



AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E MICROSCÓPICA DE PRESUNTOS FATIADOS REFRIGERADOS

Juliana SERIO*
Celli Rodrigues MUNIZ**
Claia Andréa Silva FREITAS***
Jaqueline Rabelo LIMA**
Juarez Alves SOUZA NETO****

■RESUMO: A manipulação e armazenamento inadequados de presuntos podem torná-los potenciais transmissores de gastroenterites alimentares. O presente trabalho objetivou avaliar as características microbiológicas e microscópicas de presuntos fatiados refrigerados comercializados em supermercados na cidade de Fortaleza, Ceará. Foram coletadas amostras de presuntos fatiados em 4 redes de supermercados, levadas ao laboratório e analisadas quanto à contagem de bactérias mesófilas, bolores e leveduras, coliformes a 35° e a 45° C. Para a observação em microscopia eletrônica de varredura as amostras foram submetidas à pré-fixação em glutaraldeído e paraformaldeído, pós-fixação em OsO₄, desidratação, montagem em “stubs” e cobertas com uma fina camada de ouro. As amostras apresentaram contagens de bactérias aeróbias mesófilas variando entre 10⁵ e 10⁸ UFC/g e de bolores e leveduras de 10⁵ UFC/g. Todos os presuntos avaliados apresentaram coliformes a 35°C, variando entre 7 e 2400 NMP/g, não sendo constatada a presença de coliformes a 45°C. Nas eletromicrografias obtidas detectou-se a presença de um espesso biofilme recobrimo as superfícies dos presuntos, constituído por numerosas bactérias e mucilagem. Sob aumento de 10.000 vezes, foi possível observar bactérias com distintas formas e arranjos. Os valores de coliformes a 35°C e as contagens de bactérias aeróbias mesófilas e bolores e leveduras, além de biofilmes encontrados podem ser um indício de inadequadas condições higiênico-sanitárias durante o processamento, transporte ou distribuição dos presuntos.

PALAVRAS-CHAVE: Presunto; microbiologia; biofilme; supermercados.

INTRODUÇÃO

Entende-se por Presunto, o produto cárneo industrializado obtido dos cortes do membro posterior do suíno,

desossado ou não, adicionados de ingredientes, e submetido a um processo térmico adequado, caracterizando-se por apresentar no mínimo 14% de proteína bruta,⁴ pH de 5,9 a 6,1¹³ e Aw (atividade de água) mínima de 0,91,²² tendo Menoncin et al.,¹⁷ obtido valores de até 0,977, bastante susceptível ao crescimento de microrganismos.

O fatiamento de presuntos é uma etapa crucial no controle da estabilidade microbiana desse alimento, pois, a superfície do cortador pode representar uma importante fonte de microrganismos deteriorantes ou patogênicos, o que pode ocasionar, ainda, a formação de biofilme em sua superfície. Biofilme pode ser definido como uma “capa” de microrganismos viáveis ou não-viáveis, ancorados em uma dada superfície através de substâncias poliméricas que lhes conferem capacidade de adesão.⁷ Sua formação inclui as etapas de contato com o microrganismo, colonização com produção de substâncias poliméricas (polissacarídeos, proteínas, etc.) e maturação. Superfícies mal higienizadas podem prover o contato inicial necessário para a adesão microbiana.¹⁹

A manipulação incorreta e a deficiência nos procedimentos voltados à garantia da segurança dos alimentos, além da falta de informação sobre a importância da segurança alimentar, levam à ocorrência de inúmeros casos de infecção e intoxicação,¹¹ como resultado da ingestão de microrganismos patogênicos ou suas toxinas. Ainda, a produção de enzimas proteolíticas por microrganismos contaminantes constitui-se em importante fator de deterioração, afetando a qualidade da textura destes alimentos, aumentando sua perecibilidade, com redução do prazo de validade.¹⁶

A Organização Panamericana de Saúde considera que ainda são escassos os levantamentos na área de vigilância sanitária de alimentos, os que têm sido efetuados freqüentemente constatarem elevado grau de contaminação oriunda do transporte, elaboração e manipulação dos alimentos.¹¹

* Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos – Curso de Doutorado – Departamento de Engenharia de Alimentos – Universidade Estadual de Campinas – 13083-862 – Campinas – SP – Brasil. E-mail: juserio@hotmail.com.

** Programa de Pós-Graduação RENORBIO – Curso de Doutorado – Universidade Estadual do Ceará – 60740-903 – Fortaleza – CE – Brasil.

