

## ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE HAMBÚRGUERES COMERCIALIZADOS EM EMBALAGENS PRIMÁRIAS E SECUNDÁRIAS

Amanda Cristina Menezes<sup>1</sup>, Ana Maria Alexandrino<sup>1</sup>.

### RESUMO

As mudanças na rotina da família brasileira levou a maior demanda por alimentos prontos para consumo, como fast food, aumentando o consumo de carne processada, como o hambúrguer. O hambúrguer passa por considerável manuseio, transformando-se em um excelente meio de cultura para microrganismos que podem causar toxinfecções. Neste tipo de produto a embalagem é necessária para manter íntegro os alimentos e é uma relevante proteção, sendo capaz de aumentar a vida de prateleira desses alimentos. Os hambúrgueres devem ser acondicionados corretamente em sacos plásticos estéreis, estocados e conservados congelados sob temperaturas  $\leq 0^{\circ}\text{C}$ . Sob refrigeração, os produtos cárneos de origem bovina devem ser armazenados a  $4^{\circ}\text{C}$  por até 72 horas. Este estudo analisou a contaminação dos hambúrgueres por coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Staphylococcus* coagulase positiva para averiguar as condições higiênicas-sanitárias em que o hambúrguer foi submetido, utilizando o método do Número Mais Provável, além de bactérias mesófilas totais, para analisar os parâmetros extrínsecos que afetam a microbiota do alimento, utilizando o método de contagem em placas. Como os hambúrgueres encontravam-se apenas resfriados no local de venda, não é possível observar se realmente há diferença entre as embalagens primárias e secundárias, contudo, diante dos resultados observados neste trabalho, houve contaminação de todos os microrganismos pesquisados, independente da embalagem. Sabendo-se que não basta apenas a embalagem estar de acordo com as normas, se a temperatura de armazenamento não estiver condizente com o que preconiza a legislação.

**Palavras-chave:** análise microbiológica; embalagens primárias e secundárias; DTAs; hambúrgueres.

### MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF BURGERS COMERCIALIZADOS IN PRIMARY AND SECONDARY PACKAGING

#### ABSTRACT

The changes in Brazilian family routine led to an increased demand for ready to eat foods, such as fast food, raising the consumption of processed meat, like hamburger. The burger undergoes considerable handling, turning into an excellent culture medium for microorganisms that may cause intoxications. In this type of product, packaging is necessary to maintain foods integrate and it is an important protection that increases the shelf life of these foods. The burgers should be packed properly in sterile plastic bags, stored and kept frozen under  $\leq 0^{\circ}\text{C}$  temperatures. Under refrigeration, meat products of bovine origin must be stored at  $4^{\circ}\text{C}$  for up to 72 hours. This study analyzed the contamination of burgers with total coliforms, fecal coliforms, and *Staphylococcus* coagulase positive to verify the sanitary conditions in which the hamburger was submitted by the Most Probable Number method and total mesophilic bacteria, to analyze the extrinsic parameters that affect microbial food using the plate count method. As the burgers were found only cold at the premises, it is not possible to note if there really is difference between primary and secondary packaging, however, according to results, there was contamination by all microorganisms without packing. Considering that, it is not enough the packaging in accordance to the rules, if the storage temperature is not consistent with the legislation.

**Keywords:** microbiological analysis; primary and secondary packaging; DTAs; burgers.

## INTRODUÇÃO

Os brasileiros têm passado por uma série de transformações desde a década de 50, e as mais perceptíveis talvez sejam os fenômenos da urbanização e da globalização (1). Devido o cotidiano das famílias modernas o serviço de fast food expandiu-se, em decorrência do acelerado ritmo de vida, fazendo com que a população procure por serviços

rápidos (2). Comer fast food é um novo hábito do brasileiro, principalmente para os que residem nas grandes cidades. Consequentemente, a agroindústria brasileira vem explorando esse tipo de consumidor (3).

