



PESQUISA DE COLIFORMES TOTAIS E TERMOTOLERANTES EM AMOSTRAS DE SALAME PRODUZIDAS E COMERCIALIZADAS EM FEIRA LIVRE DE SINOP-MT

Letícia Gabriela Krug¹, Guilherme Garrido²

RESUMO

Com a propagação de seu consumo oriunda da colonização italiana, o salame se tornou, em todo o Brasil, um dos produtos cárneos mais fabricados e consumidos. Sua origem remonta à época em que era necessário conservar alimentos crus, como as carnes, misturados com sal e ervas aromáticas. A sua fabricação ocorre com carnes derivadas de suínos, bovinos ou ambos numa mesma peça. De acordo com o produto final desejado, a peça de salame pode ou não conter gordura, ser defumada ou curada. Este estudo pretendeu demonstrar, de forma prática, a presença ou ausência de coliformes totais e termotolerantes em amostras de salame produzidas e comercializadas numa feira livre que ocorre em Sinop/MT, como indicativo de observância das normas de Boas Práticas de Fabricação. A metodologia de pesquisa empregada foi a do Número Mais Provável de coliformes totais e fecais por grama de alimento (NMP/g), seguindo a técnica dos três tubos. Os resultados obtidos foram satisfatórios, sendo que apenas 50% das amostras apresentaram resultados positivos para coliformes totais e 100% das amostras não obtiveram crescimento de coliformes termotolerantes, estando dentro das normas preconizadas pela legislação vigente para carnes defumadas. Conclui-se que todas as amostras estão adequadas ao consumo humano, entretanto a atenção voltada à manufatura deste alimento deve ser indispensavelmente integral, para que não haja condições propícias ao crescimento de qualquer microrganismo.

Palavras-chave: Boas práticas de fabricação, Produtos cárneos, Número mais provável.

RESEARCH OF TOTAL AND FECAL COLIFORMS IN SAMPLES OF SALAMI PRODUCED AND MARKETED AT PUBLIC MARKETS IN THE CITY OF SINOP-MT

ABSTRACT

With the spread of consumption coming from the Italian colonization, salami became, in Brazil, one of the most manufactured and consumed meat products. Its origin dates back to the period when it was necessary to conserve raw foods such as meat, blended with salt and fragrant herbs. Its manufacturing occurs with meat derived from pigs, cattle or both in one piece. According to the desired final product, the sausage piece may or may not contain fat, be cured or smoke-dried. This study intended to demonstrate, in a practical way, the presence or absence of total and fecal coliforms in samples of salami produced and marketed in a public market that takes place in Sinop/MT, as an indication of observance to the rules of Good Manufacturing Practices. The research methodology employed was the most probable number of total and fecal coliforms per gram of food (MPN/g), with the three-tube technique. The results were satisfactory, with only 50% of the samples tested positive for

¹Graduanda em Biomedicina, IUNI Educacional, UNIC Sinop Aeroporto, Sinop, MT, Brasil. E-mail: tyta.krug@gmail.com; ²Biólogo, MBA em Gestão e Perícia Ambiental, Professor de Análises Ambientais, IUNI Educacional, UNIC Sinop Aeroporto, Sinop, MT, Brasil. E-mail: guilhermegarrido.gg@gmail.com.

total coliform, and 100% of the samples did not present growth of fecal coliform, being within the standards established by law for smoked meats. It is concluded that all the samples are suitable for human consumption, however the attention given to its manufacturing must be indispensably full-time, in order to avoid creating conditions for microorganisms to grow.

Keywords: Good manufacturing practices, Meat products, Most probable number.

1. INTRODUÇÃO

A alimentação humana provém de fontes animais e vegetais (Jay, 2005). Uma das formas de consumo de produtos de origem animal é o produto cárneo processado que, segundo Pereda (2005), é o produto alimentício preparado total ou parcialmente com carnes, miúdos ou gorduras, e subprodutos comestíveis precedentes dos animais do abate ou outras espécies, em cuja classificação enquadra-se o salame. Segundo a Instrução Normativa n° 22, de 31 de julho de 2000, do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o salame é caracterizado pela sua produção com carne suína ou suína e bovina, adicionado de toucinho, condimentos, embutido em envoltórios naturais ou artificiais, além de ser curado, fermentado, maturado, defumado ou não e dessecado.

Pereda (2005) define a origem do salame, assim como a de outros embutidos cárneos, como ocorrida por volta de 1500 a.C, como uma forma de preservação dos alimentos da deterioração, adicionando-se à carne picada sal e ervas aromáticas. Percebeu-se que essas etapas conferiam um sabor agradável ao alimento, então sua produção foi difundida e aperfeiçoada pelos romanos, que se utilizavam das tripas dos animais abatidos para embalar a mistura.

