

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel

Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial

Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos



Dissertação

**Qualidade microbiológica do processamento de cortes de carne bubalina
resfriados acondicionados a vácuo**

Flávia Liége Schütz Voloski

Pelotas, 2014.

Flávia Liége Schütz Voloski

**Qualidade microbiológica do processamento de cortes de carne bubalina
resfriados embalados a vácuo**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito final à obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Eduarda Hallal Duval
Co-orientador: Prof. Dr. Wladimir Padilha da Silva

Pelotas, 2014.

Banca examinadora:

Prof^a. Dr^a. Eduarda Hallal Duval – UFPel (orientadora)

Prof. Dr. Wladimir Padilha da Silva – UFPel (co-orientador)

Prof. Dr. Eliézer Ávila Gandra – UFPel

Prof. Dr. Fernando Zocche – UNIPAMPA

*Dedico este trabalho aos meus pais,
Elizabeth e Valcír, ao meu irmão,
Fernando, e aos meus avós, Jacob e
Áurea, com amor e carinho.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela proteção e iluminação em todos os dias da minha vida.

À Universidade Federal de Pelotas, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, que permitiu a realização deste trabalho, e à Capes, pela concessão da bolsa de estudo.

À minha família, em especial à minha mãe e à minha avó, pelo incentivo e apoio nas horas mais difíceis.

À minha orientadora e amiga, Eduarda Hallal Duval, pela oportunidade e confiança, e por todos os ensinamentos (pessoais e profissionais) que foram fundamentais para o meu crescimento durante o período de orientação.

Aos professores Wladimir Padilha da Silva e Ângela Maria Fiorentini, por sempre estarem dispostos a esclarecerem minhas dúvidas.

Aos professores do curso de Química de Alimentos, Eliézer Gandra, Mirian Machado, Rosane Rodrigues e Josiane Chim, por todos os ensinamentos durante a graduação, e por terem me inserido no mundo da pesquisa.

Às minhas estagiárias, Caroline, Giulia, Laís e Tassiana, pela amizade e dedicação com que me auxiliaram durante os experimentos.

Aos amigos e professores do Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal, por terem me acolhido e auxiliado muitas vezes.

Aos amigos do Laboratório de Microbiologia de Alimentos, em especial, ao Guilherme, Mariana e Fábio, que sempre estiveram ao meu lado e proporcionaram inúmeras risadas e lembranças.

Aos amigos de Pelotas e de Cruz Alta, com quem compartilhei todas as minhas dúvidas, inseguranças e momentos de felicidade.

E a todos aqueles que, de alguma forma ou outra, contribuíram para a realização deste trabalho, ou ao menos torceram para que ele desse certo.

Muito obrigada!

Resumo

VOLOSKI, Flávia Liége Schütz Voloski. **Qualidade microbiológica do processamento de cortes de carne bubalina resfriados embalados a vácuo**. 39f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2014.

A bubalinocultura de corte tem conquistado cada vez mais espaço na pecuária brasileira. As práticas higiênico-sanitárias adotadas dentro dos frigoríficos, durante o processo de desossa, influenciam diretamente a qualidade microbiológica do produto final. O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica do processamento de cortes de carne bubalina embalados a vácuo e mantidos sob refrigeração durante a sua vida de prateleira. Nas coletas realizadas no frigorífico-matadouro, foram amostradas superfícies dos quartos traseiros de carcaças de búfalos previamente à desossa, superfícies de processamento e mãos de manipuladores da sala de desossa, e cortes de carne embalados a vácuo, que foram mantidos sob refrigeração durante dois meses. Em todas as amostras foram realizadas pesquisas de *Listeria* spp. e enumeração de *Pseudomonas* sp. e de coliformes termotolerantes (CTT). Nos cortes cárneos embalados a vácuo, também foi realizada enumeração de Bactérias Ácido Lácticas (BAL). Foram verificadas contagens mais elevadas de *Pseudomonas* sp. nas amostras dos cortes no dia do processamento ($3,0 \log \text{UFC.g}^{-1}$) em comparação com os quartos traseiros ($2,0 \log \text{UFC.g}^{-1}$), superfícies ($2,9 \log \text{UFC.cm}^{-2}$) e mãos de manipuladores ($1,1 \log \text{UFC.mão}^{-1}$). O mesmo foi verificado para as contagens de CTT, cujas médias foram $-0,5 \log \text{UFC.cm}^{-2}$ nos quartos traseiros, $-0,4 \log \text{UFC.cm}^{-2}$ nas superfícies, $-0,06 \log \text{UFC.mão}^{-1}$ nas mãos e $0,9 \log \text{NMP.g}^{-1}$ nos cortes. Avaliando a qualidade microbiológica e o período de armazenamento dos cortes, verificou-se comportamento similar entre *Pseudomonas* sp. e BAL, apresentando contagens significativamente superiores no dia do processamento e após uma semana de armazenamento, respectivamente, mantendo-se constantes até a última semana do prazo de validade. Foi identificada *L. innocua* em uma amostra de quarto traseiro e nos cortes cárneos durante o armazenamento, onde também foi identificada *L. welshimeri*. Concluiu-se que a limpeza e desinfecção durante o processamento de cortes cárneos, bem como as práticas higiênico-sanitárias dos manipuladores, devem receber maior atenção, de modo a manter os níveis de micro-organismos deteriorantes os mais baixos possíveis e a ausência de patógenos no produto final.

Palavras-chave: sala de desossa; *Listeria* spp.; *Pseudomonas* sp.; bactérias ácido lácticas.

Abstract

VOLOSKI, Flávia Liége Schütz Voloski. **Microbiological quality of the processing cuts of buffalo meat chilled vacuum packed.** 39f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2014.

The Beef Buffalo breeding has been gaining more space in the Brazilian cattle industry. The hygienic and sanitary practices adopted within the slaughterhouse during the deboning process directly influence the microbiological quality of the final product. The objective of this study was to evaluate the microbiological quality of the processing of buffalo meat retails vacuum packed and kept refrigerated during its shelf life. Collections were made in the slaughterhouses where the hindquarters of carcasses of buffaloes prior to deboning, processing surfaces and hands of manipulators of the deboning room, and vacuum packed meat retails, which were kept under refrigeration for two months, were sampled. In all samples search for *Listeria* spp., enumeration of *Pseudomonas* sp. and thermotolerant coliforms (TTC) were performed. In vacuum packed meat retails the enumerations of lactic acid bacteria (LAB) were also performed. Were verified higher counts of *Pseudomonas* sp. in the meat retails on the day of processing ($3,0 \log \text{CFU.g}^{-1}$) compared with the hindquarters ($2,0 \log \text{CFU.g}^{-1}$), surfaces ($2,9 \log \text{CFU.cm}^{-2}$) and the hands of manipulators ($1,1 \log \text{CFU.hand}^{-1}$). The same was found for counts of TTC, for which the means were $-0,5 \log \text{CFU.cm}^{-2}$ on the hindquarters, $-0,4 \log \text{CFU.cm}^{-2}$ on surfaces, $-0,06 \log \text{CFU.hand}^{-1}$ in the hands and $0,9 \log \text{NMP.g}^{-1}$ in retails. Evaluating the microbiological quality and shelf life of the retails we observed a similar behavior of *Pseudomonas* sp. and LAB, with significantly higher counts on the processing day and after one week of storage, respectively, staying constant until the last week of the period of validity. *L. innocua* was identified in a sample of hindquarters and meat retail during storage, in which *L. welshimeri* was also identified. We concluded that the cleaning and disinfection during the processing of meat retail as well as the hygienic and sanitary practices for food handlers should receive greater attention in order to maintain levels of spoilage micro-organisms as low as possible and the absence of pathogens in final product.