Os alimentos cárneos que passam por relevante manipulação, se transformam em um excelente meio de cultura devido a fatores como: umidade relativa do ar, temperatura, pH, nutrientes, intensidade da luz e o valor da

<sup>1</sup> Curso de Farmácia. Faculdade Integrado de Campo Mourão – Paraná.

atividade de água, que favorece a instalação e multiplicação de microrganismos capazes de provocar toxinfecção no homem (4).

A maioria das doenças transmitidas por alimentos (DTA's) são decorrente do consumo de alimentos contaminados, especialmente os crus e produtos cárneos (5). A maioria dos casos de DTA's deve-se: à higiene pessoal precária de manipuladores, limpeza incorreta dos utensílios, preparo de alimentos com muita antecedência, aquecimento inadequado do alimento, refrigeração inadequada no transporte e nos pontos de venda, e a contaminação por embalagens e por roedores; (6).

Segundo o Ministério da Saúde, de 1999 a 2010, foram notificados à Secretaria de Vigilância em Saúde 6.971 surtos de toxinfecção, com registro de 88 óbitos no Brasil (7). São conhecidas mais de 250 DTA's, sendo as infecções bacterianas as causa mais comuns. A legislação brasileira regulamenta os padrões microbiológicos para a comercialização de alimentos, com o objetivo de conservar a saúde da população. O congelamento é uma das principais barreiras na prevenção de DTA's (8).

Os hambúrgueres devem ser mantidos e armazenados em temperaturas de aproximadamente  $-18^{\circ}\text{C}$ , de acordo com a embalagem, podendo fornecer uma margem de segurança, ocorrendo a danificação de boa parte das células de uma população microbiana, diminuindo o desenvolvimento ou multiplicação destes microrganismos (9).

A embalagem dos alimentos é uma relevante proteção, sendo capaz de retardar a deterioração microbiológica, a perda de umidade e a oxidação de gorduras, permitindo o aumento da vida de prateleira (10). As indústrias colocam à disposição do consumidor os hambúrgueres embalados por envoltórios plásticos para hambúrgueres vendidos a granel (embalagem primária), ou hambúrgueres que são acoplados a uma segunda embalagem de caixa de papelão (embalagem secundária). Ambas são de fácil rastreabilidade, por conter data de fabricação, data de validade e o número do lote (10).

O controle higiênico-sanitário pós-processamento é fundamental para garantir a qualidade dos alimentos, tornando-se o principal instrumento de defesa contra os surtos de DTAs, sendo essencial a utilização de medidas que possam garantir a segurança alimentar (11).

Assim, objetivou-se verificar se a qualidade de amostras de hambúrgueres industrializados está condizente com as normas descritas pela ANVISA, e principalmente verificar a eficácia das embalagens primárias e secundárias.

## MATERIAL E MÉTODOS

Na primeira e segunda semana de março de 2013 foram coletadas amostras de hambúrgueres de uma determinada marca comercial, de cada tipo de embalagem (embalagem primária e secundária), em três mercados de médio porte (representados como "1", "2" e "3"), da cidade de Campo Mourão, Paraná, Brasil.

As amostras foram levadas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Faculdade Integrado de Campo Mourão - PR, em caixas isotérmicas. Após a chegada ao laboratório, as amostras foram imediatamente processadas.

De cada amostra pesou-se, assepticamente, 25 gramas de hambúrgueres, que foram colocados em 225 mL de água peptonada a 0,1 % estéril e procedeu-se a homogeneização das amostras em aparelho Stomacher, obtendo a diluição inicial 10-1. A seguir, preparou-se diluições decimais até 10-3 (13).

Para determinação de presença de coliformes totais e coliformes termotolerantes utilizou-se o método do Número mais Provável (NMP) descrito por Silva et al (13).

