

## Efeito da radiação gama sobre a contaminação da carne resfriada de cordeiro Santa Inês

### Effects of gama radiation on the bacterial contaminants of the refrigerated Santa Inês lamb meat

RIALA6/1507

Fernando Joaquim Xavier ALVES\*, Teófilo José Pimentel da SILVA, Robson Maia FRANCO

\*Endereço para correspondência: Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA), Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Rua Vital Brasil Filho, 64, Santa Rosa, Niterói, RJ, Brasil, CEP 24230-340.

E-mail: feralves@vm.uff.br

Recebido: 27.02.2012 – Aceito para publicação: 30.09.2012

#### RESUMO

A irradiação é uma tecnologia alternativa para preservar alimentos, capaz de aumentar a segurança alimentar para o consumidor. Trinta e seis amostras de cortes de perna ou pernil com osso, congeladas a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ , de seis cordeiros Santa Inês, abatidos em matadouro frigorífico sob inspeção estadual, foram analisadas. Essas amostras foram embaladas a vácuo, sendo 12 amostras controle, 12 tratadas com radiação gama na dose de 3 kGy e 12 com 5 kGy, e armazenadas em temperatura controlada de 0 a  $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Foram realizadas contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicrotróficas e enumeração de *Enterococcus* spp. nos dias 1, 15 e 30 de estocagem, e medição do pH. A análise estatística foi efetuada considerando-se o tratamento e o período de estocagem. Os valores da contagem de psicrotróficas e da enumeração de *Enterococcus* spp. foram maiores nas amostras controle, embora ainda em condições de consumo. Foram demonstrados valores de pH dentro dos limites estabelecidos pela legislação vigente. O uso de radiação foi eficiente para tornar a carne mais segura e minimizar a proliferação bacteriana. O efeito da radiação não foi dose-dependente, e a exposição à radiação gama na dose de 3 kGy foi a mais indicada pelas mínimas alterações sensoriais no produto.

**Palavras-chave.** cordeiros, radiação gama, análises microbiológicas, qualidade da carne.

#### ABSTRACT

Food irradiation is used as an alternative procedure for preserving food, and to increase the food safety. Thirty-six samples of frozen vacuum-packed cuts of leg with bone (at  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), from six Santa Inês lambs slaughtered in a slaughterhouse under state inspection, were used in this experiment. These samples divided into three groups, being 12 control samples, 12 samples irradiated with 3 kGy and 12 with 5 kGy. The samples were maintained refrigerated at 0 to  $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ . The pH measurement, psychrotrophic heterotrophic aerobic bacteria plate counting and enumeration of *Enterococcus* spp. were carried out at day one, 15 days and 30 days of storage. The treatment and the storage period were included for statistical evaluation. The psychrotrophic counts and the enumeration of *Enterococcus* spp. showed higher values in control samples, although still in appropriate conditions for consumption. The range of pH values was within the established consumption limits. Irradiation was efficient, and this procedure promoted meat safety and minimized the bacterial growth. The radiation effect was not dose-dependent, therefore, the exposure to gamma radiation at 3 kGy dose would be the most suitable for minimizing the sensorial alterations of the product.

**Keywords.** lamb, irradiation, microbiological analysis, meat quality.

## INTRODUÇÃO

O ovino foi um dos primeiros animais a serem domesticados, sendo encontrado em diferentes áreas geográficas do mundo. O ovino da raça Santa Inês é de origem nordestina, oriunda do cruzamento das raças Bergamácia com a Crioula e Morada Nova, de grande porte e prolífera, bem adaptada aos climas quentes e com grande potencial para carne e pele<sup>1</sup>.

