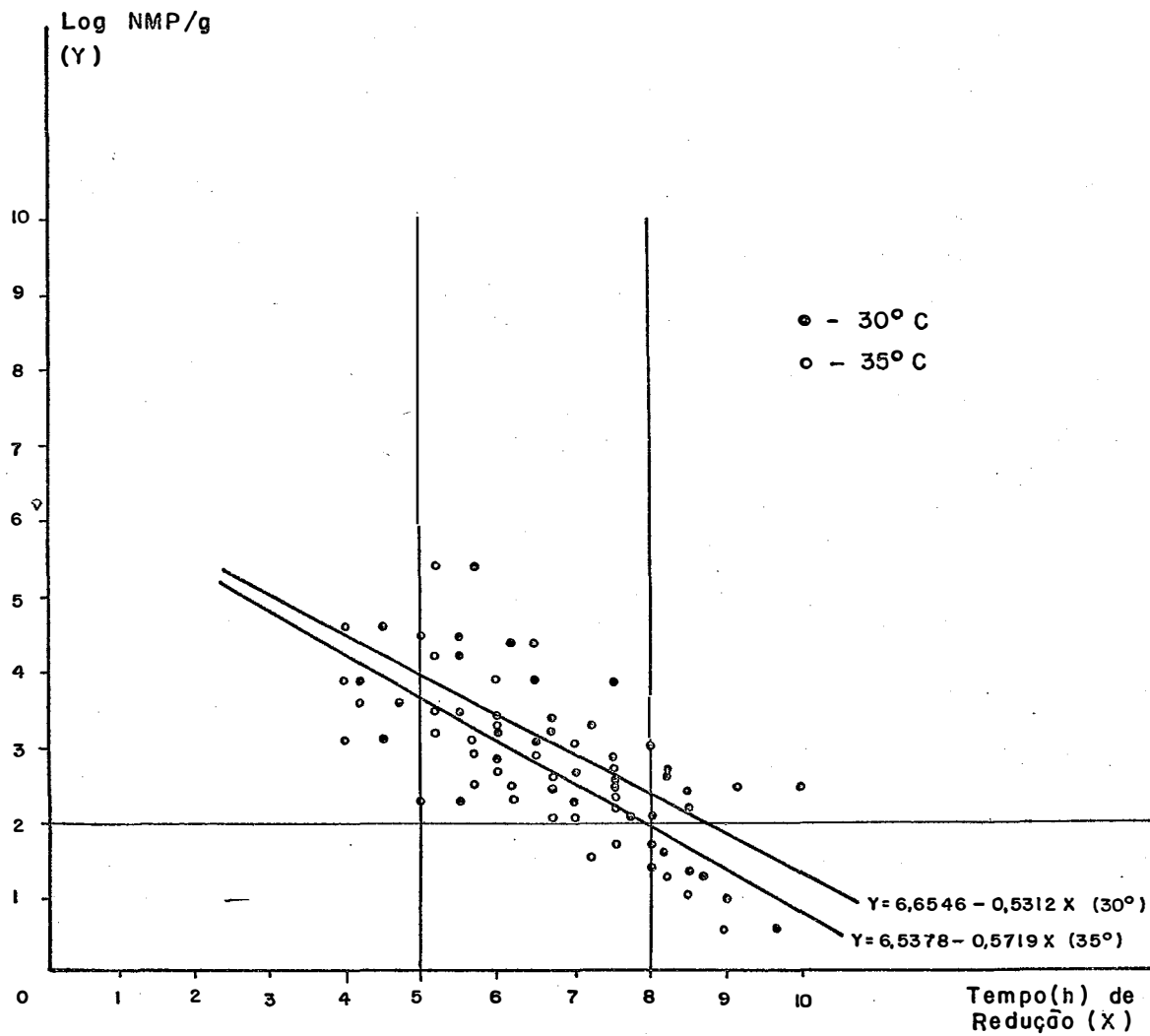


FIG. 16 - Relação entre a enumeração de E. coli e o tempo de redução da resazurina (30 e 35 °C)

5.2. pH

As Tabelas 17 e 18 mostram o pH inicial, o final e o aumento de pH (Δ pH) das amostras provenientes de supermercados e açougues nos dois semestres estudados. Os resumos das análises individuais da variância para supermercados e açougues estão nas Tabelas 19 (pH inicial), 20 (pH final) e 21 (Δ pH); e os resumos das análises conjuntas estão nas Tabelas 22, 23 e 24 para pH inicial, pH final e Δ pH respectivamente. Observou-se que:

1) O pH inicial, isto é, aquele determinado por ocasião da aquisição das amostras, variou de 5,40 a 6,10, enquanto o final, determinado quando do aparecimento do primeiro indício de deterioração, de 5,50 a 6,50. Com exceção de 3 amostras, todas apresentaram aumento de pH com o armazenamento refrigerado.

A Figura 17 mostra o pH inicial e o final das amostras para os dois tipos de estabelecimentos e os dois semestres estudados, e a Figura 18, a distribuição do pH inicial e pH final das amostras.

Foi constatada uma correlação significativa (ao nível de 1% de probabilidade) entre o pH inicial e o pH final (Figura 19).

2) As análises de variância não acusaram diferenças significativas entre os tipos de estabelecimento e os

períodos estudados.

3) O pH inicial esteve significativamente correlacionado (ao nível de 1% de probabilidade) com: o tempo de redução da resazurina a 30^oC (r = -0,53) e a 35^oC (r = -0,53); a contagem total de bactérias, após incubação das placas de Petri a 21^oC (r = 0,57), 32^oC (r = 0,44) e a 35^oC (r = 0,44). *CHAMBERS et alii* (1976) encontraram um coeficiente de correlação de 0,48 entre a contagem total a 32^oC e o pH.

Segundo *DAINTY* (1971), ocorrendo na carne deterioração aeróbia, o pH quase invariavelmente aumenta de aproximadamente 5,5 para 6,5 ou mais.

HYYTIÄY et alii (1975) recomendaram um limite máximo de pH igual a 6,4 para que a carne moída seja considerada boa para o consumo, enquanto *CHAMBERS et alii* (1976) propuseram, como valores aceitáveis, aqueles menores que 5,85.

No presente trabalho, observou-se que uma amostra com pH inicial igual a 6,10 não apresentou sintomas ou sinais de deterioração quando da sua aquisição, enquanto valores de pH finais menores que 5,85 ocorreram em amostras revelando alterações. Nenhuma amostra, ao ser adquirida, sem indícios de deterioração, apresentou valor de pH (inicial) superior a 6,10. Assim, os resultados sugerem um limite máximo igual a 6,10 para o pH do produto. Todavia, indicam também que o pH pode ser útil como um critério auxiliar, que deve ser usa

do juntamente com outros métodos para avaliar o estado de conservação da carne moída.

Tabela 17. pH inicial, pH final e aumento de pH (Δ pH) das amostras provenientes de supermercados.