*** Núcleo Experimental em Ciência e Tecnologia de Alimentos – Universidade Estadual do Ceará – 60740-903 – Fortaleza – CE – Brasil.

**** Curso de Graduação em Ciências Biológicas – Universidade Estadual do Ceará – EMBRAPA Agroindústria Tropical – 60511-110 – Fortaleza – CE – Brasil.

Considerando-se os possíveis riscos de contaminação de alimentos, na fase de distribuição, torna-se necessária à avaliação das condições higiênico-sanitárias dos estabelecimentos, bem como a orientação dos manipuladores de alimentos.²⁰

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de presuntos fatiados refrigerados comercializados em supermercados da cidade de Fortaleza, Ceará, através de métodos convencionais para contagem de microrganismos e observações ultraestruturais por microscopia eletrônica de varredura (MEV).

MATERIAL E MÉTODOS

Material

No período de novembro de 2006 a março de 2007, foram adquiridas 10 amostras de presunto fatiado refrigerado, em 10 lojas de 4 diferentes redes de supermercados de Fortaleza-Ceará. Em todos os supermercados os presuntos coletados eram comercializados em bandejas de polietileno expandido envoltas por filme PVC, dentro do prazo de validade. As amostras foram acondicionadas em recipiente de isopor com gelo, sendo imediatamente encaminhadas para o Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Universidade Estadual do Ceará e analisadas.

Análises Microbiológicas

Para a realização das análises, inicialmente foram preparadas diluições seriadas (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}) a partir de 25g de amostra e 225 ml de água peptonada. A seguir, procedeu-se às determinações de coliformes a 35°C, coliformes a 45°C, bolores e leveduras e bactérias aeróbias mesófilas, seguindo-se as metodologias descritas por Silva et al.²³ e APHA.¹

Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV

As amostras foram seccionadas em pedaços de 0,5 cm² e pré-fixadas em solução de glutaraldeído e paraformaldeído, sendo encaminhadas, a seguir, ao setor de microscopia eletrônica da Embrapa Agroindústria Tropical onde fo-

ram processadas para visualização em MEV de acordo com Kitajima & Leite.¹⁵ O processamento consistiu inicialmente na pós-fixação das amostras em solução de OsO₄ 1% em tampão cacodilato 0,1M pH 7,2. Após a fixação, as amostras foram desidratadas em uma série de soluções de acetona de concentrações crescentes de 30, 50, 70, 90 e 100%, e secas em um aparelho de secagem, da marca Emitech, modelo K 850, ao ponto crítico. A seguir, as amostras foram montadas em "stubs" e cobertas com uma fina camada de ouro em aparelho de cobertura de ouro, da marca Emitech, modelo K 550, de onde foram encaminhadas ao microscópio eletrônico de varredura Zeiss DSM940A, o qual foi ajustado para uma voltagem de aceleração de 10 KV. As imagens foram capturadas e digitalizadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análises Microbiológicas

Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 1. De acordo com os dados tabulados as amostras apresentaram contagens de bactérias aeróbias mesófilas de 10^5 a 10^8 UFC/g, enquanto as contagens de bolores e leveduras foram de 10^5 UFC/g em todos os presuntos analisados. Nestas amostras também foram detectados coliformes a 35°C, variando de 7 a ≥ 2400 NMP/g, não sendo constatada a presença de coliformes a 45°C.

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As eletromicrografias obtidas após visualização das amostras de presunto processadas estão mostradas na Figura 1. Observa-se que a superfície do presunto mostra-se cheia de irregularidades e em certas áreas, fibrosa, típica da estrutura muscular de produtos cárneos (Figuras 1A e 1C). As figuras 1B e 1D mostram a presença de um espesso biofilme recobrendo a superfície do presunto. Em maiores aumentos, observa-se que o biofilme é composto por numerosas bactérias e mucilagem, provavelmente exsudada por esses microrganismos (Figuras 2A, 2B e 2C). Sob aumento de 10.000 vezes, as bactérias apresentam-se com distintas formas e arranjos, bacilares e em cocos, em cachos e em cadeias (Figura 2D).

Tabela 1 – Caracterização microbiológica de presunto fatiado refrigerado.