Por outro lado, o crescimento do número de casos de doenças transmitidas por alimentos por meio de agentes etiológicos nos últimos anos constitui uma preocupação das agências sanitárias e das indústrias de carne. A irradiação é uma tecnologia alternativa para preservação de alimentos, sendo adotada mundialmente. A legislação brasileira define irradiação de alimentos como o processo físico de tratamento que consiste em submeter o alimento, já embalado ou a granel, a doses controladas de radiação ionizante, com finalidades sanitárias, fitossanitária e/ou tecnológica<sup>2</sup>. Doses de 2 a 10 kGy de radiação ionizante na carne suína e de outros animais podem retardar o crescimento microbiano, levando a um retardamento na deterioração e putrefação das mesmas. A validade comercial também pode ser estendida pelo uso concomitante de irradiação e armazenagem sob refrigeração<sup>3</sup>.

A quantidade e o tipo de micro-organismos que se desenvolvem na carne dependem de vários fatores, como condições de abate, estresse dos animais, evisceração correta, entre outros<sup>4</sup>. *Enterococcus* spp. surge com muita importância em alimentos, devido à sua grande resistência a antimicrobianos, promovendo um aumento na proliferação de doenças veiculadas por alimentos, além de se envolverem em infecções hospitalares. São resistentes a baixas temperaturas (-5 °C), mas sua temperatura ótima de crescimento está em torno de 35 °C, o que não inviabiliza o seu crescimento a 0 °C<sup>5</sup>. Em um estudo, foram isoladas trinta amostras positivas para *Enterococcus* spp. em vários produtos, como cama de frango e peru e leite de vaca, resistentes a vários fármacos. Nas amostras, após isolamento com métodos bioquímicos, foram identificadas 25 como *Enterococcus gallinarum* e 9 como *Enterococcus faecalis*, sendo que a maioria foi resistente à vancomicina, gentamicina, streptomina, tetraciclina, etc<sup>6</sup>.

A contagem de bactérias psicrotólicas é muito importante, pois muitas estirpes são responsáveis pela redução da validade comercial de alimentos e, conseqüentemente, sua deterioração. Micro-organismos psicrotóxicos são aqueles capazes de se multiplicar

em alimentos mantidos entre 0 °C e 7 °C, sendo sua temperatura ótima de multiplicação superior a 20 °C<sup>4</sup>. Entre essas bactérias, encontram-se as espécies responsáveis pela deterioração de alimentos cárneos e que, portanto, apresentam grande importância na redução do prazo comercial de alimentos refrigerados<sup>7</sup>. Sob condições tropicais, a carne fresca de cordeiros é altamente susceptível à contaminação microbiana e torna-se imprópria para o consumo após 16 a 18 horas. Quando mantida em temperaturas entre 0 e 3 °C, a deterioração ocorre em poucos dias, devido a multiplicação bacteriana, resultando em limosidade superficial, descoloração e odor desagradável. A irradiação pode reduzir a população bacteriana e aumentar a validade comercial da carne fresca de ovinos<sup>8</sup>.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a eficiência da exposição da carne de cordeiro à radiação gama nas doses de 3 kGy e 5 kGy, com relação às mudanças bacteriológicas (bactérias psicrotólicas e *Enterococcus* spp.) e alterações de pH ocorridas durante sua estocagem sob refrigeração em temperatura controlada de 0-2 °C por 30 dias.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no período de agosto a setembro de 2008, usando seis cordeiros abatidos aos seis meses de idade em um matadouro frigorífico sob inspeção estadual – SIE/RJ-553. Após o resfriamento das carcaças, as amostras de pernas ou pernis foram removidas e congeladas por 24 horas. As peças foram então serradas com serra fita, em porções de carne com osso na espessura de 5 a 10 cm, identificadas e embaladas individualmente a vácuo e acondicionadas em caixas isotérmicas com gelo e transportadas diretamente para o Laboratório de Tecnologia de Carnes e Derivados da Universidade Federal Fluminense, sendo mantidas à temperatura de congelamento (-18 °C) até o momento da irradiação.