Estabelecimento	2º semestre/1977			1º semestre/1978		
	pH inicial	pH final	Δ pH	pH inicial	pH final	Δ pH
A	5,40	5,70	0,30	5,75	5,90	0,15
B	5,70	5,95	0,25	5,60	5,90	0,30
C	5,75	5,90	0,15	5,70	5,55	- 0,15
D	5,65	5,75	0,10	5,85	6,00	0,15
E	6,00	6,15	0,15	5,85	5,90	0,05
F	5,80	6,10	0,30	5,80	5,90	0,10
G	5,75	5,95	0,20	5,40	5,65	0,25
H	5,95	6,10	0,15	5,80	5,95	0,15
I	6,05	6,10	0,05	5,50	5,80	0,30
J	5,70	5,80	0,10	5,70	5,90	0,20
Médias	5,77	5,95	0,17	5,69	5,84	0,15

Tabela 18. pH inicial, pH final e aumento de pH (Δ pH) das amostras provenientes de açougues.

Estabelecimentos	2º semestre/1977			1º semestre/1978		
	pH inicial	pH final	Δ pH	pH inicial	pH final	Δ pH
K	5,75	6,00	0,25	5,80	6,50	0,70
L	5,60	5,50	-0,10	5,80	5,60	-0,20
M	5,80	5,95	0,15	5,70	5,70	0,00
N	6,00	6,05	0,05	5,65	5,75	0,10
O	5,65	5,75	0,10	5,50	5,55	0,05
P	5,70	5,90	0,20	5,75	5,80	0,05
Q	5,60	5,75	0,15	5,55	5,65	0,10
R	5,85	6,10	0,25	5,70	5,85	0,15
S	5,70	5,75	0,05	5,40	5,60	0,20
T	6,10	6,15	0,05	5,90	6,05	0,15
Médias	5,77	5,89	0,11	5,67	5,80	0,13

Tabela 19. pH inicial: Resumo das análises individuais da variância para supermercados e açougues.

Causa de Variação	G.L.	Supermercados		Açougues	
		Q.M.	F	Q.M.	F
Períodos	1	0,0320	0,976	0,0500	3,52
Blocos	9	0,0270	0,823	0,0372	2,62
Resíduo	9	0,0328		0,0142	
Total	19				
C.V.		3,16%		2,08%	

Tabela 20. pH final: Resumo das análises individuais da variância para supermercados e açougues.

Causa de Variação	G.L.	Supermercados		Açougues	
		Q.M.	F	Q.M.	F
Períodos	1	0,0551	2,30	0,0361	1,31
Blocos	9	0,0218	0,908	0,0943	3,43*
Resíduo	9	0,0240		0,0275	
Total	19				
C.V.		2,63%		2,84%	

Tabela 21. Δ pH: Resumo das análises individuais da variância para supermercados e açougues.

Causa de Variação	G.L.	Supermercados		Açougues	
		Q.M.	F	Q.M.	F
Períodos	1	0,0031	0,237	0,0011	0,065
Blocos	9	0,0120	0,916	0,0471	2,77
Resíduo	9	0,0131		0,0170	
Total	19				

Tabela 22. pH inicial: Resumo da análise conjunta para supermercados e açougues.

Causa de Variação	G.L.	Q.M.	F
Estabelecimentos (E)	1	0,0010	1,00
Períodos (P)	1	0,0810	81,00
E x P	1	0,0010	0,043
Resíduo Médio	18	0,0232	

Tabela 23. pH final: Resumo da análise conjunta para supermercados e açougues.

Causa de Variação	G.L.	Q.M.	F
Estabelecimentos (E)	1	0,0250	25,00
Períodos (P)	1	0,0902	90,00
E x P	1	0,0010	0,039
Resíduo Médio	18	0,0258	

Tabela 24. Δ pH: Resumo da análise conjunta para supermercados e açougues.

Causa de Variação	G.L.	Q.M.	F
Estabelecimentos (E)	1	0,0160	3,09
Períodos (P)	1	0,0002	0,010
E x P	1	0,0202	1,35
Resíduo Médio	18	0,0150	

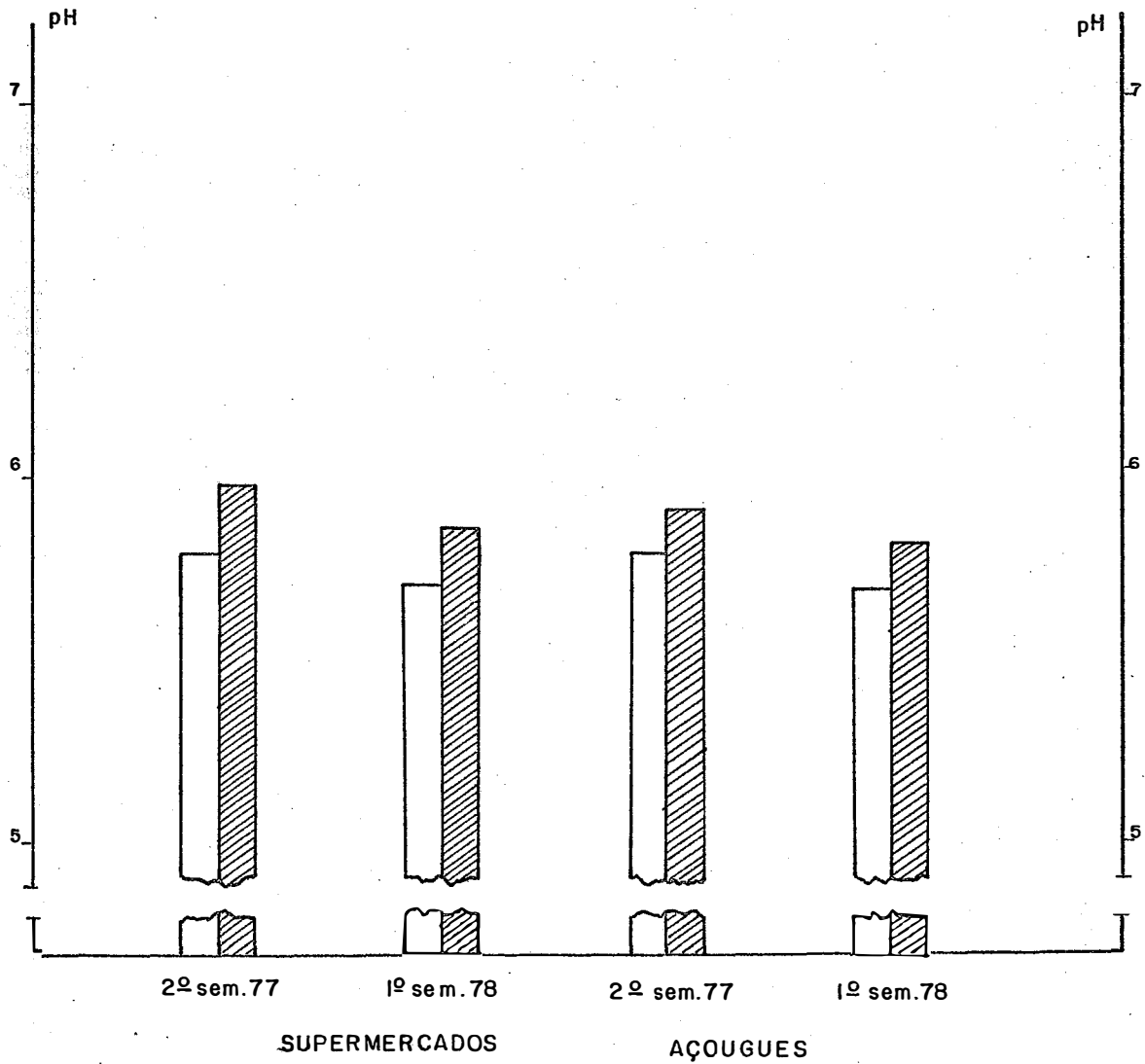
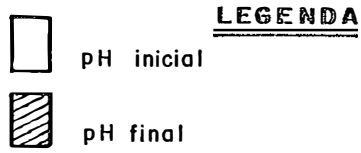


FIG. 17 — pH inicial e final das amostras para os dois tipos de estabelecimentos e os dois semestres estudados .