Redes de supermercado	Bactérias aeróbias mesófilas (UFC/g)	Bolores e leveduras (UFC/g)	Coliformes a 35 °C (NMP/g)	Coliformes a 45 °C (NMP/g)
Loja A	10 ⁵	10 ⁵	7	Ausente
Loja B	10 ⁵	10 ⁵	11	Ausente
Loja C	10 ⁵	10 ⁵	<3	Ausente
Loja D	10 ⁵	10 ⁵	>2400	Ausente
Loja E	10 ⁶	10 ⁵	>2400	Ausente
Loja F	10 ⁶	10 ⁵	>2400	Ausente
Loja G	10 ⁶	10 ⁵	210	Ausente
Loja H	10 ⁶	10 ⁵	210	Ausente
Loja I	10 ⁸	10 ⁵	1100	Ausente
Loja J	10 ⁵	10 ⁵	210	Ausente

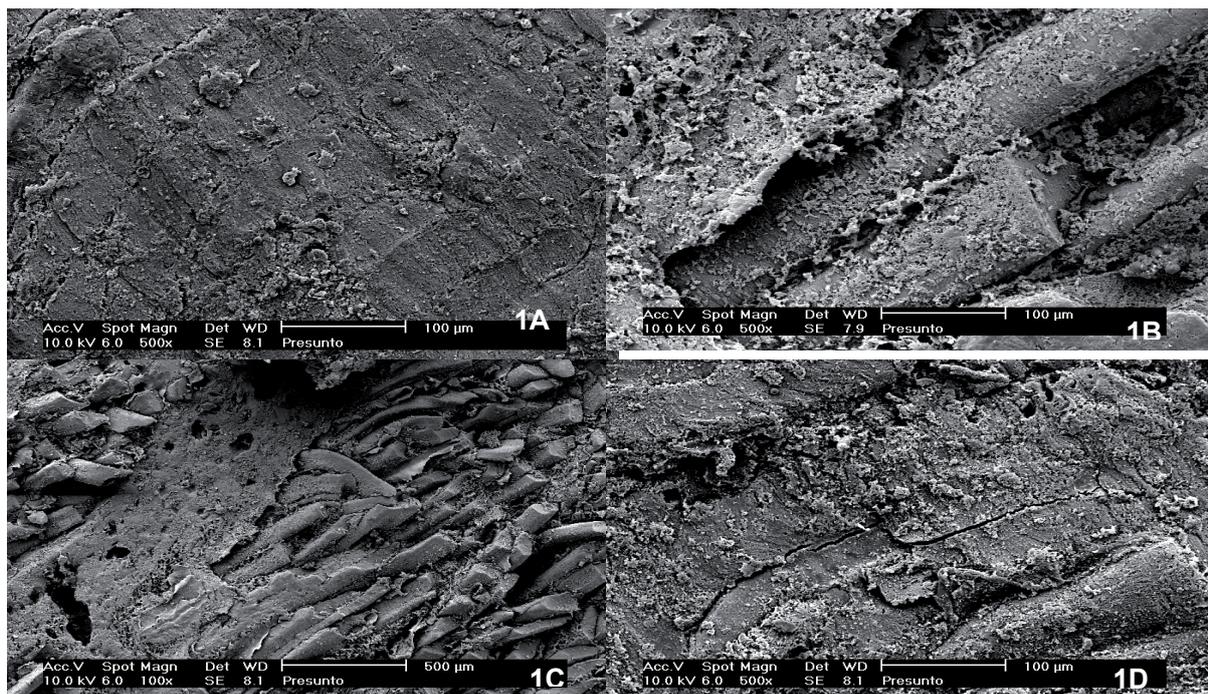


FIGURA 1 – Eletromicrografias obtidas de amostras de presunto em MEV. Superfície da amostra (1A) – aumento de 500X. Observação de biofilme sobre superfície (1B) – aumento de 500X. Fibras (1C) – aumento de 100X. Mucilagem (1D) – aumento de 500X.