Foram separados 36 cortes, sendo 12 irradiados com radiação Gama na dosagem de 3 kGy e 12 com 5 kGy, na Seção de Defesa Nuclear do Centro Tecnológico do Exército (CTEx), em Guaratiba (RJ), para tratamento por radiação gama emitida por uma fonte de <sup>137</sup>Cs (Césio-137). Os 12 cortes restantes foram utilizados como controle. As amostras irradiadas foram transportadas em caixas isotérmicas com gelo para o laboratório de Tecnologia de Carnes e Derivados da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense, onde foram armazenadas em geladeira com temperatura

controlada de 2 °C, visando a realização de análises bacteriológicas e de pH.

Inicialmente, foram aplicadas as técnicas de assepsia com álcool 70% na bancada e nas embalagens das amostras. Uma alíquota de 25 gramas foi retirada e homogeneizada por cinco minutos em 225 mL de Solução Salina Peptonada (SSP) a 0,1% em um stomacher, obtendo a diluição 10<sup>-1</sup>. Desse frasco, foram retirados 100 µL, com pipeta esterilizada, e vazados em um ependorff contendo 900 µL de SSP a 0,1 % - e, assim, obteve-se a diluição 10<sup>-2</sup>. A partir desta, repetiu-se o procedimento, formando as demais diluições decimais 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup> e 10<sup>-5</sup>.

Para a contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicrotróficas<sup>9</sup>, após a obtenção das diluições, foi retirada, com pipeta esterilizada, uma alíquota de 200 µL das três últimas diluições (10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup> e 10<sup>-5</sup>) e vazada 100 µL em cada placa de Petri, com duplicata para cada diluição nas amostras controle. Para as amostras irradiadas, foram utilizadas apenas as duas primeiras diluições (10<sup>-1</sup> e 10<sup>-2</sup>). Utilizando a técnica de plaqueamento em profundidade, foram vertidos nas placas aproximadamente 20 mL de ágar padrão contagem previamente fundido e mantido em banho-maria a aproximadamente 49 °C. Logo após ter sido vertido o ágar, homogeneizava-se o inóculo ao ágar com movimentos circulares sobre a bancada. Assim que o ágar semeado solidificava, as placas eram armazenadas em geladeira mantida à temperatura de 6 ± 1 °C em posição invertida e colocadas em incubação por dez dias. Depois desse prazo, as placas eram removidas e selecionadas aquelas que apresentavam entre 25-250 Unidades Formadoras de Colônias (UFC) para contagem. O número de UFC contadas foi multiplicado por dez (devido ao uso de 100 µL em vez de 1 mL para semeadura) e, pelo inverso do fator de diluição das placas escolhidas, obtinha-se a média das duas placas, expressando o resultado em log<sub>10</sub> UFCs/g.

Para a enumeração de *Enterococcus* spp., foi usada a técnica do Número Mais Provável (NMP)<sup>10</sup>. Uma alíquota de 100 µL de cada diluição foi inoculada em três séries de três ependorfes, cada um com 1.000 µL de caldo Chromocult Merck. Em ato contínuo, os ependorfes foram incubados em estufa microbiológica a 45 °C por 48 horas. Resultados positivos foram devido à ação da azida sódica, que inibiu a microbiota acompanhante e ao substrato Bromo-4-cloro-3-indol-β-glucuronidase, que produziu uma coloração levemente azulada. Os resultados positivos de cada diluição foram comparados na Tabela de Mc Crady<sup>10</sup> e os resultados expressos em log<sub>10</sub> NMP/g.

Para análise de pH, após pesagem de cinco gramas da amostra em Becker, foi adicionado um volume de 50 mL de água recém destilada, homogeneizando com bastão de vidro. O pH foi determinado no 1º, 15º e 30º dias, em potenciômetro, com o cuidado de ajustar com soluções tampão pH 4,0 e 7,0 antes do uso. Os resultados foram adotados de acordo com o seguinte critério<sup>11</sup>: pH até 6,2 – Carne boa para consumo; pH 6,4 – Carne para consumo imediato; e pH acima de 6,4 – Início de decomposição.