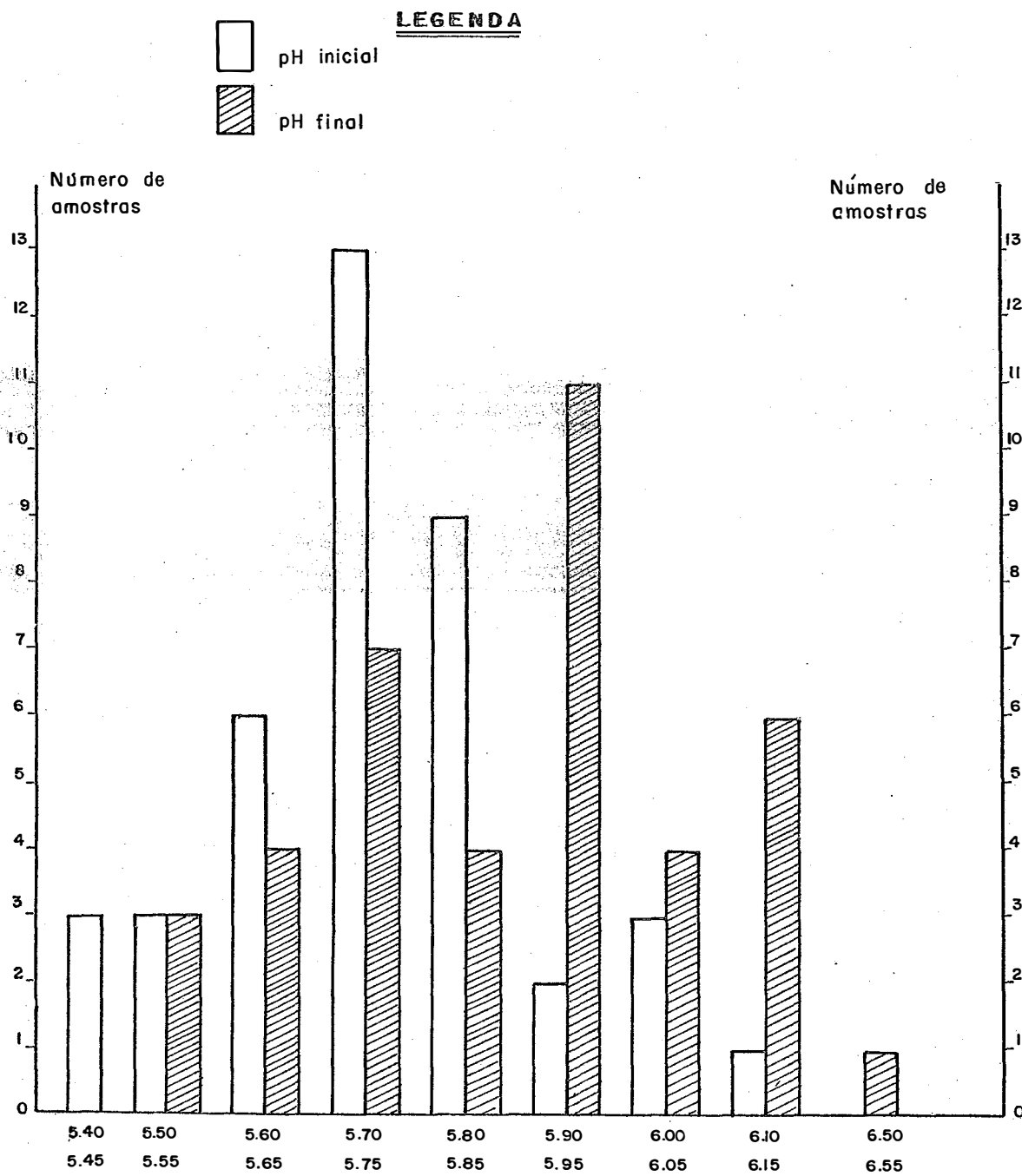


FIG. 18 - Distribuição do pH inicial e final das amostras.

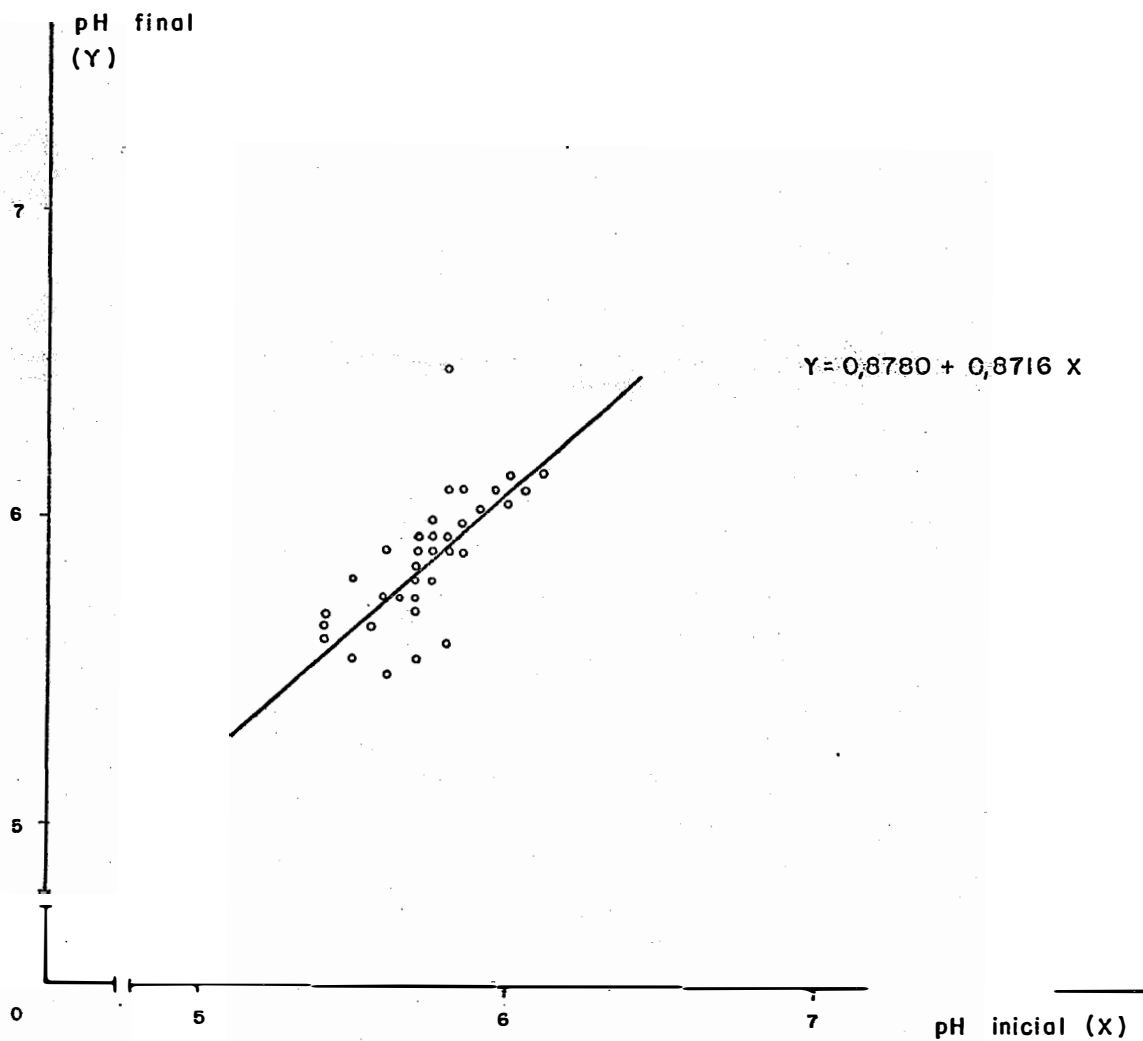


FIG. 19 - Relação entre o pH inicial e o pH final das amostras .