Keywords: deboning room; *Listeria* spp.; *Pseudomonas* sp.; acid lactic bacteria.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Médias das contagens nos cortes de carne bubalina durante o prazo de validade.....	24-25
----------	--	-------

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Médias das contagens de <i>Pseudomonas</i> sp. nas amostras analisadas.....	21
Tabela 2	Espécies de <i>Listeria</i> encontradas nos cortes cárneos durante o período de armazenamento (60 dias).....	27

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	8
LISTA DE TABELAS.....	9
1 INTRODUÇÃO.....	11
2 OBJETIVOS.....	15
2.1. Objetivo geral.....	15
2.2. Objetivo específico.....	15
3 Artigo: Qualidade microbiológica do processamento de cortes de carne bubalina resfriados acondicionados a vácuo.....	16
3.1. Introdução.....	16
3.2. Materiais e métodos.....	18
3.2.1. Coleta das amostras.....	18
3.2.1.1. Quartos traseiros de carcaças bubalinas.....	18
3.2.1.2. Superfícies de processamento da sala de desossa.....	18
3.2.1.3. Cortes de carne bubalina.....	19
3.2.2. Análises microbiológicas.....	19
3.2.2.1. Pesquisa de <i>Listeria</i> spp.	19
3.2.2.2. Enumeração de <i>Pseudomonas</i> sp.	20
3.2.2.3. Enumeração de coliformes termotolerantes (CTT).....	20
3.2.2.4. Enumeração de Bactérias Ácido Lácticas (BAL).....	21
3.2.3. Análise estatística.....	21
3.3. Resultados e discussão.....	21
3.4. Conclusão.....	28
3.5. Referências.....	29
4 Conclusão.....	33
Referências.....	34

1 INTRODUÇÃO

Apesar da forte cultura de consumo de carne bovina no Brasil, o rebanho nacional de bubalinos tem crescido de maneira constante e significativa, e a bubalinocultura de corte tem conquistado cada vez mais espaço na pecuária brasileira (BRASIL, 2014).

De acordo com a última Pesquisa de Produção Pecuária Municipal, do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2011), a bubalinocultura chegou a quase 1,3 milhões de cabeças no país em 2011, tendo atingido um aumento de 7,8% em relação ao ano anterior, enquanto o rebanho de bovinos atingiu 212,8 milhões de cabeças, com um crescimento de 1,6%. Além disso, a pesquisa aponta os maiores rebanhos de bubalinos nos Estados do Pará (485.033 cabeças), Amapá (235.459 cabeças), Maranhão (82.650 cabeças), Amazonas (81.851 cabeças) e Rio Grande do Sul (77.621 cabeças), e das várias raças existentes no mundo, o Brasil possui quatro reconhecidas pela Associação Brasileira de Criadores de Búfalos (Murrah, Mediterrâneo, Jafarabadi e Carabao) (ABCB, 2014).

A mudança no estilo de vida da população e, conseqüentemente, o crescente aumento das exigências dos consumidores quanto à qualidade da carne, tornam a bubalinocultura de corte uma alternativa viável e altamente rentável para o setor rural brasileiro (JORGE; ANDRIGHETTO, 2005). Além disso, é uma forma de diversificar as fontes de produção de carne e oferecer ao consumidor uma alternativa mais saudável em matéria de carne vermelha, já que a carne de búfalo possui menores índices de colesterol, gorduras e valor calórico, além de uma composição mais rica em proteínas e minerais, quando comparada à carne bovina (ABCB, 2001).

Para competir neste mercado, segundo Jorge e Andrighetto (2005), a bubalinocultura de corte necessita melhorar ainda mais seus índices de produtividade, criar identidade aos seus produtos e atender às exigências do

consumidor, principalmente, com relação à segurança dos alimentos e qualidade final do produto.

A carne é um alimento de ampla diversidade nutritiva em sua composição e de atividade de água relativamente elevada, o que a torna um ambiente favorável para o crescimento e propagação de diversos microorganismos deteriorantes e patogênicos (AYMERICH et al., 2008; NAIDOO; LINDSAY, 2010).

Os tecidos dos animais sadios podem ser considerados livres de microorganismos, excetuando-se a superfície externa, cavidade naso-faríngea, sistema digestório e urogenital (GILL; NEWTON, 1979). Apesar disso, muitos agentes patogênicos pertencentes à microbiota natural dos animais de corte podem contaminar as carcaças durante o abate, processamento em ambiente contaminado, ou através dos manipuladores, utensílios ou água (SAMULAK et al., 2011).

Diversas operações realizadas durante o processamento da carne dentro dos frigoríficos-matadouros podem contribuir para a multiplicação microbiana, comprometendo a sua qualidade (MARRA, 2009). Durante a desossa, etapa na qual são obtidos os diversos cortes comerciais a partir das meias carcaças, os quais geralmente são embalados a vácuo e comercializados sob refrigeração, a carne é exposta a várias superfícies susceptíveis de contaminação, além de sofrer alta manipulação, podendo tornar-se um veículo de doenças de origem alimentar caso não sejam adotadas práticas higiênico-sanitárias adequadas (NEL et al., 2004).

O acondicionamento de cortes cárneos em embalagens a vácuo tem proporcionado extensão da vida útil de carnes refrigeradas (SINGH; SINGH, 2005; BRIGHTWELL et al., 2009). Este tipo de embalagem, em combinação com a refrigeração, produz um ambiente onde se desenvolvem apenas microorganismos capazes de tolerar e crescer em baixas temperaturas e baixas concentrações de oxigênio, como alguns psicrótróficos, que incluem espécies patogênicas e/ou capazes de causar deterioração precoce na carne (FARBER, 1991; GILL, 1996; JONES et al., 2008).

Segundo Eisel et al. (1997), *Pseudomonas* sp. e *Listeria monocytogenes* são bactérias potencialmente deteriorantes e patogênicas, respectivamente, associadas à carne, cujos crescimentos podem ser favorecidos durante a

prolongada vida de prateleira, sob temperaturas de refrigeração, de carnes embaladas a vácuo (FARBER et al., 1990; GILL, 1996). Além disso, as condições de armazenamento neste tipo de embalagem favorecem o desenvolvimento de bactérias ácido lácticas, que, apesar de produzirem inúmeros metabólitos cuja ação inibitória frente a alguns micro-organismos já é conhecida, também são responsáveis por reações que culminam com a deterioração de cortes cárneos nessas condições de embalagem e armazenamento (BORCH et al., 1996; MARTINIS et al., 2001; DJENANE et al., 2005; BRIGHTWELL et al., 2009).

As bactérias do gênero *Pseudomonas* são consideradas as mais comumente envolvidas na deterioração da carne (LAMBERT; SMITH; DODDS, 1991; JOS; VELD, 1996; GIL, 2000; OUSSALAH et al., 2006). As espécies deste gênero são bastonetes Gram negativos, estritamente aeróbias, psicotróficas, catalase e oxidase positivas, e a maioria é móvel, através de um ou vários flagelos (DOUDOROFF; PALLERONI, 1974). Segundo Franzetti e Scarpellini (2007), este gênero bacteriano caracteriza-se pela sua elevada versatilidade metabólica, em função da presença de um complexo sistema enzimático e necessidades nutricionais simples. As reações decorrentes do seu metabolismo culminam com a descoloração, produção de gás e de limosidade sobre as carnes, bem como a produção de lipases e proteases, originando sabor de ranço e amargor (OUSSALAH et al., 2006).

O gênero *Listeria* compreende 10 espécies: *Listeria monocytogenes*, *Listeria ivanovii*, *Listeria seeligeri*, *Listeria innocua*, *Listeria welshimeri*, *Listeria grayi*, *Listeria marthii*, *Listeria rocourtiae*, *Listeria fleischmannii* e *Listeria weihenstephanensis* (ZHANG et al., 2007; HALTER; NEUHAUS; SCHERER, 2013). Destas, apenas *L. monocytogenes* é capaz de causar doença em humanos (MCLAUCHLIN, 1997).

L. monocytogenes é um bacilo Gram positivo, não esporulado, anaeróbio facultativo, possui flagelos peritríquios e apresenta ampla distribuição na natureza (SKOVGAARD; NORRUNG, 1989). Além disso, este micro-organismo é capaz de persistir dentro das indústrias de alimentos através da sua capacidade de produzir biofilmes nas superfícies de processamento, em particular na presença de *Pseudomonas* sp. (METTLER; CARPENTIER, 1988), o que garante a sua sobrevivência, podendo contaminar o produto final (CHAE

et al., 2006). Diferentemente de outros agentes patogênicos, *L. monocytogenes* apresenta características psicotróficas, tendendo a multiplicar-se em alimentos refrigerados (FARBER; PETERKIN, 1991).

Borch e colaboradores (1996) afirmam que a vida-de-prateleira da carne depende do número e do tipo de micro-organismos presentes em sua superfície e do seu subsequente crescimento. Assim, a quantificação de micro-organismos deteriorantes, como *Pseudomonas* sp., e a identificação de patógenos, como *Listeria* spp., durante o processamento de cortes cárneos fornecem informações úteis sobre a contaminação inicial da carne, podendo auxiliar na avaliação do comportamento destes micro-organismos frente ao acondicionamento a vácuo sob temperaturas de refrigeração, associados à presença natural de bactérias ácido lácticas, nestas condições de embalagem e armazenamento.