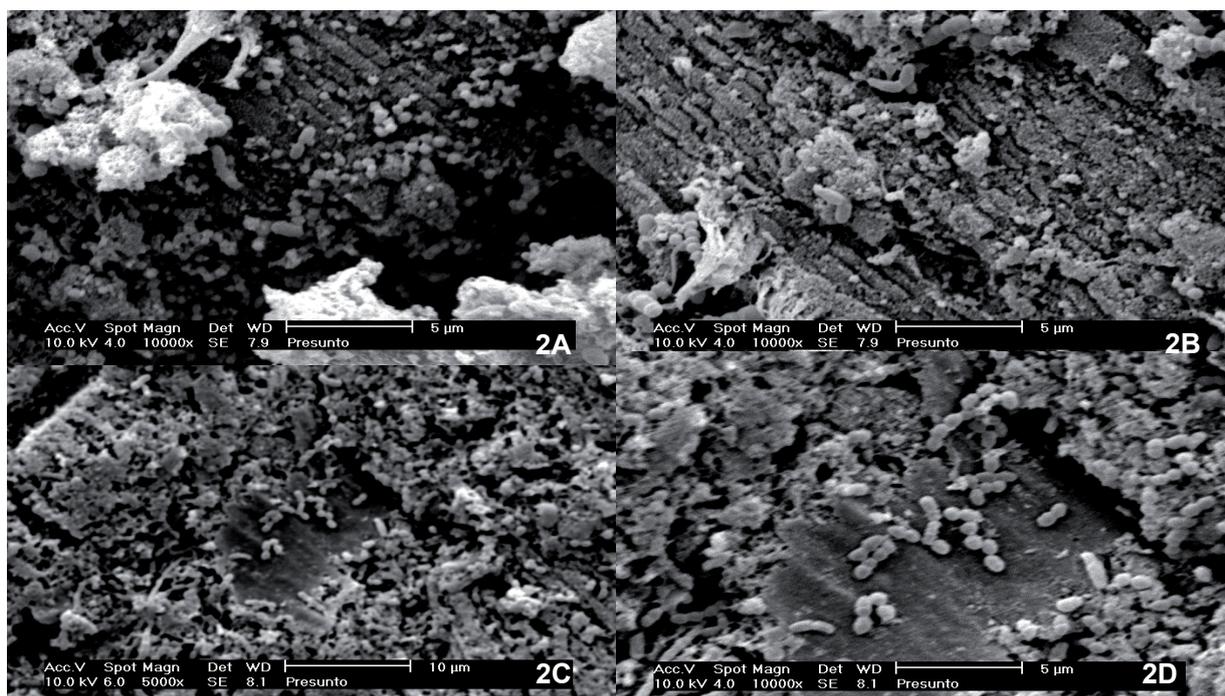


FIGURA 2 – Eletromicrografias de amostras de presunto em MEV. Detalhe do biofilme (2A e 2B) – aumento de 10.000X. Observação de bactérias (2C) – aumento de 5.000X. Observação de bactérias (2D) – aumento de 10.000X.

DISCUSSÃO

Os presuntos atenderam aos padrões estabelecidos pela legislação brasileira vigente,³ com relação aos coliformes a 45 °C. Esta legislação não estabelece padrões

para bactérias aeróbias mesófilas e bolores e leveduras. No entanto, Menoncin et al.,¹⁷ avaliando amostras de presunto cozido com fibra de trigo considerou adequada para o consumo apenas as que apresentassem contagens máximas de bactérias 10^2 UFC/g.

Segundo Franco & Landgraf,¹⁰ contagens elevada de bactérias aeróbias mesófilas em alimentos perecíveis pode indicar que houve condições inadequadas de temperatura durante o tempo de armazenamento, possibilitando a multiplicação de bactérias patogênicas ou deteriorantes.

Coliformes a 35°C, bactérias aeróbias mesófilas e bolores e leveduras são microrganismos indicadores da qualidade sanitária dos alimentos. A presença destes microrganismos pode indicar a ocorrência de patógenos ou a deterioração potencial do alimento.¹⁰ Portanto, as contagens desses microrganismos nos presuntos analisados podem indicar condições sanitárias inadequadas durante a elaboração, o armazenamento e o fracionamento. Vale ressaltar a grande susceptibilidade dos presuntos durante o fracionamento, sendo o equipamento fatiador e o manipulador as principais fontes de contaminação. Além disso, a multiplicação de bactérias aeróbias pode ser favorecida após o fatiamento em virtude da maior superfície de contato com o oxigênio.

Araújo et al.,² analisando alimentos embutidos ("Blanquet" de peru e presunto de peru) constatou a ausência de *Listeria* sp. nos produtos inteiros, enquanto foi detectada uma grande quantidade deste microrganismo nos produtos fatiados, sugerindo a possibilidade de uma manipulação inadequada dos produtos no momento do fatiamento e estocagem, fato que implica necessidade de um maior controle da higiene, nos estabelecimentos em que se realiza o fracionamento e venda de produtos cárneos industrializados prontos para o consumo, através da implementação de boas práticas de manipulação.