Aplicou-se o método de fermentação em tubos múltiplos, empregando-se inicialmente o caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) e incubou-se por 24-48 h. A partir das culturas em caldo LST com produção de gás no tubo Durhan, foi inoculado no caldo verde brilhante bile 2% (VB) e Caldo *Escherichia coli* (E.C). Observou se houve crescimento com produção de gás nos tubos de VB, após 24-48 h de incubação a  $35^{\circ}\text{C}$ , sendo este teste confirmatório para a presença de coliformes totais. O crescimento com produção de gás nos tubos EC, após 24 h de incubação a  $45,5^{\circ}\text{C}$  foi confirmatório para a presença de coliformes termotolerantes.

A determinação da presença de *Staphylococcus coagulase positiva* (SCP) foi a partir do método Número Mais Provável (NMP) descrito por Silva et al (13).



As amostras foram inoculadas em uma série de três tubos contendo Caldo Trypticase de Soja (TSB), suplementado com 10% de NaCl e 1% de piruvato de sódio. Os tubos foram incubados a 35-37°C por 48h e observou-se o crescimento. A partir de cada tubo com crescimento, estriou-se uma alçada da cultura em placas de Ágar Baird-Parker (BP) e incubou-se a 35-37°C por 48h. Na presença de crescimento realizou-se o teste rápido de aglutinação simultânea da coagulase e da proteína A, com as partículas de látex róseas sensibilizadas com proteínas plasmáticas antígenos específicas. Através do kit staphclin, que determina a presença de *Staphylococcus* produtores de coagulase com características compatíveis ao de *Staphylococcus aureus* (14).

Para determinação da presença de mesófilos utilizou-se o método de contagem em placas descrito por Silva et al (13). Empregou-se a contagem padrão em placas, sendo

plaqueamento por profundidade em Ágar Padrão para Contagem (PCA), incubando-se a 35°C por 48h, como é descrito por Silva et al (13).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da pesquisa para coliformes totais e termotolerantes encontram-se dispostos na Tabela 1. Observou-se que das 12 amostras analisadas, todas se encontravam com níveis altos de contaminação. A RDC n° 12, de 2 de janeiro de 2001 não estabelece limites de tolerância para o grupo dos coliformes totais em hambúrgueres *in natura*. Entretanto, a presença desses microrganismos pode indicar condições higiênico-sanitárias deficientes, colocando em risco a saúde dos consumidores. Já os coliformes termotolerantes devem obedecer ao limite máximo de 5x10<sup>3</sup> UFC/g de contaminação (8).

**Tabela 1.** Contagem de coliformes totais e termotolerantes em hambúrguer comercializados em mercados na Cidade de Campo Mourão, PR, 2013.

Mercado	Amostra Embalagem	1º Semana		2º Semana	
		Coliformes totais (NMP/ml)*	Coliformes termotolerantes (NMP/ml)*	Coliformes totais (NMP/ml)*	Coliformes termotolerantes (NMP/ml)*
1	Primária	> 1.100	> 1.100	> 1.100	23
1	Secundária	> 1.100	> 1.100	> 1.100	23
2	Primária	> 1.100	> 1.100	> 1.100	< 3,0
2	Secundária	> 1.100	> 1.100	> 1.100	9,4
3	Primária	> 1.100	> 1.100	> 1.100	> 1.100
3	Secundária	> 1.100	> 1.100	> 1.100	240

Legenda: \* Número Mais Provável.

No trabalho de Moura et al (16) 62,5% das amostras de hambúrgueres encontravam-se fora dos padrões estabelecidos pela RDC n° 12, para o grupo de coliformes totais, apresentando-se em condições sanitárias insatisfatórias para o consumo humano.

Martins et al (17) verificaram que na quantificação de coliformes totais e termotolerantes, as amostras que apresentaram maior e menor contaminação possuíam 8,3 x

102 e 7,1NMP/g, e 8,0 e 3,0 NMP/g respectivamente. Ribeiro et al. (18) observaram quanto às contagens de coliformes a 45°C, que das 30 amostras de hambúrguer *in natura* analisadas, 28 unidades (93,33%) apresentaram contagens acima do limite estabelecido pela legislação, porém para as 30 amostras de hambúrgueres prontos para consumo apenas 3 unidades (10%) encontravam-se com valores discordantes da legislação vigente. Os valores das amostras

foram concordantes com o que foi encontrado no presente trabalho.