2 OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar a qualidade microbiológica do processamento de carnes embaladas a vácuo, mantidas sob refrigeração.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar a contaminação de quartos traseiros de carcaças bubalinas previamente à desossa;
- Avaliar as condições higiênico-sanitárias de uma sala de desossa de um frigorífico-matadouro, identificando fontes de contaminação da carne por micro-organismos deteriorantes e patogênicos;
- Avaliar a influência do processo de desossa sobre a qualidade microbiológica de cortes cárneos embalados a vácuo durante o prazo de validade.

3 ARTIGO

Qualidade microbiológica do processamento de cortes de carne bubalina resfriados acondicionados a vácuo

3.1. Introdução

No Brasil, mesmo havendo uma forte cultura do consumo de carne bovina, o rebanho nacional de bubalinos tem crescido de maneira constante e significativa, e a bubalinocultura de corte tem conquistado cada vez mais espaço na pecuária brasileira. A carne destes animais tem sido bastante apreciada, por conter menores índices de gordura, colesterol e calorias, e maiores teores de proteínas e minerais quando comparada à carne bovina (ABCB, 2001; BRASIL, 2014).

A limpeza e desinfecção de equipamentos, muitas vezes negligenciadas ou efetuadas em condições inadequadas, bem como o conhecimento dos manipuladores acerca de higiene pessoal e do ambiente de trabalho, constituem fatores primordiais para o controle sanitário em indústrias de alimentos (JAY, 1996).

Dentro dos frigoríficos, a desossa é uma etapa de extrema importância no que diz respeito à qualidade microbiológica final da carne. Nesta etapa, a carne é removida dos ossos e são elaborados os cortes cárneos, os quais, posteriormente, em geral são embalados a vácuo para a comercialização. Durante este processo, há grande exposição da carne ao ambiente de processamento, como superfícies de equipamentos e utensílios, e à manipulação, através do contato com as mãos dos manipuladores, podendo ocorrer contaminação cruzada com micro-organismos deteriorantes e patogênicos, tornando a carne um veículo de doenças de origem alimentar caso não sejam adotadas práticas higiênico-sanitárias adequadas (NEL et al., 2004).

Quando acondicionadas em embalagens com presença de oxigênio, as carnes tem a vida-de-prateleira limitada pelo crescimento e atividade bioquímica de micro-organismos aeróbios, como as bactérias pertencentes ao gênero *Pseudomonas*, que são consideradas as principais responsáveis pelos processos de deterioração em carnes refrigeradas (LAMBERT; SMITH; DODDS, 1991; GIL, 2000; OUSSALAH et al., 2006). Além de psicrotróficas, estas bactérias são responsáveis por reações que culminam com a descoloração e produção de gás e de limosidade sobre as carnes, bem como a produção de enzimas (lipases e proteases), que reagem com a gordura e proteína presentes, originando sabor de ranço e amargor (OUSSALAH et al., 2006).

O uso de embalagens a vácuo tem demonstrado ser eficaz para prolongar a vida-de-prateleira de cortes cárneos, mantendo as suas características desejáveis aos consumidores (SINGH; SINGH, 2005; BRIGHTWELL et al., 2009). Segundo Borch et al. (1996) e Brightwell et al. (2009), as condições de armazenamento nestes tipos de embalagens acabam favorecendo o crescimento de bactérias ácido lácticas (BAL), cujos metabólitos já são reconhecidos pela atividade antimicrobiana frente a alguns micro-organismos deteriorantes e patogênicos (DJENANE et al., 2005; JONES et al., 2008; MATAMOROS et al., 2009). Porém, este grupo de bactérias pode causar alterações indesejáveis nas carnes, resultando na degradação prematura e, conseqüentemente, na redução na vida de prateleira do produto final (BORCH et al., 1996).

Apesar dos benefícios já citados, Farber e colaboradores (1990) salientam que o uso de embalagens a vácuo pode favorecer o crescimento de patógenos psicrotróficos, como *Listeria monocytogenes*, durante a prolongada vida-de-prateleira de cortes cárneos em temperaturas de refrigeração. Além disso, este micro-organismo é capaz de persistir dentro das indústrias de alimentos através da sua capacidade de produção de biofilmes em superfícies do ambiente de processamento, garantindo a sua sobrevivência e conseqüente contaminação do produto final (CHAE et al., 2006).

Dentro deste contexto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica do processamento de carne bubalina, mais

especificamente de cortes acondicionados a vácuo e mantidos sob refrigeração (5°C) durante a sua vida de prateleira.

3.2. Materiais e métodos

3.2.1. Coleta das amostras

Foram realizadas quatro coletas em um frigorífico-matadouro de bovinos e bubalinos nos meses de janeiro, março, junho e setembro de 2013. Imediatamente após a coleta, todas as amostras foram acondicionadas e mantidas em caixas isotérmicas com gelo até a chegada ao laboratório.

3.2.1.1 Quartos traseiros de carcaças bubalinas

Previamente à etapa de desossa, foram amostradas superfícies da porção caudal de carcaças de búfalos (quarto traseiro), nas quatro coletas (n = 6; n = 9; n = 10; n = 10), totalizando 35 carcaças (n = 35). Cinco pontos (patinho, picanha, lombo, alcatra e flanko) de 25 cm²/cada foram amostrados utilizando suabes previamente esterilizados, totalizando 125 cm² por carcaça, sendo mantidos em 25 mL de solução salina 0,85% até o momento das análises (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 2010). Por convenção, para amostrar ambos os lados das carcaças, a coleta dos pontos foi realizada de modo alternado.

3.2.1.2 Superfícies de processamento na sala de desossa

Em cada uma das coletas, antes do início das atividades na sala de desossa, foram amostradas sete superfícies que entram em contato com os cortes cárneos (dois monoblocos de plástico, uma mesa de espera para cortes e toaleta, duas mesas de cortes e dois carrinhos de transporte) e mãos de dois manipuladores (n = 9). Cinco pontos aleatórios de 25 cm² de cada superfície foram amostrados separadamente utilizando suabes previamente esterilizados, totalizando 125 cm² por superfície, os quais foram mantidos em 25 mL de solução salina 0,85% até o momento das análises. No caso das mãos dos manipuladores, a amostragem foi feita pela imersão direta destas em sacos estéreis contendo 90 mL de solução salina 0,85%, de maneira que toda a

superfície da mão fosse lavada pela solução (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 2010).

3.2.1.3 Cortes de carne bubalina

Dois cortes de carne bubalina foram coletados no final da linha de desossa, em cada coleta ($n = 8$), e fragmentados em nove pedaços de, aproximadamente, 300 g cada, os quais foram embalados a vácuo e armazenados sob refrigeração (5°C) durante o prazo de validade estipulado para esse tipo de produto (dois meses), sendo analisados semanalmente, a partir do dia do processamento.

3.2.2. Análises microbiológicas

Em todas as amostras foram realizadas as pesquisas de *Listeria* spp., enumeração de *Pseudomonas* sp. e de coliformes termotolerantes. Nos cortes cárneos embalados a vácuo, além destas, também foi realizada enumeração de Bactérias Ácido Lácticas (BAL).

3.2.2.1 Pesquisa de *Listeria* spp.

Para o isolamento deste micro-organismo, foi utilizada a metodologia descrita por Farber e Daley (1995). Para os quartos traseiros, superfícies de processamento e mãos de manipuladores da desossa, o enriquecimento seletivo primário (ESP) foi feito a partir da transferência de 10 mL das amostras para 90 mL de caldo de enriquecimento de *Listeria* (UVM, Acumedia), seguido de incubação a 30°C por 24 horas. No caso dos cortes cárneos, o ESP foi feito a partir da homogeneização de 25 g da amostra em 225 mL de caldo UVM, seguido de incubação nas mesmas condições de tempo e temperatura acima descritos. Em seguida, transferiu-se 0,1 mL para 10 mL de caldo Fraser (Acumedia) suplementado com citrato de amônio e ferro III e incubou-se a 30°C por 48 horas. Das amostras que apresentaram turvação e escurecimento no caldo Fraser, uma alíquota foi transferida, pela técnica de esgotamento, para placas contendo ágar Palcam (Acumedia) e ágar Oxford (Acumedia), e incubadas por 48 horas a 30°C . Colônias típicas foram selecionadas e semeadas em ágar Trypticase de Soja (TSA, Acumedia) suplementado com extrato de levedura (YE, Acumedia), e incubadas a 30°C por 24 horas. Para a

confirmação da presença de *Listeria* sp., foram realizados os testes da catalase e coloração de Gram. Para a diferenciação bioquímica das espécies, foram realizados os seguintes testes: prova da motilidade em ágar SIM (Merck), verificação de hemólise em ágar sangue (Columbia, Micro Med) e capacidade de fermentação dos carboidratos ramnose (Vetec), xilose (Vetec) e manitol (Vetec).