5.3. Teores de umidade e de gordura

As Tabelas 25 e 26 mostram os teores de umidade e gordura das amostras provenientes de supermercados e açougues para os dois períodos estudados. Os resumos das análises estatísticas para umidade estão apresentados nas Tabelas 27 (análises individuais da variância) e 28 (análise conjunta); e, para gordura, nas Tabelas 29 (análises individuais da variância) e 30 (análise conjunta). Observou-se que:

1) Houve uma correlação significativa (ao nível de 1% de probabilidade) entre o teor de umidade e o de gordura das amostras ($r = -0,88$). Essa relação está representada na Figura 20.

2) Não houve diferença significativa entre períodos, entre estabelecimentos e entre tipos de estabelecimentos quanto aos teores de umidade e gordura. Todavia, houve uma leve tendência dos supermercados terem apresentado maior teor de gordura do que os açougues, já que o valor de $F (4,29)$ esteve próximo do limite de significância a 5% ($4,41$), assim como dos açougues terem apresentado maior teor de umidade ($F = 4,18$).

Tabela 25. Teor de umidade das amostras.

Supermercados				Açougues		
Esta- bele- cimen- tos	2º Sem.1977	1º Sem.1978	Esta- bele- cimen- tos	2º Sem.1977	1º Sem.1978	
A	67,44	70,73	K	74,23	70,35	
B	74,37	72,56	L	73,57	72,41	
C	70,85	70,12	M	76,98	70,13	
D	74,98	73,96	N	69,29	73,20	
E	68,44	68,26	O	72,00	69,19	
F	70,56	64,61	P	71,52	67,36	
G	65,25	71,15	Q	71,31	71,36	
H	67,89	66,40	R	71,71	73,87	
I	73,68	73,09	S	75,42	70,47	
J	71,15	73,15	T	71,64	73,31	
Médias	70,46	70,40	Médias	72,77	71,16	

Tabela 26. Teor de gordura das amostras.

Supermercados				Açougues		
Estabelecimentos	2º Sem.1977	1º Sem.1978	Estabelecimentos	2º Sem.1977	1º Sem.1978	
A	10,75	13,25	K	4,25	7,00	
B	3,00	8,25	L	4,25	3,75	
C	8,25	12,00	M	2,25	7,50	
D	2,75	4,50	N	11,25	4,00	
E	11,25	11,00	O	5,75	7,00	
F	6,00	15,00	P	6,75	13,00	
G	14,00	5,75	Q	6,75	5,50	
H	7,50	11,50	R	7,00	4,50	
I	4,25	5,50	S	2,25	7,75	
J	7,75	5,00	T	9,25	4,75	
Médias	7,55	9,17	Médias	5,97	6,47	

Tabela 27. Umidade: Resumo das análises da variância para supermercadados e açougues.

Causa de Variação	G.L.	Supermercados		Açougues	
		Q.M.	F	Q.M.	F
Períodos (P)	1	0,0171	0,003	12,8325	2,09
Blocos	9	14,9377	2,91	3,2785	0,536
Resíduo	9	5,1362		6,1170	
Total	19				
C.V.		3,22%		3,44%	

Tabela 28. Umidade: Resumo da análise conjunta para supermerca
dos e açougues.

Causa de Variação	G.L.	Q.M.	F
Períodos (P)	1	6,8908	1,22
Tipos de Estabelecimentos (E)	1	23,5334	4,18
E x P	1	5,9581	1,06
Resíduo Médio	18	5,6266	

Tabela 29. Gordura: Resumo das análise da variância para super
mercados e açougues.

Causa de Variação	G.L.	Supermercados		Açougues	
		Q.M.	F	Q.M.	F
Períodos (P)	1	13,2031	1,19	1,2500	0,122
Blocos	9	17,3711	1,57	5,5055	0,537
Resíduo	9	11,0434		10,2430	
Total	19				
C.V.		39,74%		51,41%	

Tabela 30. Gordura: Resumo da análise conjunta para supermerca
dos e açougues.

Causa de Variação	G.L.	Q.M.	F
Períodos (P)	1	11,2890	1,06
Tipos de Estabelecimentos (E)	1	45,6890	4,29
E x P	1	3,1640	0,297
Resíduo Médio	18	10,6432	