Entre as 12 amostras analisadas no presente trabalho, os resultados dos coliformes totais não variaram conforme a semana em que foi coletada, já os coliformes termotolerantes mostrou uma diferença quanto a contaminação microbiana, variando de  $<3,0$  à  $> 1.100$  NMP/g.

Os resultados da pesquisa para Mesófilos e para *Staphylococcus* coagulase positiva (SCP) encontram-se dispostos na Tabela 2. A intoxicação alimentar provocada por SCP é devida à ingestão de enterotoxinas produzidas e liberadas pela bactéria durante sua multiplicação no alimento, representando

um risco para saúde pública. A enterotoxina estafilocócica é termoestável e está presente no alimento mesmo após o cozimento (19). Vários autores têm alertado para a necessidade de se cozinhar bem os hambúrgueres, sem descongelamento prévio, para diminuir os riscos de infecção, fato este observado por Oliveira et al, (20) que após tratamento térmico não foi suficiente para eliminar alguns *Staphylococcus* coagulase negativa. Nascimento et al.,(22) encontrou resultados semelhantes a Oliveira em relação à contagem total de mesófilos em hambúrgueres naturalmente contaminados antes e após cocção.

**Tabela 2.** Mesófilos e *Staphylococcus* coagulase positiva em hambúrguer comercializados em mercados na Cidade de Campo Mourão, PR, 2013.

Mercado	Amostra Embalagem	1º Semana		2º Semana	
		Mesófilos (UFC/g)**	SCP* (UFC/g)**	Mesófilos (UFC/g)**	SCP* (UFC/g)**
1	Primária	$4,60 \times 10^4$	$> 2,5 \times 10^5$	$1,20 \times 10^4$	$> 2,5 \times 10^5$
1	Secundária	$5,00 \times 10^3$	$> 2,5 \times 10^5$	$3,00 \times 10^3$	$> 2,5 \times 10^5$
2	Primária	$1,20 \times 10^4$	$> 2,5 \times 10^5$	$8,00 \times 10^4$	$> 2,5 \times 10^5$
2	Secundária	$2,56 \times 10^5$	$> 2,5 \times 10^5$	$> 2,50 \times 10^5$	$> 2,5 \times 10^5$
3	Primária	$4,99 \times 10^5$	$> 2,5 \times 10^5$	$> 2,50 \times 10^5$	$> 2,5 \times 10^5$
3	Secundária	$6,91 \times 10^5$	$> 2,5 \times 10^5$	$> 2,50 \times 10^5$	$8,6 \times 10^4$

Legenda: \* SCP: *Staphylococcus* Coagulase Positiva. \*\* UFC: Unidades Formadoras de Colônia



Todas as amostras analisadas encontravam-se com valores elevados de contaminação, ultrapassando os limites preconizados pela RDC nº 12, que recomenda o limite de  $5 \times 10^3$  para SCP.

No trabalho de Ribeiro et al (18) 36,6% das amostras analisadas apresentaram contaminação por SCP, sendo 25% referentes às amostras *in natura*. No presente trabalho a contaminação de hambúrgueres *in natura* foi de 100%.

O número elevado de bactérias aeróbias mesófilas indica que o alimento é impróprio para o consumo, uma vez que todas as bactérias patogênicas são mesófilas (21).

A legislação brasileira vigente não estabelece limite de tolerância microbiológico para o número total de bactérias aeróbias mesófilas por grama de hambúrguer (8).

No trabalho de Tavares (15) os microrganismos encontrados com maior frequência foram os aeróbios mesófilos.