3.2.2.2 Enumeração de *Pseudomonas* sp.

Para a enumeração de *Pseudomonas* sp. nas amostras dos quartos traseiros, superfícies de processamento e mãos de manipuladores da desossa, foram realizadas diluições decimais seriadas até 10^{-3} em solução salina 0,85%. No caso dos cortes cárneos embalados a vácuo, 25 g foram homogeneizadas em 225 mL de solução salina 0,85%, diluição 10^{-1} , a partir da qual foram realizadas diluições decimais seriadas até 10^{-3} . De cada uma das diluições, alíquotas de 0,1 mL foram transferidas, em duplicata, para ágar Cetrimida Base (Acumedia) e incubadas a 25°C por 48 horas. Os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônias por área de amostragem (UFC/cm²) ou por grama da amostra (UFC.g⁻¹) (NEL et al., 2004).

3.2.2.3 Enumeração de coliformes termotolerantes (CTT)

Para a pesquisa de coliformes termotolerantes, foi utilizada a técnica do Número Mais Provável, segundo o protocolo proposto pela FDA (2002). A partir das diluições 10^0 , 10^{-1} e 10^{-2} , alíquotas de 1 mL foram transferidas para uma série de três tubos com *Durhan* invertido contendo 9 mL de caldo Lauril Sulfato de Sódio (LSS, Micro), e incubados a 37°C por 48 horas. Os tubos positivos, com formação de gás no *Durhan*, foram submetidos ao teste de confirmação de coliformes termotolerantes. Dos tubos positivos no LSS, foram transferidas alíquotas para outros tubos contendo *Durhan* invertido e 9 mL de caldo *Escherichia coli* (EC, Micromed), os quais foram incubados em banho-maria a 45°C por 48 horas. Os resultados foram expressos em Número Mais Provável de coliformes termotolerantes por área amostrada (NMP.cm⁻²) ou por grama de amostra (NMP.g⁻¹).

3.2.2.4 Enumeração de Bactérias Ácido Lácticas (BAL)

Para a enumeração de BAL nos cortes cárneos embalados a vácuo, a partir das mesmas diluições decimais seriadas, alíquotas de 0,1 mL foram transferidas para placas contendo ágar De Man, Rogosa e Sharpe (MRS, Acumedia) e incubadas em anaerobiose a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 96 horas. Os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônias por grama da amostra (UFC.g^{-1}) (JONES et al., 2008).

3.2.3. Análise estatística

As contagens dos micro-organismos foram analisadas estatisticamente através de análise de variância (ANOVA), seguida do teste de Fisher ao nível de 5% de significância.

3.3. Resultados e discussão

Os resultados das contagens de *Pseudomonas* sp. nas amostras analisadas durante o experimento são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Médias das contagens de *Pseudomonas* sp. nas amostras analisadas.

<i>Pseudomonas</i> sp.				
Coleta	Quartos traseiros (log UFC.cm ⁻²)	Superfícies (log UFC.cm ⁻²)	Mãos (log UFC.mão ⁻¹)	Cortes cárneos* (log UFC.g ⁻¹)
1	3,4 ^{a,c}	3,4 ^a	1,3 ^a	3,7 ^a
2	1,2 ^{b,c,d}	1,2 ^b	1,3 ^a	3,9 ^a
3	2,5 ^{a,b,c,d}	5,3 ^{a,c}	1,0 ^a	1,0 ^a
4	1,2 ^{b,c,d}	1,8 ^{b,d}	1,0 ^a	3,4 ^a
Média	2,1	2,9	1,1	3,0

* No dia do processamento

** Letras iguais nas colunas representam valores que não diferem significativamente entre si pelo Teste de Fisher ($p < 0,05$).

*** Letras diferentes nas colunas representam valores que diferem significativamente entre si pelo Teste de Fisher ($p < 0,05$).

Foi verificada diferença significativa entre as coletas com relação às contagens de *Pseudomonas* sp. nos quartos traseiros antes de serem enviados à desossa, onde a primeira coleta apresentou as maiores contagens, sendo

significativamente superiores às verificadas na segunda e quarta coletas, mas não diferindo das verificadas na terceira coleta (Tabela 1). Estes resultados refletem uma falta de padronização nos procedimentos de higiene operacional realizados durante os cortes primários das carcaças.

A elaboração dos cortes primários das carcaças, previamente à etapa de desossa, quando realizada de forma inadequada, pode favorecer a disseminação e multiplicação de bactérias patogênicas e deteriorantes relacionadas com a vida de prateleira do produto (GILL et al., 1999; YASHODA et al; 2000).

Quanto às contagens de *Pseudomonas* sp. nas superfícies de processamento da sala de desossa (mesas, carrinhos e monoblocos) e mãos de manipuladores, não foram verificadas diferenças significativas entre as amostras. Porém, em relação às coletas, verificou-se que as contagens nas superfícies de processamento da terceira (apresentando média de 5,3 log UFC.cm⁻²) foram significativamente superiores às apresentadas na segunda e quarta coletas, cujas médias foram, respectivamente, 1,2 log UFC.cm⁻² e 1,8 log UFC.cm⁻², não diferindo da primeira (3,4 log UFC.cm⁻²). As contagens nas mãos de manipuladores não diferiram significativamente, apresentando média de 1,1 log UFC.mão⁻¹ nas quatro coletas (Tabela 1).

Com relação às contagens de CTT, a média encontrada para as amostras dos quartos traseiros foi -0,5 log UFC.cm⁻², não sendo verificada diferença significativa entre as coletas.

Segundo Silva Jr. (1995), o padrão microbiológico para utensílios de produção de alimentos e mãos de manipuladores indica que os mesmos devem estar livres de coliformes termotolerantes. Neste estudo, para as contagens de CTT, a média encontrada nas amostras de superfície foi -0,4 log UFC.cm⁻², enquanto nas mãos foi -0,06 log NMP.mão⁻¹, não havendo diferença significativa entre as coletas. Embora em contagens baixas, este resultado evidencia contaminação de origem fecal, e preocupa em função da participação da bactéria *Escherichia coli* neste grupo de micro-organismos, a qual é uma importante causadora de doenças transmitidas por alimentos (TORTORA et al., 2005).

As embalagens a vácuo são amplamente utilizadas para aumentar a vida-de-prateleira dos produtos através da redução da concentração de

oxigênio e conseqüente aumento nos níveis de dióxido de carbono dentro da embalagem (SINGH; SINGH, 2005; BRIGHTWELL et al., 2009).

Avaliando a qualidade microbiológica dos cortes de carne bubalina acondicionados a vácuo e mantidos sob refrigeração, com relação a *Pseudomonas* sp., não verificou-se diferenças significativas entre as coletas no dia do processamento (Tabela 1), porém, durante o prazo de validade, as contagens deste micro-organismo foram significativamente inferiores no dia do processamento dos cortes ($3 \log \text{UFC.g}^{-1}$) quando comparadas às contagens observadas nas demais semanas de armazenamento. Após a primeira semana de armazenamento refrigerado, as contagens mantiveram-se praticamente constantes (Figura 1A). Estes resultados se assemelham com os relatados por Mexis et al. (2012), nos quais a utilização de atmosfera modificada para o acondicionamento de carne de frango não proporcionou um crescimento microbiano relevante, mas também não eliminou a presença de *Pseudomonas* sp.

Nel e colaboradores (2004) afirmam que o acondicionamento de cortes cárneos em embalagens anaeróbias inibe parcialmente o crescimento de *Pseudomonas* sp., pois verificaram contagens deste micro-organismo variando entre $4 \log \text{UFC.g}^{-1}$ a $5,9 \log \text{UFC.g}^{-1}$ durante dois meses de armazenamento sob refrigeração de cortes de carne bovina acondicionados a vácuo, não havendo diferença significativa entre as semanas de armazenamento.