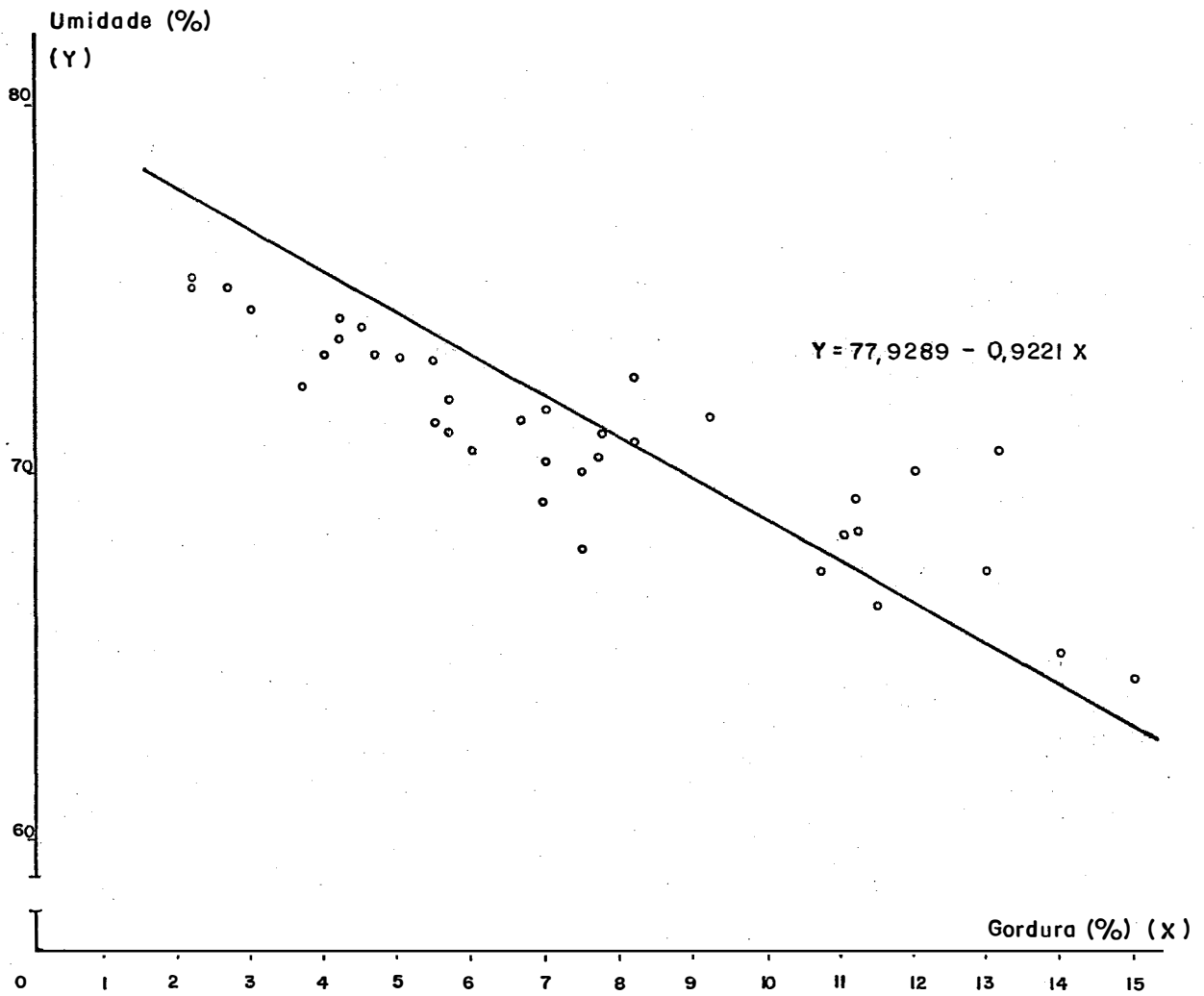


FIG. 20 - Relação entre o teor de umidade e o de gordura das amostras

5.4. Período de conservação do produto.

As alterações na cor geralmente consistiram no aparecimento de uma coloração castanha na superfície da carne, e, algumas vezes, de uma coloração esverdeada. Quanto às alterações do odor, foi observado o aparecimento de odor ácido em algumas amostras e, em outras, um odor pútrido.

O tempo de conservação do produto sob refrigeração (dias) até o aparecimento da 1ª alteração na cor e/ou odor, para as amostras de açougues e supermercados, está apresentado na Tabela 31. Os resumos das análises estatísticas estão nas Tabelas 32 e 33, respectivamente, para as análises individuais da variância e a análise conjunta.

O tempo de conservação do produto esteve correlacionado significativamente, ao nível de 1% de probabilidade, com: o tempo de redução da resazurina a 30°C ($r = 0,49$) e a 35°C ($r = 0,45$); e a contagem total de bactérias a 35°C ($r = -0,37$). Verificou-se, portanto, que o teste estudado de avaliação da qualidade microbiológica com base na redução da resazurina, reflete não apenas o número de microrganismos presentes no produto, como também a "vida de prateleira".

Segundo *AL-DELAIMY e STILES (1975)*, a deterioração é organolepticamente detectável quando a contagem atinge 10^8 organismos/g; e com contagens iniciais de 10^4 ou 10^5 bactérias/g, o período de conservação do produto pode atingir de 3

a 4 dias a 5^oC.

Tabela 31. Período de conservação do produto sob refrigeração (3 a 6^oC): Dias até o aparecimento da 1a. alteração: na cor (c) ou no odor (o).

Esta- bele- cimen- tos	Supermercados		Esta- bele- cimen- tos	Açougues	
	2º Sem.1977	1º Sem.1978		2º Sem.1977	1º Sem.1978
A	3 (c)	1 (c/o)	K	3 (c)	3 (c/o)
B	3 (c)	3 (c/o)	L	2 (c/o)	2 (c/o)
C	2 (c/o)	1 (c/o)	M	2 (c/o)	2 (o)
D	2 (c/o)	2 (o)	N	1 (c)	2 (c)
E	1 (c)	2 (c/o)	O	2 (c/o)	1 (c/o)
F	3 (c/o)	2 (c)	P	2 (c/o)	2 (o)
G	2 (c/o)	2 (c/o)	Q	2 (c)	2 (c/o)
H	1 (c)	1 (c/o)	R	2 (c/o)	1 (o)
I	2 (c/o)	2 (c/o)	S	2 (c)	2 (c)
J	2 (c)	2 (c/o)	T	1 (c/o)	2 (c/o)

Tabela 32. Período de conservação do produto sob refrigeração (3 a 6°C): Resumo das análises individuais da variância para supermercados e açougues.

Causa de Variação	G.L.	Supermercados		Açougues	
		Q.M.	F	Q.M.	F
Períodos (P)	1	0,4500	1,33	0,0000	0,00
Blocos	9	0,6056	1,79	0,4222	1,90
Resíduo	9	0,3389		0,2222	
Total	19				
C.V.		29,85%		24,81%	

Tabela 33. Período de conservação do produto sob refrigeração
(3 a 6^oC): Resumo da análise conjunta para supermer-
cados e açougues.

Causas de Variação	G.L.	Q.M.	F
Estabelecimentos (E)	1	0,0250	0,111
Períodos (P)	1	0,2250	1,00
E x P	1	0,2250	0,802
Resíduo Médio	18	0,2806	

6. CONCLUSÕES

Os resultados do presente trabalho permitiram chegar às seguintes conclusões:

1. As contagens totais nas diferentes temperaturas foram, em geral, elevadas, sendo que mais de 40% das amostras analisadas ultrapassaram o limite máximo encontrado na legislação vigente no País, para a carne moída comercial.

2. A ocorrência de coliformes (totais e *E. coli*) foi geral, mais de 65% das amostras apresentando números desses microrganismos que excederam, em vários casos de muito, os padrões propostos ou adotados para o produto.

3. O número mais provável de coliformes totais e o de *E. coli* estiveram positivamente correlacionados.

4. O número mais provável de coliformes (totais e *E. coli*) e a contagem total de bactérias (a 21, 32 e 35°C) es

tiveram positivamente correlacionados.

5. O tempo de redução da resazurina (a 30 e 35^o C) e a contagem total de bactérias (a 21, 32 e 35^oC) estiveram negativamente correlacionados.

6. O tempo de redução de resazurina (a 30 e 35^oC) e enumeração de coliformes (totais e *E. coli*) estiveram negativamente correlacionados.

7. O tempo de redução da resazurina (a 30 e 35^o C) e o período de conservação do produto refrigerado (de 3 a 6^oC) estiveram positivamente correlacionados.

8. O aumento de temperatura de incubação no teste de redução da resazurina de 30 para 35^oC ocasionou uma diminuição do tempo necessário à redução do mesmo; porém, melhor correlação foi obtida entre o tempo de redução a 30^oC e a contagem total de bactérias (a 21, 32 e 35^oC).

9. Com base nas correlações negativas entre o tempo de redução da resazurina de um lado, a contagem total de bactérias, e a enumeração de coliformes (totais e *E. coli*), de outro, e ainda considerando-se os padrões microbiológicos propostos para o produto, pode ser sugerida a seguinte classificação: para a condição deste: aceitável (tempo de redução maior que 8,0 h), questionável (tempo maior que 5,0 h e menor ou igual a 8,0 h), inaceitável (tempo menor ou igual a 5,0 h).