No trabalho de Melo et al (12) o resultado para os microrganismos aeróbios mesófilos mostrou-se elevado, sendo analisadas 5 marcas que apresentaram a média de: "A":  $2,5 \times 10^5$  UFC/g; "B":  $2,1 \times 10^5$  UFC/g; "C":  $2,3 \times 10^8$  UFC/g; "D":  $1,5 \times 10^5$  UFC/g e a marca "E":  $5,3 \times 10^7$  UFC/g.

No presente trabalho, os mesófilos variaram de  $1,20 \times 10^4$  até  $6,91 \times 10^5$  UFC/g. Como todos os hambúrgueres apresentaram elevadas contagens destes microrganismos indicadores, o resultado aponta para possíveis falhas higiênico-sanitárias no processo ou na distribuição destes produtos (4).

Como os hambúrgueres encontravam-se apenas resfriados no local de venda, não é possível observar se realmente há diferença entre as embalagens primárias e secundárias, contudo, diante dos resultados observados

neste trabalho, houve contaminação de todos os microrganismos pesquisados, independente da embalagem. Sabendo-se que não basta apenas a embalagem estar de acordo com as normas, se a temperatura de armazenamento não estiver condizente com o que preconiza a legislação.

A variação entre os resultados da primeira e da segunda semana dá-se pela mudança de temperatura em que se encontravam, tendo o conhecimento que os termômetros dos locais de venda estavam inutilizados

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os parâmetros impostos pela ANVISA os hambúrgueres comercializados não estavam aptos para consumo. O fato de se encontrar microrganismos não significa que ocorrerá alguma doença, mas indica que em algum ponto houve falha na qualidade higiênica do processamento, armazenamento ou comercialização do produto. Neste estudo é evidenciada a necessidade de maior fiscalização nos estabelecimentos em que se encontram os produtos a venda, observando se o produto está armazenado de forma regular.

O acondicionamento deve ser em embalagem com materiais adequados para que as condições de armazenamento confirmem proteção apropriada ao hambúrguer. Quando as coletas foram realizadas constatou-se que, apesar de não haver avarias nas embalagens, a temperatura de comercialização do hambúrguer não era adequada. As amostras encontravam-se resfriadas e isto ocasionou perda da sua estrutura rígida que, aliada à temperatura inadequada, favoreceram a proliferação dos microrganismos.

**Amanda Cristina Menezes, Ana Maria Alexandrino.**  
Endereço para correspondência: Rodovia BR 158, KM 207.  
Campo Mourão - PR  
87300-970  
E-mail: amalexandrino@ig.com.br

Recebido em 04/07/2013  
Revisado em 10/04/2014  
Aceito em 28/07/2014

## REFERÊNCIAS

- (1) LAMBERT, J.L; et al. As principais evoluções dos comportamentos alimentares: o caso da França. **Revista de Nutrição**. v. 18, n.1. p 1-3, mai/jun; 2005.
- (2) ALVES C.L.R. **O evangelho Segundo o McDonald's**: um estudo sobre o processo de produção da fast food. 2006. p 157. Dissertação (Mestrado em História). Pontifícia Universidade Católica, São Paulo. 2006.
- (3) ORTIGOZA S.A.G. O fast food e a mundialização do gosto. **Revista Cadernos de Debate**, Rio Claro, v. 5, p. 21-45, 1997.
- (4) FRANCO, B. D. G. M; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996.
- (5) COSTA, F. M.; et al Avaliação microbiológica de produtos cárneos comercializados na cidade de Montes Claros/MG. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA USP, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: 6 e 7 de novembro de 2008.
- (6) BAPTISTA P.; VENÂNCIO A. **Os perigos para a segurança alimentar no processamento de alimentos**. Largo Navarros de Andrade. Forvisão, 2003.
- (7) BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil. Disponível em: <[http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar\\_texto.cfm?idtxt=31758](http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=31758)> Acesso em: 14 setembro 2012.
- (8) BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária–ANVISA. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos
- (9) CASARIN, L.S. **Sobrevivência de Escherichia Coli, Staphylococcus aureus e Salmonella enteritidis durante o armazenamento do hambúrguer de frango congelado**. 2005. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, ênfase em microbiologia de alimentos) Universidade Federal do Rio grande do Sul, Porto Alegre, 2005.
- (10) LUCHIARI FILHO, A.L. Produção de carne bovina no Brasil qualidade, quantidade ou ambas?. In: SIMBOI SIMPÓSIO SOBRE DESAFIOS E NOVAS TECNOLOGIAS NA BOVINOCULTURA DE CORTE.II., Brasília. **Anais...**Brasília: 2006.p 1-9.
- (11) RIBEIRO L.F.; et al. A importância da capacitação profissional dos manipuladores dos estabelecimentos alimentícios – um estudo no município de Ivaiporã/PR. In: XXX ENCONTRO NACIONAL DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO. São Carlos. **Anais...** São Carlos, 2010.