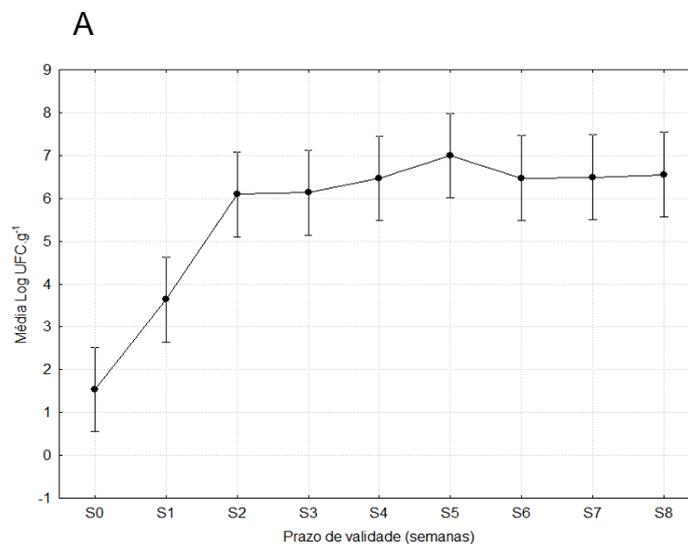
Ordóñez e colaboradores (2005) afirmam que as carnes acondicionadas a vácuo mantêm uma determinada taxa de oxigênio residual dentro da embalagem durante os primeiros dias de armazenamento refrigerado, mas que esse gás é rapidamente esgotado pelas atividades metabólicas do músculo e de micro-organismos. Assim, embora estas embalagens contribuam para retardar o crescimento de micro-organismos aeróbios, o oxigênio residual no seu interior ainda os mantém viáveis, o que pode explicar o crescimento de *Pseudomonas* sp. significativamente superior entre o dia do processamento e a primeira semana de armazenamento, assim como a manutenção das contagens até o final do prazo de validade.

Além disso, muitos materiais a partir dos quais são elaboradas as embalagens a vácuo são suficientemente permeáveis ao oxigênio, de modo

que a respiração e, conseqüentemente, o crescimento de micro-organismos aeróbios não são inibidos (NEWTON; RIGG, 1979).

O estudo realizado por Marshall e colaboradores (1992) afirma que bactérias do gênero *Pseudomonas* podem crescer em condições anaeróbias devido à incorreta vedação das embalagens ou até mesmo por vazamentos que resultam na penetração de O₂, o que foi confirmado neste estudo.

Em relação às BAL, observou-se um comportamento similar a partir da segunda semana de armazenamento. As contagens verificadas no dia do processamento dos cortes cárneos foram significativamente inferiores às contagens apresentadas após a primeira semana de armazenamento, e ambas foram significativamente inferiores à todas as outras semanas até o final do prazo de validade dos produtos (Figura 1B). Jones (2004) também notaram o aumento das contagens de BAL durante dezesseis semanas de armazenamento a -1,5°C de cortes de carne bovina embalados a vácuo, onde as médias de contagem no dia do processamento e ao término do período de armazenamento foram, respectivamente, 3,3 log UFC.g⁻¹ e 8,4 log UFC.g⁻¹.



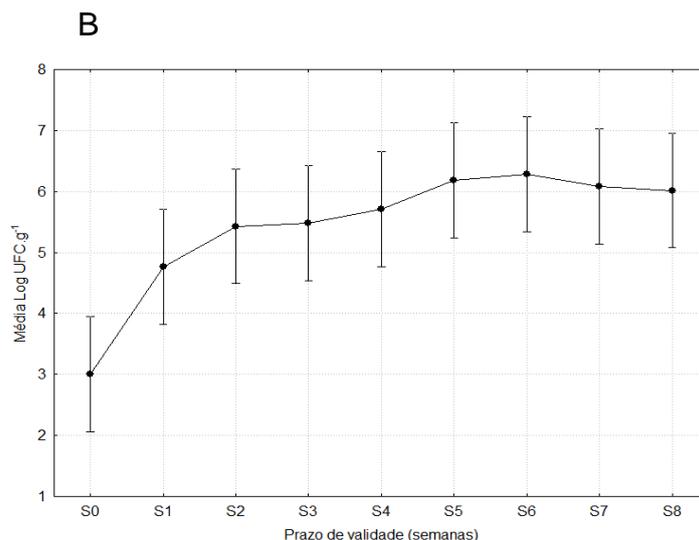


Figura 1 – Médias das contagens nos cortes de carne bubalina durante o prazo de validade. A: *Pseudomonas* sp. B: Bactérias Ácido Lácticas.

Já em relação às contagens de CTT nos cortes, não houve diferença significativa entre as coletas, assim como entre as semanas analisadas no decorrer do prazo de validade, apresentando contagens médias de 0,9 log NMP.g⁻¹ no momento do processamento e 1 log NMP.g⁻¹ ao final do prazo de validade.

Segundo a Resolução nº12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2001), são aceitáveis contagens de CTT até 4 log NMP.g⁻¹ em carnes embaladas a vácuo, não maturadas. Neste trabalho, todas as amostras apresentaram valores abaixo dos permitidos pela legislação.

É importante salientar que as contagens encontradas nos cortes de carne bubalina no dia do processamento refletem a qualidade higiênico-sanitária da elaboração dos produtos. Os procedimentos pré- e operacionais, quando realizados de forma inadequada, mesmo associados à baixa temperatura ambiente exigida pela legislação (até 16°C) (BRASIL, 2000), proporcionam a manutenção e multiplicação de micro-organismos patogênicos e deteriorantes no ambiente de processamento, exercendo influência direta sobre a qualidade microbiológica do produto final.

Os resultados mostram que as contagens médias dos cortes (3,0 log UFC.g⁻¹) estão acima das encontradas para as amostras dos quartos traseiros (2,0 log UFC.cm⁻²) e das superfícies (2,9 log UFC.cm⁻²) para *Pseudomonas* sp.

O mesmo foi verificado para as contagens de CTT, cujas médias foram $-0,5 \log \text{UFC.cm}^{-2}$ nas amostras dos quartos traseiros, $-0,4 \log \text{UFC.cm}^{-2}$ nas amostras de superfícies e $0,9 \log \text{NMP.g}^{-1}$ nos cortes, indicando possível contaminação da matéria-prima durante o processamento, em função do contato com as superfícies de manipulação.

Ainda neste estudo, notou-se que durante o armazenamento sob refrigeração dos cortes, houve a perda do vácuo nas embalagens, com acúmulo de gás. Além disso, as carnes apresentavam-se com alterações sensoriais, como coloração esverdeada e odor fétido, exsudativas e inconsistentes, provavelmente em função da atividade proteolítica, conforme descrito por Rossi Júnior e colaboradores (2011). Estas alterações ocorreram ao mesmo tempo em que as contagens de BAL mantiveram-se constantes, apresentando média de $6,5 \log \text{UFC.g}^{-1}$, e significativamente superiores às verificadas nas semanas anteriores de armazenamento, o que pode ser justificado pelo metabolismo destas bactérias, que, segundo relatos de alguns estudos, é responsável pela produção de sabores e odores estranhos, carnes exsudativas e com coloração esverdeada, e limosidade na embalagem (CAYRÉ; VIGNOLO; GARRO, 2003; ZHANG et al., 2009).

Além disso, algumas BAL heterofermentativas são capazes de produzir gás no interior de embalagens a vácuo quando estocadas em temperaturas de refrigeração (HANNA et al., 1979). Portanto, as populações encontradas nos cortes podem ter contribuído para as alterações visualizadas nas embalagens.

Outros autores mencionam que a interação entre BAL e enterobactérias intensifica o grau de deterioração do produto, o que também pode estar associado às alterações notadas neste estudo, pois CTT, mesmo que em baixas quantidades, estiveram presentes durante todo o período de armazenamento sob refrigeração dos cortes (BORCH et al., 1996).

Entre as 35 amostras de quartos traseiros analisadas previamente à desossa, isolou-se *L. innocua* em apenas uma delas (2,9%). Dimic et al. (2010) analisaram *Listeria* spp. em 29 amostras de carnes resfriadas (frango, suína e bovina) e verificaram a presença deste gênero bacteriano em 82,7% das amostras, sendo que *L. welshimeri* foi a espécie de maior incidência (31%), seguida de *L. monocytogenes* (27,6%) e *L. innocua* (24,1%).

Nas amostras de superfícies e mãos de manipuladores, este gênero bacteriano não foi encontrado, diferindo do estudo apresentado por Barros e colaboradores (2007), os quais verificaram a presença de *Listeria* spp. em amostras de equipamentos (76/148; 51,4%) e instalações (23/65; 35,4%) de plantas processadoras de carne e de abatedouros.

Nas amostras de cortes cárneos, *L. monocytogenes* também não foi encontrada, mas verificou-se a presença de *L. innocua* e de *L. welshimeri* em amostras durante o período de armazenamento, não sendo isoladas no dia do processamento dos cortes (Tabela 2).

Tabela 2 – Espécies de *Listeria* encontradas nos cortes cárneos durante o período de armazenamento (60 dias).