10. O período máximo de conservação das amostras sob refrigeração foi de 3 dias, sendo que a maioria das amostras apresentou-se com indícios de alteração após dois dias.

11. O limite máximo de 6,10 pode ser sugerido para o pH do produto; todavia, este critério deve ser utilizado juntamente com outros métodos de avaliação do seu estado de conservação.

12. Bactérias do gênero *Salmonella* provavelmente ocorreram em 25% das amostras analisadas quanto à presença desses microrganismos, no 2º período de amostragem (1º semestre/1978).

13. O teor de umidade e o de gordura das amostras estiveram negativamente correlacionados.

7. SUMMARY

This study was designed to determine the microbiological quality of raw ground beef at the retail level in Piracicaba, SP, and its evaluation through resazurin reduction. Samples from supermarkets and meat stores were analysed for: 1) total bacterial counts (at 21, 32 and 35^oC); 2) resazurin reduction test (at 30 and 35^oC); 3) coliform (total and *E. coli*) enumeration; 4) tests for bacteria of the *Salmonella* genus; 5) subjective evaluation of product quality; 6) pH, moisture and fat determinations. Among other conclusions it was found that: 1) Total bacterial counts were generally high, for a large number of samples exceeding the maximum level according to Brazilian legislation. 2) The same occurred with coliform (total and *E. coli*) enumeration. 3) Resazurin reduction time (at 30 and 35^oC) was negatively correlated with the total bacterial counts (at 21, 32 and 35^oC), with the coliform (total and *E. coli*) enumeration, and positively

correlated with shelf life of the product under refrigeration (3 to 6°C). 4) The resazurin reduction test studied can be suggested for the routine examination of the product microbiological quality. 5) The shelf life of ground beef did not exceed 3 days. 6) The maximum limit of 6.10 can be suggested for the product pH. 7) Bacteria of the *Salmonella* genus probably occurred in 25% of the samples analysed for presence of these microorganisms.

8. LITERATURA CITADA

AL-DELAIMY, K.S. e M.E. STILES, 1975. Microbial quality and shelf-life of raw ground beef. *Canadian Journal of Public Health* 66 (4): 317-321.

AUBERT, S. d', G. PERSIANI e C. CANTONI, 1974. Chemical and bacteriological characteristics of ground meat. *Archivio Veterinario Italiano* 25 (314):131-135. (*Food Science and Technology Abstracts* 7(3): 5 339, 1975).

AYRES, J.C., 1955. Microbiological implications in the handling, slaughtering, and dressing of meat animals. *Advances in Food Research* 6:110-161.

AYRES, J.C., 1960. Temperature relationships and some other characteristics of the microbial flora developing on refrigerated beef. *Food Research* 25:1-18.

- BALDWIN, R.L., C.E. BUCK e D.B. PRATT, 1973. The growth and survival of coliforms and related microorganisms in ground beef. *Abstracts of the Annual Meeting of the American Society for Microbiology* 73:11.
- BANWART, G.J., 1975. *Laboratory Exercises for Food Microbiology*. Columbus, The Ohio State University, p.95 - 102, 105.
- BAUMGART, J., A. PÖRTNER e G. LASSAK, 1975. A quick method of determining the total aerobic count (viable organisms) on fresh meat by means of photometrically measurable extinction changes during the resazurin test. *Fleischwirtschaft* 55(7): 969-973.
- BUCK, C.E. e D. PRATT, 1970/71. Bacteriological quality of ground beef from retail outlets. *Research in Life Sciences* 18 (3/4): 28-29 (*Microbiology Abstracts* 7 (3): A 2306, 1972).
- CHAMBERS, J., D.O. BRECBILL e D.S. HILL, 1976. A microbiological survey of raw ground beef in Ohio. *Journal of Milk and Food Technology* 39 (8): 530-535.
- CHORDASH, R.A. e N.F. INSALATA, 1978. Incidence and pathological significance of *Escherichia coli* and other sanitary indicator organisms in food and water. *Food Technology* 32(10):54-58.
- COMISSÃO NACIONAL DE NORMAS E PADRÕES PARA ALIMENTOS, 1978. Resolução aprovada pela CNNPA. Resolução nº 13/78. *Diário Oficial da União*, 25 de julho, p. 11.616 - 11.617.

- CORLETT, D.A., 1976. Evaluating the need for microbial standards for refrigerated and frozen foods. *Food Product Development* 10 (7): 95-98, 100.
- DAINTY, R.H., 1971. The control and evaluation of spoilage. *Journal of Food Technology* 6: 209-224.
- DEBEVERE, J.M. e J.P. VOLTS, 1974. Comparative study of the pour plate and most probable number (MNP) methods for enumeration of coliforms, *Enterobacteriaceae* and faecal coli in raw ground meat. *Mededelingen van Faculteit. Landbeurvetenschappen. Rijkeuniversiteit Gent* 39 (3):1498-1504 (*Food Science and Technology Abstracts* 7 (7): 5 968, 1975).
- DODSWORTH, P.J. e A.G. KEMPTON, 1977. Rapid measurement of meat quality by resazurin reduction. II - Industrial application. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal* 10 (3): 158-160 (*Food Science and Technology Abstracts* 9: S 2077, 1977).
- DUITSCHAEVER, C.L., D.R. ARNOTT e D.H. BULLOCK, 1973. Bacteriological quality of raw refrigerated ground beef. *Journal of Milk Food Technology* 36 (7):375-377.
- EDWARDS, P.R. e W.H. EWING, 1972. *Identification of Enterobacteriaceae*. 3a. ed. Minneapolis, Burgess Publishing Company, p. 26.

- ELLIOT, R.P. e H.D. MICHENER, 1961. Microbiological standards and handling codes for chilled and frozen foods. A review - *Applied Microbiology* 9:452-468.
- EMSWILLER, B.S., A.W. KOTULA, C.M. CHESNUT e E.P. YOUNG, 1976a. Dye reduction method for estimating bacterial counts in ground beef. *Applied Environmental Microbiology* 31 (4): 618-620.
- EMSWILLER, B.S., C. PIERSON e A.W. KOTULA, 1976b. Bacteriological quality and shelf life of ground beef. *Applied and Environmental Microbiology* 31 (6): 826-830.
- FAGERBERG, D.J. e J.S. AVENS, 1976. Enrichment and plating methodology for *Salmonella* detection in food. A review. *Journal of Milk and Food Technology* 39 (9): 628-646.
- FIELD, R.A., F.C. SMITH, D.D. DEANE, G.M. THOMAS e A.W. KOTULA, 1977. Sources of variation at the retail level in bacteriological condition of ground beef. *Journal of Food Protection* 40 (6): 385-388.
- FOSTER, E.M., 1966. Microbiological standards for foods. *Proceedings of the Meat Industry Research Conference*. Chicago, Ill., American Meat Institute Foundation, p. 87-95.
- FOSTER, J.F., J.L. FOWLER e W.C. LADIGES, 1977. A bacteriological survey of raw ground beef. *Journal of Food Protection* 40 (11): 790-794.