- (12) MELO L.F; et al. Qualidade higiênico - sanitária da carne de hambúrguer Industrializada. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, Três Corações, v. 10, n. 2, p. 370-375, ago./dez. 2012.
- (13) SILVA, N.; et al. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. 3 ed., São Paulo, Varela: 2007. 11-144p.
- (14) LABORCLIN. Kit Staphclin látex. Disponível em: [http://www.laborclin.com.br/produtos/570100/570100\\_bl.pdf](http://www.laborclin.com.br/produtos/570100/570100_bl.pdf). Acesso: 23 de março de 2013
- (15) TAVARES, T. M. **Avaliação microbiológica de hambúrgueres de carne bovina comercializados em sanduicherias tipo "trailers" no centro e na periferia de Goiânia/GO**. 2002. 64f. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical). Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2002.
- (16) MOURA A.P.B.L; et al. Pesquisa de Coliformes termotolerantes, totais e *Salmonella* spp. Em carnes caprinas comercializadas na cidade de Recife, Pernambuco. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.74, n.4, p.293-299, out./dez, 2007
- (17) MARTINS W.F; et al. Carnes de hambúrguer: avaliação higiênico-sanitária do ponto de vista microbiológico. Universidade Federal de Campina Grande. Disponível em: <<http://www.sovergs.com.br/site/higienistas/trabalhos/10060.pdf>>. acesso: 12 de março de 2013
- (18) RIBEIRO P.F; et al. Análise bacteriológica de hambúrgueres de carne bovina servidos em um restaurante do município do Rio de Janeiro - RJ. Disponível em: <<http://www.sovergs.com.br/site/higienistas/trabalhos/10029.pdf>>. Acesso: 15 de março de 2013
- (19) CUNHA NETO A.; SILVA, C.G.M.; STANFORD, T.L.M; *Staphylococcus* enterotoxigênicos em alimentos in natura e processados no estado de Pernambuco, Brasil. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v.22. n. 3, 2002
- (20) OLIVEIRA, C.Z.F.; NASCIMENTO, M.G.F.; NASCIMENTO, E.R. Presença de *Staphylococcus aureus* e espécies correlatas em amostras de hambúrguer bovino e influencia da cocção sobre esses microorganismos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, V.25, n5/6, p 196-201, 2003
- (21) ALMEIDA, A.G; OLIVEIRA, A.S; SGRIGNOLI, L.A. Levantamento microbiológico da alface (*Lactuca sativa* L.) Produzida em hortas da cidade de Marília/SP. Disponível em: <<http://www.fatecmarilia.edu.br/horta/arquivos/projetos/artigoscient/artigoalface.pdf>>. Acesso: 14 de março de 2013.
- (22) NASCIMENTO, M.G.F; et al. Influence of heat procedure on microbial elimination on hamburguers. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 11., 2001, Foz do Iguaçu, PR. **Anais...Foz do Iguaçu: Sociedade Brasileira de Microbiologia**, 2001, p391.