Coleta	Armazenamento (dias)	Espécie de <i>Listeria</i>
1	21	<i>L. welshimeri</i>
2	28	<i>L. innocua</i>
2	35	<i>L. innocua</i>
3	35	<i>L. innocua</i>
3	49	<i>L. innocua</i>
3	56	<i>L. welshimeri</i>

Este resultado vai de encontro ao obtido por Nel et al. (2004), que identificaram a presença de *L. monocytogenes* em 52% (26/50) das amostras de cortes de carne bovina embalados a vácuo e armazenados sob refrigeração. Já França (2008), ao analisar 30 amostras de cortes de carne bovina embalados a vácuo, provenientes do fim da linha de desossa de frigoríficos-matadouros localizados em diferentes Estados do Brasil, detectou a presença de *L. monocytogenes* em 13,33% das amostras, enquanto 86,67% foram negativas para esta espécie bacteriana.

Segundo McLauchlin (1997), a presença de qualquer espécie de *Listeria* em alimentos pode ser um indicador de falta de higiene e pode ser interpretada como um indicativo de condições adequadas para a presença do principal patógeno do gênero, *L. monocytogenes* (VITAS et al., 2004). Segundo Aguado e colaboradores (2004), *L. innocua* é uma variante não patogênica de *L. monocytogenes*, estando normalmente associada a ela. Por isso, um dos principais objetivos dentro das indústrias é inibir este gênero de micro-

organismos e manter as condições que evitam a sua multiplicação em alimentos sempre controladas.

Alguns autores afirmam que o metabolismo de bactérias do gênero *Pseudomonas*, através da sua capacidade de hidrolisar proteínas, pode liberar fatores estimulantes para o crescimento de espécies de *Listeria* (MARSHALL et al., 1992; VERHEUL; ROMBOUTS; ABEE, 1998; BOREZEE; PELLEGRINI; BERCHE, 2000), o que justifica o isolamento deste gênero bacteriano ao longo do período de armazenamento, quando as contagens de *Pseudomonas* sp. aumentam e, posteriormente, estabilizam. Lebert e colaboradores (2000), avaliando as interações entre *Pseudomonas* spp. e *Listeria* em produtos cárneos, notaram que nenhum crescimento de *Listeria* foi observado até que *Pseudomonas* atingisse a fase estacionária de crescimento, o que corrobora os resultados encontrados neste estudo.

Para reduzir a contaminação inicial da carne por micro-organismos deteriorantes e patogênicos, práticas higiênico-sanitárias adequadas devem ser adotadas no seu sistema de produção, desde a correta limpeza e desinfecção do ambiente de processamento até a higiene pessoal dos manipuladores, a fim de retardar a deterioração e evitar riscos à saúde dos consumidores, assegurando a qualidade do produto final durante toda a sua vida útil.

3.4. Conclusão

Através deste estudo, pode-se observar contagens inferiores de micro-organismos nos quartos traseiros previamente à desossa em comparação às contagens observadas nos cortes cárneos no dia do processamento, assim como àquelas encontradas nas superfícies de processamento e mãos de manipuladores. Assim, ficou claro que a contaminação inicial durante o processamento e intensa manipulação na etapa de desossa tem influência direta sobre a qualidade microbiológica dos cortes embalados a vácuo.

Os resultados encontrados podem ser atribuídos à falta de procedimentos padronizados de higiene das instalações, equipamentos e utensílios utilizados na sala de desossa, bem como a práticas de higiene pessoal inadequadas por parte dos manipuladores.

Sugere-se uma maior supervisão das condições higiênico-sanitárias antes e após o término das atividades na linha de processamento de cortes cárneos, e também a implementação de rígidos programas de autocontrole, de modo a prevenir a contaminação por micro-organismos deteriorantes e patogênicos e garantir aos consumidores um produto final de qualidade durante toda a sua vida útil.

3.5. Referências

AGUADO, V.; VITAS, A. I.; GARCÍA-JALÓN, I. Characterization of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* from a vegetable processing plant by FPD and REA. **International Journal of Food Microbiology**. v. 90, p. 341-347, 2004.

BARROS, M. A. F.; NERO, L. A.; SILVA, L. C.; D'OIDIO, L.; MONTEIRO, F. A.; TAMANINI, R.; FAGNANI, R.; HOFER, E.; BELOTI, V. *Listeria monocytogenes*: Occurrence in beef and identification of the main contamination points in processing plants. **Meat Science**. v. 76, p. 591–596, 2007.

BORCH, E., KANTMUERMANS, M. L., BLIXT, Y. Bacterial spoilage of meat and cured meat products. **International Journal of Food Microbiology**. n. 33, p. 103–120, 1996

BOREZEE, E.; PELLEGRINI, E.; BERCHE, P. OppA of *Listeria monocytogenes*, an oligopeptide-binding protein required for bacterial growth at low temperature and involved in intracellular survival. **Infection and Immunity**. v. 68, p. 7069–7077, 2000.

BRASIL. Secretaria da Agricultura e Abastecimento (SEAPA). Resolução 001 de 2000. Normas técnicas de instalações e equipamentos para matadouros-frigoríficos de bovinos (e bubalinos). Disponível em: <http://www2.agricultura.rs.gov.br/uploads/12675551291178622989Matadouro_frigorifico_de_Bovinos.pdf>. Acesso em: fevereiro, 2014.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução – RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Dispõe sobre os padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm>. Acesso em: janeiro, 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Dispõe sobre os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: dezembro, 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Bovinos e bubalinos. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/bovinos-e-bubalinos>>. Acesso em: janeiro, 2014.

BRIGHTWELL, G.; CLEMENS, R.; ADAM, K.; URLICH, S.; BOEREMA, J. Comparison of culture-dependent and independent techniques for characterization of the microflora of peroxyacetic acid treated, vacuum-packaged beef. **Food Microbiology**. n. 26 p. 283-288, 2009.

CAYRÉ, M. E.; VIGNOLO, G.; GARRO, O. Modeling lactic acid bacteria in vacuum-packaged cooked meat emulsions stored at three temperatures. **Food Microbiology**. v. 20, p. 561–566, 2003.

CHAE, M. S.; SCHRAFT, H.; HANSEN, L. T.; MACKERETH, R. Effects of physicochemical surface characteristics of *Listeria monocytogenes* strains on attachment to glass. **Food Microbiology**. v. 23, p. 250–259, 2006.

DIMIC, G. R.; KOCIC-TANACKOV, S. D.; JOVANOV, O. O.; CVETKOVIC, D. D.; MARKOV, S. L.; VELICANSKI, A. S. Presence of *Listeria* species in fresh meats from retail markets in Serbia. **Acta periodica technologica**. v. 41, p. -6 , 2010.

DJENANE, D.; MARTÍNEZ, L.; BLANCO, D.; YANGÜELA, J.; BELTRÁN, J. A.; RONCÁLES, P. Effect of acid bacteria on extension of shelf life and growth of *Listeria monocytogenes* in beef steaks stored in CO₂ rich atmosphere. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 36, p. 405-412, 2005.

FARBER, J. M.; WARBURTON, D. W.; GOUR, L.; MILLING, M. Microbiological quality of foods packaged under modified atmospheres. **Food Microbiology**. n. 7, p. 327-334, 1990.

FARBER, J. M.; DALEY, E. Enumeration of *Listeria monocytogenes* in food. Government of Canada – Laboratory Procedure, Quebec (Canadá): Polyscienc Publications, 1995.

FDA (U. S. Food and Drug Administration). BAM: Enumeration of *Escherichia coli* and the coliform bacteria. Publicado em: Setembro, 2002. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm064948.htm#conventional>>. Acesso em: outubro, 2013.

FRANÇA, L. *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* em carne bovina refrigerada e embalada a vácuo, equipamentos e ambientes de matadouros-frigoríficos. 105f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, 2008.

GIL, J. A. S. I. **Manual de inspeção sanitária de carnes**. 2. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2000. 485 p.

HANNA, M. O.; SMITH, G. C.; HALL, L. C.; VANDERZANT, C. Role of *hafnia alvei* and *Lactobacillus* species in the spoilage of vacuum-packaged striploin steaks. **Journal of Food Protection**. v. 42, n.7, p. 569-571, 1979.

JAY, J. M. **Modern food microbiology**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1996.

JONES, R. J. Observations on the succession dynamics of lactic acid bacteria populations in chill-stored vacuum-packaged beef. **International Journal of Food Microbiology**. v. 90, p. 273-282, 2004.

JONES, R. J.; HUSSEIN, H. M.; ZAGOREC, M.; BRIGHTWELL, G.; TAGG, J. R. Isolation of lactic acid bacteria with inhibitory activity against pathogens and spoilage organisms associated with fresh meat. **Food Microbiology**. n. 25, p. 228-234, 2008.

LAMBERT, A. D.; SMITH, J. P.; DOODS, K. L. Shelf life extension and microbiological safety of fresh meat: A review. **Food Microbiology**. v. 8, n. 4, p. 267-297, 1991.