Os resultados das análises bacteriológicas (bactérias psicrotróficas e *Enterococcus* spp.) e de pH foram tratados usando ANOVA em fatorial 3<sup>3</sup> (três tratamento e três tempos de estocagem), para testar o efeito da irradiação (tratamento), da estocagem e da interação entre estes. Os resultados que apresentaram diferenças significativas foram testados pela ANOVA segundo Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) por dose de radiação e tempo de estocagem, seguido do teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade<sup>12</sup>.

## RESULTADOS

Interpretando-se a Tabela 1, observou-se a evolução dos resultados das contagens de bactérias heterotróficas aeróbias psicrotróficas em amostras de perna ou pênfil de cordeiros, submetidas a diferentes doses de radiação gama e tempos de estocagem.

**Tabela 1.** Valores médios das contagens de bactérias heterotróficas aeróbias psicrotróficas (log<sub>10</sub> UFC/g) das amostras resfriadas de 0-2 °C (controle, irradiada com 3 kGy e irradiada com 5 kGy) de pernas de seis cordeiros, em função do tempo de estocagem (1 dia, 15 dias e 30 dias)

Tratamento	Tempo de estocagem		
	1 dia	15 dias	30 dias
Controle	4,71 ± 0,09 <sup>aA</sup>	4,84 ± 0,06 <sup>aA</sup>	4,93 ± 0,07 <sup>aA</sup>
3 kGy	2,13 ± 0,35 <sup>aB</sup>	2,33 ± 0,13 <sup>aB</sup>	2,86 ± 0,21 <sup>aB</sup>
5 kGy	1,80 ± 0,45 <sup>aB</sup>	2,00 ± 0,16 <sup>aB</sup>	2,31 ± 0,05 <sup>aB</sup>

<sup>a</sup> Médias na mesma linha, seguidas de diferentes letras minúsculas diferem significativamente em relação ao tempo de estocagem (p < 0,05)

<sup>A,B</sup> Médias na mesma coluna, seguidas de diferentes letras maiúsculas diferem significativamente em relação ao tratamento (p < 0,05)

Verificou-se, na Tabela 2, a evolução dos resultados de Número Mais Provável (NMP) para *Enterococcus* spp. em amostras de perna ou pênfil de cordeiros, submetidas a diferentes doses de radiação gama e tempos de estocagem.

**Tabela 2.** Valores médios da enumeração de *Enterococcus* spp. ( $\log_{10}$  NMP/g) das amostras resfriadas de 0-2 °C (controle, irradiada com 3 kGy e irradiada com 5 kGy) de pernas de seis cordeiros, em função do tempo de estocagem (1 dia, 15 dias e 30 dias)

Tratamento	Tempo de estocagem		
	1 dia	15 dias	30 dias
Controle	1,70 ± 0,93 <sup>aA</sup>	1,97 ± 0,81 <sup>bA</sup>	2,33 ± 0,73 <sup>cA</sup>
3 kGy	Ausência <sup>aB</sup>	Ausência <sup>aB</sup>	Ausência <sup>aB</sup>
5 kGy	Ausência <sup>aB</sup>	Ausência <sup>aB</sup>	Ausência <sup>aB</sup>

<sup>a</sup> Médias na mesma linha, seguidas de diferentes letras minúsculas diferem significativamente em relação ao tempo de estocagem ( $p < 0,05$ )

<sup>A,B</sup> Médias na mesma coluna, seguidas de diferentes letras maiúsculas diferem significativamente em relação ao tratamento ( $p < 0,05$ )

## DISCUSSÃO

Com relação à contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicrotróficas, observou-se que o processo de irradiação foi eficiente, pois diminuiu significativamente ( $p < 0,05$ ) a microbiota presente nas amostras submetidas às doses de 3 kGy e 5 kGy em relação as amostras controle (não irradiadas). A maior taxa de crescimento nas amostras irradiadas provavelmente deveu-se à menor população e, conseqüentemente, à menor competição entre as bactérias psicrotróficas. Constatou-se também que as amostras analisadas possuíam inicialmente uma boa qualidade em função das baixas contagens encontradas em todas as amostras.