Dentro deste quadro, é interessante considerar as características teciduais que influenciam o crescimento microbiano em produtos cárneos. Franco e Landgraf (2008) definem que existem vários parâmetros determinantes para a qualidade de um alimento, entretanto aqueles que definem as suas características microbiológicas são os mais significativos. Avaliar a qualidade microbiológica de um produto é uma forma de determinar as condições do seu processamento, armazenamento e comercialização, além dos possíveis riscos à saúde da população.

Segundo Jay (2005), existem fatores intrínsecos e extrínsecos que determinam quais e como os microrganismos crescem e se proliferam em determinados alimentos. Os fatores intrínsecos, como pH, umidade, potencial de oxirredução, nutrientes e estruturas biológicas são características inerentes ao alimento. Já os parâmetros extrínsecos são as propriedades relativas ao meio onde o alimento está armazenado ou conservado.

A carne, por apresentar alta atividade de água, ser rica em substâncias nitrogenadas, minerais, fatores de crescimento e pH favoráveis, torna-se um dos meios de cultura mais adequados para o crescimento microbiano (FRANCO; LANDGRAF, 2008). Desta forma, a necessidade de se eliminar esses fatores intrínsecos é determinante para reduzir ou eliminar a atividade microbiana. Por isso, a salga, secagem, cura e fermentação pelos quais o salame tradicionalmente passa são métodos muito conhecidos e utilizados para diminuir os riscos de contaminação microbiana.

Entretanto, ainda existem os fatores extrínsecos ao alimento, os quais são definidos desde o momento de abate do animal, seu processamento e consumo. Tais fatores, quando não considerados e eliminados através de Boas Práticas de Fabricação, levam à contaminação microbiana, das quais podemos citar os microrganismos indicadores. Este

termo pode ser aplicado para qualquer organismo cuja presença ou ausência demonstre indiretamente a história da amostra, no que diz respeito à sua confecção, e é mais utilizado para avaliar segurança e higiene alimentar (FORSYTHE, 2013). Nesta aplicação se enquadra o índice de coliformes totais e fecais. Fazem parte do grupo de coliformes totais as bactérias pertencentes aos gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella* (Brandão, 2012). Para Levinson (2010), apenas a *E. coli* é um organismo exclusivamente presente no intestino grosso, enquanto que as outras estão também presentes no meio ambiente. A *E. coli* é diferenciada de outros coliformes pela sua característica capacidade de crescer a 44,5°C e suas cepas verde-metálicas quando cultivada em ágar EMB (Eosine Methylene Blue), sendo assim chamada de coliforme termotolerante ou fecal.

Além de serem microrganismos indicadores, os coliformes também são patogênicos. Brandão (2012) afirma que se deve observar que cada espécie de microrganismo envolvido em infecções tem seu próprio mecanismo de ação, e o conhecimento dessas variáveis é imprescindível para estabelecer medidas de controle práticas e efetivas.

Este estudo pretende demonstrar, de forma prática, a presença ou ausência de coliformes totais e termotolerantes em amostras de salame produzidas em Sinop-MT, como indicativos de contaminação por manuseio incorreto ou mau processamento do alimento em questão, e discutir a respeito dos resultados encontrados, se eles condizem com a realidade da legislação vigente para presença de microrganismos no salame, além de comparar tais resultados com outros estudos semelhantes.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram adquiridas, em feira livre, seis amostras de três produtores de salame da cidade de Sinop, sendo duas amostras de cada produtor. Todos os produtores têm registro de Inspeção Sanitária da Secretaria Municipal de Saúde de Sinop. Após a coleta, as amostras foram transportadas em caixa de isopor até o local da preparação das alíquotas para análise. Cada amostra foi devidamente identificada, pesada, despojada de seu envoltório e triturada com o auxílio de pistilo e almofariz. A técnica de análise empregada foi a de Número Mais Provável de coliformes por grama de alimento (NMP/g), como a relatada por Silva et al, 2007. Todas as análises foram realizadas no Laboratório de Microbiologia da UNIC – Universidade de Cuiabá, *campus* Aeroporto, no mês de outubro de 2015.

Para o teste presuntivo, foram preparados seis conjuntos (correspondentes ao número de amostras) formados por um tubo de Erlenmeyer com 225 mL de água peptonada 0,1% (H₂O_p), três tubos de concentração dupla de Caldo Lactosado (10 mL em cada tubo) com tubo de Durhan invertido em seu interior, seis tubos de concentração simples de Caldo Lactosado (10 mL em cada tubo) com tubo de Durhan invertido em seu interior, seis pipetas volumétricas de 10 mL e seis pipetas volumétricas de 1mL. Após o preparo dos materiais para análise, todos foram autoclavados a 121°C por 20 minutos, para a completa eliminação de possíveis contaminantes (bactérias, fungos, esporos, etc).