LEBERT, I.; ROBLES-OLVERA, V.; LEBERT, A. Application of polynomial models to predict growth of mixed cultures of *Pseudomonas* spp. and *Listeria* in meat. **International Journal of Food Microbiology**. v. 61, p. 27-39, 2000.

MARSHALL, D. L.; ANDREWS, J. H.; WELL, J. H.; FARR, A. J. Influence of modified atmosphere packaging on the competitive growth of *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonas fluorescens* on precooked chicken. **Food Microbiology**. v. 9, p. 303-309, 1992.

MATAMOROS, S.; PILET, M. F.; GIGOUT, F.; PRIVOST, H.; LEROI, F. Selection and evaluation of seafood-borne psychrotrophic lactic acid bacteria as inhibitors of pathogenic and spoilage bacteria. **Food Microbiology**. v. 26, p. 638-644, 2009.

MCLAUCHLIN, J. The identification of *Listeria* species. **International Journal of Food Microbiology**. v. 38, p. 77-81, 1997.

MEXIS, S.F.; CHOULIARA, E.; KONTOMINAS, M.G.. Shelf life extension of ground chicken meat using an oxygen absorber and a citrus extract. **Food Science and Technology** n. 49, p. 21-27, 2012.

NEL, S.; LUES, J. F. R.; BUYS, E. M.; VENTER, P. Bacterial populations associated with meat from the deboning room of a high throughput red meat abattoir. **Meat Science**. v. 66, p.667–674, 2004.

NEWTON, K. G.; RIGG, W. J. The effect of film permeability on the storage life and microbiology of vacuum-packed meats. **Journal Applied Bacteriology**. v. 47, p. 433-441, 1979.

ORDÓÑEZ, J. A.; RODRÍGUEZ, M. I. C.; ÁLVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLÓN, G. D. G. F.; PERALES, L. H. CORTECERO, M. D. S. *Tecnología de Alimentos: alimentos de origem animal*. Porto Alegre: Artmed, v.2, 2005.

OUSSALAH, M.; CAILLET, S.; SAUCIER, L.; LACROIX, M. Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat. **Meat Science**. v. 73, p. 236-244, 2006.

ROSSI JÚNIOR, O. D.; FELIPE, L. M.; MARTINELI, T. M.; MESQUITA, A. J. Estudo da microbiota envolvida na deterioração “blown pack” de cortes cárneos embalados a vácuo. **ARS Veterinária**. v. 27, n. 2, p.094-101, 2011.

SILVA JR., E. A. **Manual de controle Higiénico sanitário em alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, p.347, 1995.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. 4. ed. São Paulo: Varela, 2010.

SINGH, R. K.; SINGH, N. Quality of packaged foods. **Innovations in food packaging**. p. 24–44, 2005.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. *Microbiologia*. Artmed Editora. 8ª edição. Porto Alegre.

VERHEUL, A. ROMBOUTS, F. M.; ABEE, T. Utilization of oligopeptides by *Listeria monocytogenes* Scott A. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 64, p.1059–1065, 1998.

VITAS, A. I.; AGUADO, V.; GARCÍA-JALÓN, I. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in fresh and processed foods in Navarra (Spain). **International Journal of Food Microbiology**. v. 90, n. 3, p.349-356, 2004.

ZHANG, H.; KONG, B.; XIONG, Y. L.; SUN, X. Antimicrobial activities of spice extracts against pathogenic and spoilage bacteria in modified atmosphere packaged fresh pork and vacuum packaged ham slices stored at 4°C. **Meat Science**. v. 81, p.686-692, 2009.

YASHODA, K. P.; SACHINDRA, N. M.; RAO, D. N. Microbiological quality of hygienically processed buffalo carcasses. **Food Control**. v. 11, p. 217-224, 2000.

4 CONCLUSÃO

Embora as embalagens a vácuo sejam capazes de prolongar a vida-de-prateleira de cortes cárneos em comparação com as embalagens aeróbias, a contaminação inicial da carne durante o processamento e intensa manipulação na etapa de desossa exerce influência negativa sobre os benefícios deste tipo de embalagem. Apesar da presença de *Pseudomonas* sp. e bactérias ácido lácticas não representar risco à saúde dos consumidores, as populações destes micro-organismos devem ser controladas por meio da adoção de medidas higiênico-sanitárias adequadas, como a correta limpeza e desinfecção do ambiente de processamento dos cortes, além de práticas de higiene pessoal por parte dos manipuladores, de modo a manter os níveis destes micro-organismos os mais baixos possíveis e a ausência de patógenos no produto final, assegurando a sua qualidade durante todo o prazo de validade.

REFERÊNCIAS

ABCB. Associação Brasileira de Criadores de Búfalos. Carne de búfalo: um caso a parte. Disponível em: <<http://www.bufalo.com.br/not00090.html>>. Publicado em: 8 de outubro de 2001. Acesso em: janeiro, 2014.

ABCB. Associação Brasileira de Criadores de Búfalos. Raças de búfalos. Disponível em: <<http://www.bufalo.com.br/racas.html>>. Acesso em: janeiro, 2014.

AGUADO, V.; VITAS, A. I.; GARCÍA-JALÓN, I. Characterization of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* from a vegetable processing plant by FPD and REA. **International Journal of Food Microbiology**. v. 90, p. 341-347, 2004.

AYMERICH, M. T.; GARRIGA, M.; MONFORT, J. M.; NES, I.; HUGAS, M. Bacteriocin-producing *lactobacilli* in spanish-style fermented sausages: characterization of bacteriocins. **Food Microbiology**. n. 17, p. 33-45, 2000.

BARROS, M. A. F.; NERO, L. A.; SILVA, L. C.; D'OIDIO, L.; MONTEIRO, F. A.; TAMANINI, R.; FAGNANI, R.; HOFER, E.; BELOTI, V. *Listeria monocytogenes*: Occurrence in beef and identification of the main contamination points in processing plants. **Meat Science**. v. 76, p. 591–596, 2007.

BORCH, E., KANTMUERMANS, M. L., BLIXT, Y. Bacterial spoilage of meat and cured meat products. **International Journal of Food Microbiology**. n. 33, p. 103–120, 1996.

BOREZEE, E.; PELLEGRINI, E.; BERCHE, P. OppA of *Listeria monocytogenes*, an oligopeptide-binding protein required for bacterial growth at low temperature and involved in intracellular survival. **Infection and Immunity**. v. 68, p. 7069–7077, 2000.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução – RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Dispõe sobre os padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm>. Acesso em: janeiro, 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Dispõe sobre os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: dezembro, 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Bovinos e bubalinos. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/bovinos-e-bubalinos>>. Acesso em: janeiro, 2014.

BRASIL. Secretaria da Agricultura e Abastecimento (SEAPA). Resolução 001 de 2000. Normas técnicas de instalações e equipamentos para matadouros-frigoríficos de bovinos (e bubalinos). Disponível em: <http://www2.agricultura.rs.gov.br/uploads/12675551291178622989Matadouro_frigorifico_de_Bovinos.pdf>. Acesso em: fevereiro, 2014.

BRIGHTWELL, G.; CLEMENS, R.; ADAM, K.; URLICH, S.; BOEREMA, J. Comparison of culture-dependent and independent techniques for characterization of the microflora of peroxyacetic acid treated, vacuum-packaged beef. **Food Microbiology**. n. 26 p. 283-288, 2009.

CAYRÉ, M. E.; VIGNOLO, G.; GARRO, O. Modeling lactic acid bacteria in vacuum-packaged cooked meat emulsions stored at three temperatures. **Food Microbiology**. v. 20, p. 561–566, 2003.

CHAE, M. S.; SCHRAFT, H.; HANSEN, L. T.; MACKERETH, R. Effects of physicochemical surface characteristics of *Listeria monocytogenes* strains on attachment to glass. **Food Microbiology**. v. 23, p. 250–259, 2006.

DIMIC, G. R.; KOCIC-TANACKOV, S. D.; JOVANOVIĆ, O. O.; CVETKOVIC, D. D.; MARKOV, S. L.; VELICANSKI, A. S. Presence of *Listeria* species in fresh meats from retail markets in Serbia. **Acta periodica technologica**. v. 41, p. -6 , 2010.

DJENANE, D.; MARTÍNEZ, L.; BLANCO, D.; YANGÜELA, J.; BELTRÁN, J. A.; RONCÁLES, P. Effect of acid bacteria on extension of shelf life and growth of *Listeria monocytogenes* in beef steaks stored in CO₂ rich atmosphere. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 36, p. 405-412, 2005.