- FOSTER, J.F., R.C. HUNDERFUND, J.L. FOWLER, J.T. FRUIN e L.S. GUTHERTZ, 1978a. Bacterial populations of ground beef, textured soy protein and ground beef extended with soy protein after 3 and 10 days of refrigerated storage. *Journal of Food Protection* 41 (8): 647-653.
- FOSTER, J.F., L.S. GUTHERTZ, R.C. HUNDERFUND e J.L. FOWLER, 1978b. Comparison of bacterial species isolated from ground beef, textured soy protein and ground beef extended with textured soy protein. *Journal of Food Protection* 41 (12): 961-964.
- FRAZIER, W.C., 1967. *Food Microbiology* - New York, Mc Graw-Hill, p. 252-282.
- GANGAROSA, E.J. e J.M. HUGHES, 1977. A public health perspective of microbial standards for meats. *Association of Food and Drug Officials of the United States. Quarterly Bulletin* 41(1): 23-28 (*Microbiology Abstracts* 12 (9): A 7013, 1977).
- GOEPFERT, J.M. e H.V. KIM, 1975. Behavior of selected food borne pathogens in raw ground beef. *Journal of Milk and Food Technology* 38 (8): 449-452.
- GOEPFERT, J.M., 1976. The aerobic plate count, coliform and *Escherichia coli* content of raw ground beef at the retail level. *Journal of Milk and Food Technology* 39 (3):175-178.

- GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO, 1978. Decreto nº 12.486 - Normas Técnicas Especiais Relativas a Alimentos e Bebidas. *Diário Oficial, Estado de São Paulo*, 21 de outubro, p. 3-4.
- GRANER, M., A. MARTINELLI FILHO e V.F. da CRUZ, 1971. Microbiologia da carne moída: 1. Contagem total de bactérias. *Anais da E.S.A. "Luiz de Queiroz"* 28:217-226.
- GRANER, M., A. MARTINELLI FILHO e V.F. da CRUZ, 1973. Microbiologia da carne moída: 2. Avaliação da qualidade por método modificado, baseado na redução da resazurina. *Anais da E.S.A. "Luiz de Queiroz"* 30:203-211.
- GREEN, S.I., 1976. Microbiological aspects of quality control. *Food Manufacture* 51 (7): 55; 71.
- HOLLEY, R.A., S.M. SMITH e A.G. KEMPTON, 1977. Rapid measurement of meat quality by resazurin reduction. I. Factors affecting test validity. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal* 10 (3): 153-157.
- HORWITZ, W. Ed., 1970. *Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical Chemists*. Washington, D.C., AOAC, p.392.
- HYTTIÄY, M., M.S. POHJA e A. NISKANEN, 1975. Bacteriological methods of examination and quality assessment of meat. *Fleischwirtschaft* 55 (4): 549-552.

- INSALATA, N.F., 1973. Enteropathogenic *E. coli*. A new problem for the food industry. *Food Technology* 27 (5): 56-58.
- JAYE, M., SKITTAKA e Z.J. ORDAL, 1962. The effect of temperature and packaging material on the storage life and bacterial flora of ground beef. *Food Technology* 16:95-98.
- KAFEL, S. e F.L. BRYAN, 1977. Effects of enrichment media and incubation conditions on isolating *Salmonellae* from ground meat filtrate. *Applied and Environmental Microbiology* 34 (3): 285-291.
- KIRCH, R.H., F.E. BERRY, C.L. BALDWIN e E.M. FOSTER, 1952. The bacteriology of refrigerated ground beef. *Food Research* 17: 495-503.
- LABADIE, J., J. FOURNAUD e B.L. DUMONT, 1975. Relationship between the pH and the microflora of beef and veal ground meat. *Annales de Technologie Agricole*, 24 (2): 193-203.
- LADIGES, W.C., J.F. FOSTER e W.M. GANZ, 1974. Incidence and viability of *Clostridium perfringens* in ground beef. *Journal of Milk and Food Technology* 37 (12): 662-623.
- LADIGES, W.C., J.F. FOSTER, 1974. Incidence of *Salmonella* in beef and chicken. *Journal of Milk and Food Technology* 37 (4): 213-214.

- LARKIN, E.P., J.T. TIERNEY, A.L. REYSES, R.M.E. NOVELLI, R.SUL
LIVAN e R.B. READ, Jr., 1972. Microbiological content of
ground beef: A survey of a large metropolitan area.
*Abstracts of The Annual Meeting of the American Society for
Microbiology* 72:19.
- LAWRIE, R.A., 1974. *Meat Science*. Oxford, Pergamon, p. 83-87.
- LECHOWICH, R.V., 1971. Microbiology of meat. In: PRICE, J.F.
e B.S. SCHWEIGERT. *The Science of Meat and Meat Products*.
São Francisco, W.H. Freeman, p. 230-275.
- LEININGER, H.V., 1976. What do bacteria in food really mean?
Association of Food and Drug Officials of the United States.
Quartely Bulletin 40(3): 159-165 (*Microbiology Abstracts* 12
(6): A 4185, 1977).
- MARTINELLI FILHO, A., M. GRANER e V.P. da CRUZ, 1975. Micro -
biologia da carne moída: 3. Avaliação da qualidade em dife-
rentes épocas do ano. *Anais da E.S.A. "Luiz de Queiroz"*
(Em publicação).
- Mc CLORY, M.J., 1977. Microbiology of fresh meat, a retail
perspective. *Association of Food and Drug Officials of the
United States. Quartely Bulletin* 41 (1): 3-7) (*Microbiolo-
gy Abstracts* 12: A 8502, 1977).

- PIVNICK, H., I.E. ERDMAN, D. COLLINS-THOMPSON, G. ROBERTS, M. A. JOHNDYON, D.R. CONLEY, G. LAPACHELLE, V.T. PURVIS, R. FOSTER e M. MILLING, 1976. Proposed microbiological standards for ground beef based on a Canadian survey. *Journal of Milk and Food Technology* 39 (6): 408-412.
- PIVNICK, H., 1978. Canadian microbiological standards for foods. *Food Technology* 32 (1): 58-60, 62.
- RAO, B.R., 1970. Bacteriological quality of comminuted meats. *Indian Veterinary Journal* 47 (8): 637-642.
- ROGERS, R.E. e C.S. Mc CLESKEY, 1957. Bacteriological quality of ground beef in retail markets. *Food Technology*. 11:318. 320.
- SAFFLE, R.L., K.N. MAY, H.A. HAMID e S.D. IRBY, 1961. Comparing three rapid methods of detecting spoilage in meat. *Food Technology* 15 (11): 465-467.
- SHARF, J.M., Ed., 1972. *Métodos Recomendados para o Exame Microbiológico de Alimentos*. São Paulo, Polígono (Trad. do Engenheiro Miguel Falcone), p. 145-155, 173-182.
- SHEWAN, J.M., 1976. Microbial standards for foods. *Food Technology Australian* 28 (12): 493-497. (*Microbiology Abstracts* 12 (11): A 8461, 1977).

SMITH, F.C., J.C. ADAMS e R.A. FIELD, 1975. Predominant psychrotrophic bacteria on fresh and aged ground beef and antelope. *Journal of Milk and Food Technology* 38 (9): 516-517.

SUMNER, J.L., 1978. Microbiological evaluation of retail ground beef in Izmir, Turkey. *Journal of Food Protection* 41 (2): 104-106.

SWAMINATHAN, B., M.A.B. LINK e J.C. AYRES, 1978. Incidence of *Salmonellae* in raw meat and poultry samples in retail stores. *Journal of Food Protection* 41 (7): 518-520.