Comparando o período inicial e final de estocagem a 0 a 2 °C por 30 dias, a contaminação por bactérias psicrotróficas não apresentou aumento significativo nas amostras irradiadas, corroborando o efeito preservativo da irradiação. Os resultados obtidos na contagem de bactérias psicrotróficas foram equivalentes aos encontrados em um estudo<sup>13</sup> que permitiu a seus autores atestar a eficiência do processo de irradiação, por meio da redução significativa de todas as contagens bacterianas em carne bovina “biltong” com o uso de radiação gama por Cobalto<sup>60</sup> na dose de 4 kGy. Os mesmos encontraram contagens de bactérias de até 7,21  $\log_{10}$  UFC/cm<sup>2</sup> após inoculação de culturas de *Staphylococcus aureus* nas amostras não irradiadas, enquanto que, em amostras irradiadas, as contagens não ultrapassaram os valores de 0,73  $\log_{10}$  UFC/cm<sup>2</sup>.

Os resultados do presente trabalho também corroboram os resultados obtidos em estudos<sup>8</sup> realizados em laboratório e que permitiram a seus autores atestar que a carne de cordeiro irradiada com uma dose mínima de 2,5 kGy e conservada sob refrigeração entre 0 e 3 °C

apresentou validade comercial de cerca de quatro semanas, em relação a amostras não irradiadas e estocadas sob as mesmas temperaturas, que apresentaram uma validade comercial de cerca de duas semanas.

Observou-se também que a redução nos valores de Número Mais Provável para *Enterococcus* spp. ocorrida nas amostras irradiadas com 3 kGy e 5 kGy foi significativa em relação ao controle, diminuindo a microbiota presente nas amostras analisadas, mostrando a eficiência da irradiação. Tais resultados são semelhantes aos descritos em estudo<sup>14</sup> com amostras de mexilhões irradiados, tanto para amostras irradiadas com 3 kGy como para amostras irradiadas com 5 kGy. É importante frisar que o resultado encontrado e expresso como ausência indica que, na amostra, não se encontraram células capazes de promover a viragem do meio, modificando a coloração do meio de chromocult nos tubos de eppendorf, caracterizando-as como negativas ou ausência. Cabe ressaltar que, no Brasil, não há legislação estipulando limites para a presença de *Enterococcus* spp. em alimentos.

Evidenciou-se diferença significativa em relação ao pH nas amostras controle, entre os dias 1º e 30º de armazenamento, variando entre 5,77 no dia 1º a 5,65 no dia 30º. As amostras irradiadas não apresentaram diferença significativa de pH em relação à amostra controle e entre si, tanto em relação ao tempo de estocagem como em relação ao tratamento entre as amostras irradiadas e as não irradiadas. Foram observados valores entre 5,77 (dia 1º) e 5,69 (dia 30º) no tratamento com 3 kGy, e 5,78 (dia 1º) e 5,71 (dia 30º) no tratamento com 5 kGy, semelhantes aos encontrados em estudo<sup>15</sup> que permitiu ao autor atestar que não houve diferença significativa no pH entre amostras irradiadas e não irradiadas de carne bovina, suína e ovina. Os valores observados em todos os tratamentos e períodos de estocagem encontravam-se dentro dos valores admitidos para o consumo, considerado os parâmetros inclusos na legislação<sup>11</sup>.

## CONCLUSÃO

As contagens de bactérias heterotróficas aeróbias psicrotróficas possuíam valores maiores nas amostras controle, porém ainda dentro de valores adequados para o consumo. Entretanto, a irradiação com 3 kGy e 5 kGy reduziu em quase dois ciclos logarítmicos a população de bactérias psicrotróficas, tornando a carne mais segura para o consumidor. O tratamento por radiação ionizante

também foi eficiente para a inativação das bactérias do gênero *Enterococcus* no período de estocagem. Como não houve diferença significativa na redução da microbiota entre o tratamento com 3 kGy e o tratamento com 5 kGy, a dose de 3 kGy seria a mais indicada por não alterar significativamente as propriedades sensoriais do produto. Não houve alteração significativa de pH devido à irradiação. A carne de cordeiros permaneceu própria para o consumo durante todo o experimento.

#### AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Pesquisador do Setor de Defesa Nuclear do Centro Tecnológico do Exército (CTEx), Dr. Helio Carvalho Vital, ao CTEx, seus funcionários e pesquisadores, e ao matadouro frigorífico (SIE/RJ-553) no estado do Rio de Janeiro.

#### REFERÊNCIAS

1. Bressan MC, Prado OV, Perez JRO, Lemos ALSC, Bonagurio S. Efeito do peso ao abate de cordeiros Santa Inês e Bergamácia sobre as características físico-químicas da carne. *Cienc Tecnol Aliment*. 2001;21(3):293-303.
2. Brasil. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 21, de 26 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico para Irradiação de Alimentos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasil, Brasília, DF, 29 de janeiro de 2001, Seção 1, nº 20-E, p. 35.
3. Cheng A, Wan F, Xu T, Du F, Wang W, Zhu Q. Use of irradiation for microbial decontamination of meat: situation and perspectives. *Radiat Phys Chem*. 2011;80(3):475-80.
4. Franco BDGM, Landgraf M. *Microbiologia de Alimentos*. São Paulo (SP): Livraria Atheneu; 2001.
5. Domig KJ, Mayer HJ, Kneifel W. Methods used for the isolation, enumeration, characterization and identification of *Enterococcus* spp. sp 1. Media for isolation and enumeration. *Int J Food Microbiol*. 2003;88:147-64.
6. Khan SA, Nawaz MS, Khan AA, Hopper SL, Jones RA, Cerniglia CE. Molecular characterization of multidrug-resistant *Enterococcus* spp. from poultry and dairy farms: detection of virulence and vancomycin resistance gene markers by PCR. *Mol Cell Probes*. 2005;19:27-34.
7. Miyaguscú L, Chen F, Leitão MFF, Baffa O. Avaliação sensorial da vida útil de cortes de peito de frango irradiados. *Cienc Tecnol Aliment*. 2003;23:7-16.
8. Chawla SP, Paul P, Thomas P, Babu Y, Sastry MD. Detection of irradiated lamb meat with bone: effect of chilled storage and cooking on ESR signal strength. *Int J Food Sci Technol*. 1999;34(1):41-5.
9. APHA. American Public Health Association. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 4 ed. Washington-DC: APHA; 2001. pp. 63-7, 159-65.
10. Merck. *Microbiology Manual*. 12ª ed. Berlin; 2005.
11. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (aprovado pelo decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952, alterado pelos decretos nº 1.255, de 25 de junho de 1962, nº 1.236, de 02 de setembro de 1994, nº 1.812, de 8 de fevereiro 1996, nº 2.244, de 5 de junho de 1997, e nº 6.385, de 27 de fevereiro de 2008). DIPOA-MAPA, Brasília, DF, 2008.
12. Sas Institute. *SAS User's guide statistics*. Cary, 1999.
13. Nortjé K, Buys EM, Minnaar A. Use of  $\gamma$ -irradiation to reduce high levels of *Staphylococcus aureus* on casey-wheine protein coated moist beef biltong. *Food Microbiol*. 2006;23(8):729-37.
14. Valente AM. Efeito da irradiação sobre mexilhões [*Perna perna* (Linnaeus, 1758)]: coliformes termotolerantes e *Enterococcus*; ação antimicrobiana e análise sensorial das amostras [dissertação de mestrado]. Niterói (RJ): Universidade Federal Fluminense; 2004.
15. Millar SJ, Moss BW, Stevenson MH. The effect of ionizing radiation on the colour of beef, pork and lamb. *Meat Sci*. 2000;55(3):349-60.