Para as diluições, foram pesados 25g de cada amostra em balança de precisão, sendo cada amostra posteriormente diluída nos tubos com 225 mL de água peptonada (diluição de 1:10 – concentração 10⁻¹). Feita a sua homogeneização, foram pipetados os volumes requeridos para cada diluição nos seus nove tubos correspondentes: uma série de três tubos contendo diluição de 1:100 (10 mL de caldo em concentração dupla + 10 mL de amostra diluída - concentração de 10⁻²), uma série de três tubos contendo diluição de 1:1000 (10 mL de caldo + 1 mL de amostra diluída - concentração de 10⁻³) e uma série de três tubos contendo diluição de 1:10000 (10 mL de caldo + 0,1 mL de amostra diluída - concentração

de 10^{-4}). Depois de inoculados, todos os tubos foram levados à estufa, a 35°C por 24-48h.

Para o teste confirmativo, foram preparados tubos preenchidos com 10 mL de caldo Verde Brilhante Bile 2% e tubos de Durhan invertidos, também devidamente autoclavados a 121°C por 20 minutos. O inóculo dos tubos confirmativos foi feito a partir do repique dos tubos presuntivos que positivaram, ou seja, aqueles que, após incubação a 35°C por 48h apresentaram turbidez no meio e formação de gás no interior do tubo de Durhan. Os tubos, antes da inoculação, foram identificados com as siglas das amostras e dos tubos precursores (CD para concentração dupla, CS 1/10 para concentração simples de 1:10 e CS 1/100 para concentração simples de 1:100). Depois desse processo, os tubos de caldo VBB foram incubados a 37°C por 24-48h.

Para os tubos com Verde Brilhante Bile 2% que depois de inoculados e incubados apresentaram turbidez e formação de gás no interior do tubo de Durhan, foram preparados tubos para prova de presença ou ausência de *Escherichia coli*, contendo 10 mL de caldo EC, além de placas de Petri contendo ágar Eosina Azul de Metileno, ou EMB, meio seletivo para crescimento da bactéria em questão. Todos os materiais foram autoclavados a 121°C por 20 minutos antes da inoculação. O procedimento deu-se através do repique dos tubos de Verde Brilhante Bile 2% positivos, sendo a semeadura das placas feitas através da técnica de esgotamento, e a incubação foi feita a 45°C por 24-48h.

As análises estatísticas e tabulação dos resultados foram feitas com auxílio do *software* Microsoft Office Word 2010.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados encontrados nas análises realizadas estão expressos na Tabela 1. No presente estudo, foram encontrados coliformes totais em 50% das amostras analisadas, sendo estas dos fabricantes 2 e 3. Para os testes confirmativos de coliformes a 45°C , 100% das amostras resultaram em $< 3,0$ NMP/g de alimento, com intervalo de 95% de confiança, estando estes valores dentro do recomendado pela RDC n° 12 de 02 de janeiro de 2001. Vale ressaltar que a presente resolução não determina valores de tolerância para coliformes totais, somente fecais.

Tabela 1: Presença de coliformes totais e fecais em amostras de salame. 2015.

Amostra	Produtor	Coliformes totais (NMP/g)	Coliformes fecais (NMP/g)
Amostra A	1	$< 3,0$ NMP/g	$< 3,0$ NMP/g
Amostra B		$< 3,0$ NMP/g	$< 3,0$ NMP/g
Amostra C	2	$< 3,0$ NMP/g	$< 3,0$ NMP/g
Amostra D		13 NMP/g	$< 3,0$ NMP/g
Amostra E	3	> 1100 NMP/g	$< 3,0$ NMP/g
Amostra F		3,0 NMP/g	$< 3,0$ NMP/g

Limite para coliformes a $45^{\circ}\text{C}/\text{g}$: $10^3/\text{g}$ (Brasil, 2001).

Fonte: dados da pesquisa

Hoffmann et al (1997), em estudo realizado com 15 amostras de salame produzidos em São José do Rio Preto/SP, concluiu que duas destas (13,3%) apresentavam resultados positivos para coliformes fecais, sendo uma de 4 NMP/g e outra de 23 NMP/g, porém ainda dentro da normativa preconizada pela legislação federal.

Em pesquisa semelhante, realizada por Thomé et al (2014) com 15 amostras de cinco fabricantes de salame distintos no município de Francisco Beltrão/PR, duas amostras apresentaram contagens de coliformes a 45°C de, respectivamente, $4,9 \times 10^3$ e $3,4 \times 10^3$ UFC/g. Os autores concluíram que tais amostras não estavam dentro dos padrões normativos da RDC nº 12, de janeiro de 2001, e o fato de 40% das marcas apresentarem crescimento microbiano a 45°C é preocupante, no que diz respeito à qualidade higiênico-sanitária durante o processamento desse alimento.