A elaboração do presunto segundo as Boas Práticas de Fabricação, associada à manutenção da refrigeração durante o transporte e armazenamento, bem como as boas condições higiênico-sanitárias das instalações, fatiador e manipulador nos locais de distribuição podem assegurar a qualidade microbiológica do produto.

A presença de biofilmes, detectada através de MEV em alimentos, tem sido bastante relatada na literatura.^{9,21} Carmichael et al.⁵ estudaram a formação de biofilmes em alimentos e superfícies das indústrias processadoras e concluíram que quanto mais microrganismos presentes nas superfícies de equipamentos, maior a formação de biofilmes. Observaram ainda que, o biofilme servia como abrigo para microrganismos patogênicos como *Listeria monocytogenes*.

A observação microscópica de alimentos revela sua microestrutura e pode constituir-se em um atributo de qualidade, sendo que em carnes e produtos cárneos esta avaliação tem sido evidenciada em inúmeros trabalhos.^{6,12,14,16,24,26} A ação de enzimas proteolíticas endógenas ou exógenas torna-se responsável pela perda de elasticidade e enrijecimento em grande variedade de carnes, portanto, a ação microbiana é importante fator de deterioração em produtos cárneos.¹⁶

Sotelo et al.²⁵ usaram MEV para estudar as mudanças microestruturais ocorridas em carne de coelho durante a estocagem *postmortem*. Córdoba et al.⁸ e Monin et al.¹⁸

utilizaram microscopia óptica e eletrônica, respectivamente, para estudar as mudanças estruturais ocorridas após o processamento de presunto curado e observaram reações proteolíticas intimamente relacionadas à concentração de sal, atividade de água e concentração microbiana.

CONCLUSÕES

Os presuntos analisados apresentaram adequada qualidade microbiológica em relação aos coliformes a 45°C, entretanto os valores de coliformes a 35°C e as contagens de bactérias aeróbias mesófilas e bolores e leveduras podem ser um indício de inadequadas condições higiênico-sanitárias durante o processamento, transporte ou distribuição. O presunto fatiado, mesmo dentro do prazo de validade, mostrou-se como um alimento extremamente susceptível ao desenvolvimento de biofilmes bacterianos. O biofilme formado apresentou substâncias mucilaginosas e grande diversidade microbiana, que pode ter se originado durante o fatiamento da peça e poderá comprometer a qualidade sensorial do produto analisado. Portanto, a etapa de fatiamento pode ser considerada um ponto crítico determinante para o desenvolvimento de biofilmes e conseqüentemente para o crescimento de microrganismos patogênicos e deteriorantes no presunto.

SERIO, J; MUNIZ, C. R.; FREITAS, C. A. S.; LIMA, J. R; SOUZA NETO, J. A. Microscopic and microbiological evaluation of refrigerated slices of ham. *Alim.Nutr.*, Araraquara, v.20, n.1, p. 135-139, jan./mar. 2009.

■ **ABSTRACT:** Sausage-type products and hams are widespread consumed food. Their physico-chemical characteristics associated to inadequate manipulation and storage make them a potential food-borne diseases source. This work aimed to evaluate the microbiological and microscopic quality of sliced hams commercialized in Fortaleza, Ceará. Samples from four great chains of supermarkets in Fortaleza-Ceará were collected and examined for mesophilic bacteria count, yeasts and mould count, MPN of coliforms and observed under scanning electron microscopy (SEM). Mesophilic bacteria counts ranged from 10⁵ and 10⁸ CFU/g and a population of 10⁵ CFU/g was found in the counts of and yeasts and mould. Coliforms at 35° C varied from 7 to 2400 MPN/g and coliforms at 45° C were not detected. The eletromicrographs revealed the presence of a thick biofilm on the hams surface, constituted by bacteria and mucilage. Under larger magnifications (10.000X), distinct sizes and shapes of bacteria were observed. Microbiological and microscopic data indicate inadequate hygienic-sanitary conditions during the processing, transportation and distribution of the hams.