WESTHOFF, D. e F. FELDSTEIN, 1976. Bacteriological analysis of ground beef. *Journal of Milk and Food Technology* 39 (6): 401-404.

WISNLOW, R.L., 1976. Improving shelf life of meat at the retail level. *Proceedings of the Meat Industry Research Conference*. Arlington, Va., American Meat Institute Foundation, p. 99-105.

APENDICE

Tabela 34. Reações bioquímicas observadas na identificação do gênero *Salmonella* em amostras provenientes de supermercados e açougues no 1º semestre de 1978.

Amostra	meio seletivo	Tubo TSI	H ₂ S	U	LD	I	PRL	PRS	VP	MR	SC	
A	BSA	1	+	+	+	+	+	+	-	+	+	
		2	-	-	-	-	+	-	-	+	+	
	SSA	1	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+
		2	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+
	BGA	1	+	+	+	+	+	+	-	+	+	
		2	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+
B	BSA	1	-	-	+	-	+	+	+	-	+	
		2	-	-	+	-	-	-	+	-	-	
	SSA	1	-	-	+	-	-	-	+	-	-	
		2	-	-	+	-	-	-	+	-	-	
	BGA	1	-	-	+	-	+	-	+	-	+	
		2	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+
C	BSA	1	-	+	+	+	+	+	+	-	+	
		2	-	-	-	+	+	-	-	+	+	
	SSA	1	-	-	-	+	+	-	-	+	+	
		2	-	-	-	+	+	-	-	+	+	
	BGA	1	-	+	+	+	+	+	+	-	+	
		2	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+

- continua -

BSA = Ágar-sulfito de bismuto
 SSA = Ágar-*Salmonella-Shigella*
 BGA = Ágar-verde-brilhante
 TSI = Ágar-açúcar-tríplo-ferro
 H₂S = Produção de H₂S em tubos de ágar-TSI
 U = Prova da urease
 LD = Prova da descarboxilase de lisina
 I = Prova do indol
 PRL = Prova do vermelho-de-fenol-lactose
 PRS = Prova do vermelho-de-fenol-sacarose
 VP = Prova de Voges-Proskauer
 MR = Prova do vermelho-de-metila
 SC = Prova do citrato de Simmon

Tabela 34. (continuação)

Amostra	meio seletivo	Tubo TSI	H ₂ S	U	LD	I	PRL	PRS	VP	MR	SC
D	BSA	1	-	-	+	+	+	+	-	+	+
		2	-	+	+	+	+	+	+	-	-
	BGA	1	-	-	+	-	+	+	+	-	+
		2	-	-	+	+	+	+	+	+	-
E	BSA	1	-	-	+	+	-	+	+	-	+
		2	-	+	-	+	-	+	-	+	-
	BGA	1	-	-	-	-	+	-	+	-	+
		2	-	-	-	-	+	+	+	+	-
F	BSA	1	-	-	+	-	+	+	+	-	-
		2	-	-	+	-	+	+	+	-	-
	SSA	1	-	-	+	-	+	-	-	+	+
		2	-	-	+	-	+	-	-	+	+
	BGA	1	-	-	+	-	+	+	+	-	+
		2	-	-	+	-	-	-	+	-	+
G	BSA	1	-	-	-	-	+	+	-	+	+
		2	-	-	-	-	+	+	-	+	+
	SSA	1	-	-	+	+	+	+	+	-	-
		2	-	-	+	-	-	+	-	+	-
	BGA	1	-	-	-	-	+	+	-	+	+
		2	-	-	-	-	+	+	-	+	+
H	BSA	1	-	-	+	+	+	+	+	-	+
		2	-	-	-	-	+	-	-	+	+
	SSA	1	-	-	+	-	+	+	+	-	-
		2	-	+	+	+	+	+	+	-	+
	BGA	1	-	-	+	-	+	+	+	-	+
		2	-	-	+	-	+	+	+	+	-

- continua -

Tabela 34. (continuação)

Amostra	meio seletivo	Tubo TSI	H ₂ S	U	LD	I	PRL	PRS	VP	MR	SC
I	BSA	1	-	-	-	-	+	+	+	-	+
		2	-	-	+	-	-	-	-	+	-
	SSA	1	-	-	-	-	+	-	-	+	+
		2	-	-	+	-	-	-	-	+	-
	BGA	1	-	-	+	-	+	+	+	-	+
		2	-	-	-	-	+	-	-	+	+
J	BSA	1	-	-	-	-	+	+	-	+	+
		2	-	+	+	+	+	+	+	-	+
	SSA	1	-	-	+	-	-	+	-	+	-
		2	-	-	+	-	+	+	-	+	-
	BGA	1	+	+	-	-	-	-	-	+	+
		2	-	+	+	+	+	+	+	-	+
K	BSA	1	-	-	+	-	+	+	+	-	+
		2	-	-	+	-	-	+	+	-	+
	SSA	1	-	-	+	-	-	-	+	-	-
		2	-	-	+	+	+	+	-	+	-
	BGA	1	-	-	+	-	+	+	+	-	+
		2	-	-	+	-	+	+	+	-	+
L	BSA	1	+	+	+	+	+	+	+	-	+
		2	-	-	+	+	+	+	+	-	+
	SSA	1	-	-	+	-	-	+	-	+	-
		2	-	-	+	+	-	+	-	+	+
	BGA	1	-	-	+	+	+	+	+	-	+
		2	+	-	+	+	+	+	-	+	+
M	BSA	1	-	-	+	+	+	+	+	-	+
		2	-	+	+	-	+	+	+	-	-
	SSA	1	-	-	+	+	+	+	+	-	+
		2	-	-	+	+	-	+	-	+	+
	BGA	1	-	-	-	+	+	+	-	+	+
		2	+	+	+	+	+	+	+	-	+

- continua -

Tabela 34. (continuação)

Amostra	meio seletivo	Tubo TSI	H ₂ S	U	LD	I	PRL	PRS	VP	MR	SC	
N	BSA	1	-	-	-	+	-	+	+	-	+	
		2	-	-	-	+	-	+	+	-	+	
	SSA	1	-	-	+	+	-	+	+	-	+	
		2	-	-	+	+	-	-	-	+	+	
	BGA	1	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-
		2	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+
O	BSA	1	+	+	+	+	-	+	+	-	+	
		2	-	-	+	+	-	-	+	+	-	
	SSA	1	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+
		2	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-
	BGA	1	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
		2	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
P	BSA	1	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+
		2	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+
	SSA	1	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+
		2	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+
	BGA	1	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+
Q	BSA	1	-	-	-	-	+	+	-	+	+	
		2	-	-	-	-	+	-	-	+	+	
	SSA	1	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-
		2	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	BGA	1	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+
		2	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+
R	SSA	1	-	-	+	+	+	-	+	-	+	
		2	-	-	+	-	-	-	+	-	-	
	BGA	1	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+
		2	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+
S	BSA	1	-	-	+	+	+	+	-	-	+	
		2	-	-	-	-	+	-	-	+	+	
	SSA	1	-	-	+	+	-	-	-	+	+	
		2	-	-	-	-	+	-	-	+	+	
	BGA	1	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+
		2	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+
T	BSA	1	-	-	-	-	+	+	-	+	-	
		2	-	-	+	-	-	+	+	+	-	
	SSA	1	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+
		2	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+
	BGA	1	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+
		2	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+