DOUDOROFF, M.; PALLERONI, N. Genus I: Pseudomonas. **Bergeys Manual of Determinative Bacteriology**. 8 ed. p. 217-243, 1974.

EISEL, W. G.; LINTION, R. H.; MURIANA, P. M. A survey of microbial levels for incoming raw beef, environmental sources, and ground beef in a red meat processing plant. **Food Microbiology**. v. 14, p. 273–282, 1997.

FARBER, J. M.; PETERKIN, P. I. *Listeria monocytogenes*: a food-borne pathogen. **Microbiological reviews**. v. 55, p. 476-511, 1991.

FARBER, J. M.; WARBURTON, D. W.; GOUR, L.; MILLING, M. Microbiological quality of foods packaged under modified atmospheres. **Food Microbiology**. n. 7, p. 327-334, 1990.

FARBER, J. M.; DALEY, E. Enumeration of *Listeria monocytogenes* in food. Government of Canada – Laboratory Procedure, Quebec (Canadá): Polyscienc Publications, 1995.

FDA (U. S. Food and Drug Administration). BAM: Enumeration of *Escherichia coli* and the coliform bacteria. Publicado em: Setembro, 2002. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm064948.htm#conventional>>. Acesso em: Outubro, 2013.

FRANÇA, L. *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* em carne bovina refrigerada e embalada a vácuo, equipamentos e ambientes de matadouros-frigoríficos. 105f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, 2008.

FRANZETTI, L.; SCARPELLINI, M. Characterization of *Pseudomonas* spp. isolated from foods. **Annals of Microbiology**. v. 57, n. 1, p. 39-47, 2007.

GIL, J. A. S. I. **Manual de inspeção sanitária de carnes**. 2. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2000. 485 p.

GILL, C. O. Extending the storage life of raw chilled meats. **Meat Science**. v. 43, p.99–109, 1996.

GILL, C. O.; NEWTON, K. G. Spoilage of vacuum-packaged dark, firm, dry meat at chill temperatures. **Applied and Environmental Microbiologia**. v. 37, p. 362-364, 1979.

HANNA, M. O.; SMITH, G. C.; HALL, L. C.; VANDERZANT, C. Role of hafnia alvei and Lactobacillus species in the spoilage of vacuum-packaged striploin steaks. **Journal of Food Protection**. v. 42, n.7, p. 569-571, 1979.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção da Pecuária Municipal 2011. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2011/default_pdf.shtm>. Acesso em: 21 de janeiro de 2014.

JAY, J. M. **Modern food microbiology**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1996.

JONES, R. J. Observations on the succession dynamics of lactic acid bacteria populations in chill-stored vacuum-packaged beef. **International Journal of Food Microbiology**. v. 90, p. 273-282, 2004.

JONES, R. J.; HUSSEIN, H. M.; ZAGOREC, M.; BRIGHTWELL, G.; TAGG, J. R. Isolation of lactic acid bacteria with inhibitory activity against pathogens and spoilage organisms associated with fresh meat. **Food Microbiology**. n. 25, p. 228-234, 2008.

JORGE, A. M.; ANDRIGHETTO, C. Características de carcaças de bubalinos. Anais do ZOOTEC. Campo Grande: 2005, 29 p.

JOS, H. J.; VELD, H. Microbial and biochemical spoilage of foods: overview. **International Journal of Food Microbiology**. v. 33, p. 18, 1996.

LAMBERT, A. D.; SMITH, J. P.; DOODS, K. L. Shelf life extension and microbiological safety of fresh meat: A review. **Food Microbiology**. v. 8, n. 4, p. 267-297, 1991.

LEBERT, I.; ROBLES-OLVERA, V.; LEBERT, A. Application of polynomial models to predict growth of mixed cultures of *Pseudomonas* spp. and *Listeria* in meat. **International Journal of Food Microbiology**. v. 61, p. 27-39, 2000.

MARRA, K. N. **Dinâmica da carga microbiana da sala de desossa em um matadouro – frigorífico de Goiânia – GO, durante a jornada de trabalho**. 69f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2009.

MARSHALL, D. L.; ANDREWS, J. H.; WELL, J. H.; FARR, A. J. Influence of modified atmosphere packaging on the competitive growth of *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonas fluorescens* on precooked chicken. **Food Microbiology**. v. 9, p. 303-309, 1992.

MARTINIS, E. C. P. de; PÚBLIO, M. R. P.; SANTAROSA, P. R.; FREITAS, F. Z. Antilisterial activity of lactic acid bacteria isolated from vacuum packaged brazilian meat and meat products. **Brazilian Journal of Microbiology**. p. 32-37, 2001.

MATAMOROS, S.; PILET, M. F.; GIGOUT, F.; PRIVOST, H.; LEROI, F. Selection and evaluation of seafood-borne psychrotrophic lactic acid bacteria as inhibitors of pathogenic and spoilage bacteria. **Food Microbiology**. v. 26, p. 638-644, 2009.

MCLAUCHLIN, J. The identification of *Listeria* species. **International Journal of Food Microbiology**. v. 38, p.77-81, 1997.

METTLER, E.; CARPENTIER, B. Variations over time of microbial load and physicochemical properties of floor materials after cleaning in food industry premises. **Journal of Food Protection**. v. 61, p. 57-65, 1998.

MEXIS, S. F.; CHOULIARA, E.; KONTOMINAS, M. G. Shelf life extension of ground chicken meat using an oxygen absorber and a citrus extract. **Food Science and Technology** n.49, p.21-27, 2012.

NAIDOO, K.; LINDSAY, D. Survival of *Listeria monocytogenes*, and enterotoxin-producing *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pasteurii*, during two types of biltong-manufacturing processes. **Food Control**. n. 21, p. 1042-1050, 2010.

NEL, S.; LUES, J. F. R.; BUYS, E. M.; VENTER, P. Bacterial populations associated with meat from the deboning room of a high throughput red meat abattoir. **Meat Science**. v. 66, p. 667–674, 2004.

NEWTON, K. G.; RIGG, W. J. The effect of film permeability on the storage life and microbiology of vacuum-packed meats. **Journal Applied Bacteriology**. v. 47, p. 433-441, 1979.

ORDÓÑEZ, J. A.; RODRÍGUEZ, M. I. C.; ÁLVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLÓN, G. D. G. F.; PERALES, L. H. CORTECERO, M. D. S. Tecnologia de Alimentos: alimentos de origem animal. Porto Alegre: Artmed, v.2, 2005.

OUSSALAH, M.; CAILLET, S.; SAUCIER, L.; LACROIX, M. Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat. **Meat Science**. v. 73, p. 236-244, 2006.

ROSSI JÚNIOR, O. D.; FELIPE, L. M.; MARTINELI, T. M.; MESQUITA, A. J. Estudo da microbiota envolvida na deterioração “blown pack” de cortes cárneos embalados a vácuo. **ARS Veterinária**. v. 27, n. 2, p.094-101, 2011.

SAMULAK, R. L.; ZANETTI, G. F.; RODRIGUES, S. A.; BITTENCOURT, J. V. M. Condição higiênico-sanitária de abatedouro frigorífico e fábrica de embutidos no estado do Paraná. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**. v. 5, p. 408-417, 2011.

SILVA JR., E. A. **Manual de controle Higiênico sanitário em alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, p.347, 1995.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. 4. ed. São Paulo: Varela, 2010.

SINGH, R. K.; SINGH, N. Quality of packaged foods. **Innovations in food packaging**. p. 24–44, 2005.

SKOVGAARD, N.; NORRUNG, B. The incidence of *Listeria* spp. in faces of Danish pigs and minced pork meat. **International Journal Food Microbiology**, v. 8, p. 59-63, 1989.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. Microbiologia. Artmed Editora. 8ª edição. Porto Alegre.

VERHEUL, A. ROMBOUTS, F. M.; ABEE, T. Utilization of oligopeptides by *Listeria monocytogenes* Scott A. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 64, p.1059–1065, 1998.

VITAS, A. I.; AGUADO, V.; GARCÍA-JALÓN, I. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in fresh and processed foods in Navarra (Spain). **International Journal of Food Microbiology**. v. 90, n. 3, p.349-356, 2004.

YASHODA, K. P.; SACHINDRA, N. M.; RAO, D. N. Microbiological quality of hygienically processed buffalo carcasses. **Food Control**. v. 11, p. 217-224, 2000.

ZHANG, H.; KONG, B.; XIONG, Y. L.; SUN, X. Antimicrobial activities of spice extracts against pathogenic and spoilage bacteria in modified atmosphere packaged fresh pork and vacuum packaged ham slices stored at 4°C. **Meat Science**. v. 81, p.686-692, 2009.