■ **KEYWORDS:** Ham; microbiology; biofilms; supermarkets.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington, DC, 2001. 676p.
2. ARAÚJO, P. C. C. et al. Ocorrência de *Listeria monocytogenes* em produtos de carne de peru comercializados na cidade de Niterói-RJ-Brasil. **Acta Sci. Vet.**, v.30, p. 19-25, 2002.
3. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Dispõe sobre os princípios gerais para o estabelecimento de critérios e padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 5 jan. 2007.
4. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução normativa nº 20, de 31 de julho de 2000. Aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade de almôndegas, de apresuntado, de fiambre, de hambúrguer, de quibe, de presunto cozido e de presunto. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 3 ago. 2000. Seção 1, p. 7.
5. CARMICHAEL, I. et al. Bacterial colonization and biofilm development on minimally processed vegetables. **J. Appl. Microbiol. Symp. Suppl.**, v. 85, p. 45-51, 1999.
6. CHIUNG, Y.; STROMER, M. ; ROBSON, R. Effect of electrical stimulation on *postmortem* titin, nebulina, desmin, and troponin-T degradation and ultrastructural changes in bovine *longissimus* muscle. **J. Anim. Sci.**, v. 74, p. 1563-1575, 1996.
7. CHMIELEWSKI, R. A. N.; FRANK, J. F. Biofilm formation and control in food processing facilities. **Compr. Rev. Food Sci Food Saf.**, v. 2, p. 22-32, 2003.
8. CÓRDOBA, J.J. et al. Hydrolysis and loss of extractibility of proteins during ripening of Iberian Ham. **Meat Sci.**, v. 37, p. 217-227, 1994.
9. ELLS, T. C.; HANSEN, L.T. Strain and growth temperature influence *Listeria* spp. attachment to intact and cut cabbage. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 111, p. 34-42, 2006.
10. FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. Rio de Janeiro: Atheneu, 1996. cap. 3, p. 27-31.
11. FREON, J. D.; REOLON, J. I. Qualidade dos produtos derivados de carne e leite, industrializados pelas agroindústrias de Frederico Westphalen, RS. **Hig. Alim.**, v. 21, p. 53-59, 2006.
12. GORDON, A.; BARBUT, S. Effect of chemical modifications on the stability, texture and microstructure of cooked meat batters. **Food Struct.**, v. 11, p. 133-146, 1992.
13. JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6.ed. Porto Alegre: ArtMed, 2005. cap. 3, p. 51-72.
14. KATSARAS, K.; BUDRAS, K. D. The relationship of the microstructure of cooked ham to its properties and quality. **Lebensm. Wiss. und Technol.**, v. 26, p. 229-234, 1993.
15. KITAJIMA, E. W.; LEITE, B. **Curso introdutório de microscopia eletrônica de varredura**. 2.ed. Piracicaba: Núcleo de Apoio à Pesquisa em Microscopia Eletrônica Aplicada à Pesquisa Agropecuária/ESALQ, 1999. 60p.
16. LARREA, V. et al. Microstructural changes in Teruel dry-cured ham during processing. **Meat Sci.**, v. 76, p. 574-582, 2007.
17. MENONCIN, S. et al. Avaliação da flora microbiana presente no presunto cozido com fibra de trigo. **Hig. Alim.**, v. 19, p. 77-80, 2005.
18. MONIN, G. et al. Chemical and structural changes in dry-cured hams (Bayones Hams) during processing and effects of the dehairing technique. **Meat Sci.**, v. 47, p. 29-47, 1997.
19. OLIVEIRA, L. A. T. et al. Biofilme na indústria de alimentos. **Hig. Alim.**, v. 20, p. 33-35, 2006.
20. OLIVEIRA, S. P. et al. Condições higiênico-sanitárias do comércio de alimentos do município de Ouro Preto, MG. **Hig. Alim.**, v. 19, p. 26-31, 2005.
21. PLANCHONA, S. et al. Surface properties and behaviour on abiotic surfaces of *Staphylococcus carnosus*, a genetically homogeneous species. **Food Microbiol.**, v. 24, p. 44-51, 2007.
22. SETOR1.COM. Tabela 1: atividade de água de alguns alimentos e suscetibilidade à deterioração. Disponível em: http://www.setor1.com.br/analises/aw/tab_aw.htm. Acesso em: 28 jan. 2007.
23. SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 2.ed. São Paulo: Varela, 2001. 229p.
24. SILVA, T.J.P. et al. Effect of heating rate on shortening, ultrastructure and fracture behavior of prerigor beef muscle. **Meat Sci.**, v. 33, p. 1-24, 1993.
25. SOTELO, I. et al. Microstructural changes in rabbit meat wrapped with *Pteridium aquilinum* during *postmortem* storage. **Meat Sci.**, v. 66, p. 823-829, 2004.
26. TAYLOR, R. et al. Is z-disk degradation responsible for *postmortem* tenderization? **J. Anim. Sci.**, v. 73, p. 1351-1367, 1995.