Já em pesquisa realizada por Salvatori et al (2003), com 93 amostras de embutidos, sendo 70 embutidos frescos e 23 embutidos maturados, coletados no mercado público de Porto Alegre/RS, as autoras constataram que as 23 amostras de embutidos maturados apresentavam contagens de coliformes a 45°C abaixo de 30 UFC/g, e 14 amostras de embutidos frescos estavam fora dos padrões sanitários, apresentando crescimento de mais de 500 UFC/g de coliformes fecais. Entretanto, como as próprias autoras citam em seu trabalho, no momento em que as coletas foram realizadas, em 1998, a legislação vigente para coliformes totais e fecais em embutidos cárneos era a Portaria nº 451, de 19 de setembro de 1997, a qual determinava que o limite máximo para coliformes fecais fosse $5,0 \times 10^2$ /g. Considerando-se a revogação de tal portaria, implantação da RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001, e que esta resolução determina que o limite máximo para coliformes fecais em embutidos cárneos seja de 10^3 /g, somente cinco amostras estariam inaptas ao consumo.

Embora as indústrias e os órgãos reguladores trabalhem para garantir que todos os alimentos sejam seguros e saudáveis, a isenção completa dos riscos é um objeto inatingível (Forsythe, 2013). Constantemente, fabricantes e vigilantes sanitários devem, em conjunto, melhorar as condições sanitárias dos ambientes de produção do salame, sejam eles industriais ou artesanais. Consumidores tem se tornado críticos e exigentes quanto à qualidade microbiológica de muitos alimentos, e a partir do momento em que tomam conhecimento dos riscos que a contaminação microbiana, seja ela de qualquer natureza, apresenta ao consumo, a atenção dada a produtos com manufatura essencialmente humana, como os embutidos e mais especificamente o salame, se torna frequente.

4. CONCLUSÕES

Como todos os produtores analisados têm certificação expedida pela Vigilância Sanitária municipal, infere-se que seus processos estão adequados à fabricação de produtos qualificados para o consumo humano, no que se refere ao índice de coliformes totais e fecais. Entretanto, embora todas as amostras analisadas não tenham apresentado uma contaminação microbiana significativa para os padrões alimentares, é interessante considerar que esses resultados não são permanentes. O abate, o corte, a moenda, a mistura das carnes com os aditivos que lhes conferem o sabor característico do salame, a embalagem e a comercialização dos produtos devem ser etapas minuciosamente caracterizadas e fundamentadas nos princípios de Boas Práticas de Fabricação. Deve-se, portanto, alertar e capacitar continuamente os produtores de salame do município quanto ao seguimento dessas normas, para que os produtos por eles fornecidos estejam sempre em conformidade com as legislações vigentes.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. (2001). *Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001*.

http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/9cbab600417aa4088799e722d1e56fc9/anexos/res0012_02_01_2001.pdf?MOD=AJPERES. Acesso em 16 de outubro de 2015.

BRANDÃO, W.T. M. (2012). *Microbiologia*. 1 ed. Curitiba: Livro Técnico.

FORSYTHE, S.J. (2013). *Microbiologia da segurança dos alimentos*. 2 ed. Porto Alegre: Artmed.

FRANCO, B.D.G.M; LANDGRAF, M. (2008). *Microbiologia dos Alimentos*. 1 ed. São Paulo: Atheneu.

HOFFMANN, F.L; GARCIA-CRUZ, C.H; VINTURIM, T.M; CARMELLO, M.T. (1997). Qualidade microbiológica de amostras de salame. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, 15(1):57-64.

JAY, J.M. (2005). *Microbiologia de alimentos*. 6 ed. Porto Alegre: Artmed.

LEVINSON, W.(2010). *Microbiologia médica e Imunologia*. 10 ed. Porto Alegre: Artmed.

MINISTÉRIO da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2000). *Instrução Normativa nº 22 de 31 de julho de 2000*. <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/servlet/VisualizarAnexo?id=1572> Acesso em 15 de outubro de 2015.

PEREDA, J.A.O. (2005). *Tecnologia de alimentos: alimentos de origem animal*. 1 ed. Porto Alegre: Artmed.

SALVATORI, R.U; BESSA, M.C; CARDOSO, M.R.I. (2003). Qualidade sanitária de embutidos coletados no mercado público central de Porto Alegre-RS. *Ciência Rural*, 33(4):771-773.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A; SILVEIRA, N.F.A. (2007). *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos*. 3 ed. São Paulo: Varela.

THOMÉ, B.R; PEREIRA, M.G; TOGNON, F.A.B; MASSAROLLO, M.D; FOLLADOR, F.A.C. (2014). Avaliação físico-química e microbiológica de salame tipo italiano.XX *Congresso Brasileiro de Engenharia Química*. Florianópolis-SC.