

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE FILÉS DE PEITO DE
FRANGOS DE CORTE SUBMETIDOS À IRRADIAÇÃO E
ATMOSFERA MODIFICADA EM DIFERENTES PERÍODOS
DE ARMAZENAMENTO**

KAREN FRANCO DE GODOI CARDOSO

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia como
parte das exigências para obtenção do
Título de Mestre em Zootecnia.

Botucatu-SP
Fevereiro/2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE FILÉS DE PEITO DE
FRANGOS DE CORTE SUBMETIDOS À IRRADIAÇÃO E
ATMOSFERA MODIFICADA EM DIFERENTES PERÍODOS
DE ARMAZENAMENTO**

KAREN FRANCO DE GODOI CARDOSO

Zootecnista

Orientador: Prof. Dr. Ariel Antônio Mendes

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia como
parte das exigências para obtenção do
Título de Mestre em Zootecnia.

Botucatu-SP
Fevereiro/2008

A Deus

Por estar sempre ao meu lado, me guiando e iluminando os meus passos.

Ofereço

Ao meu marido Rhaufe

Pela compreensão, dedicação e amor em todos os momentos.

Ao meu filho Rhafael

Por existir e me fazer tão feliz.

Dedico

Aos meus pais Reinaldo e Aparecida

Com amor e gratidão.

Agradeço

HOMENAGEM ESPECIAL

Ao Prof. Dr. Ariel Antonio Mendes, pela orientação e ensinamentos, a minha sincera gratidão.

A minha grande amiga Profa. Dra. Vera Lúcia Mores Rall, pela orientação na realização das análises microbiológicas, pelo seu apoio, dedicação e carinho, minha eterna gratidão.

A equipe e também amigos o qual sem eles não seria possível a realização deste trabalho. A vocês, minha gratidão...

Juliana Wagner Simon

Ibiara Correia de Lima Almeida Paz

Claúdia Marie Komiyama

Marleide Costa Silva

Augusto Balog Neto

Bárbara Cristina da Silva Fernandes

Lívia Bernardes Rodrigues

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Campus de Botucatu, pela oportunidade da realização deste trabalho.

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão do auxílio de pesquisa.

Ao Conselho Nacional do Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão do auxílio de pesquisa.

A Coordenadoria de Aperfeiçoamento do Pessoal de Ensino Superior (CAPES), pela concessão da Bolsa de Mestrado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Campus de Botucatu, pela oportunidade, colaboração e apoio.

A minha irmã Ana Maria e minha madrastra Lourdes, pelo carinho e amizade.

Ao meu sogro Geraldo e minha sogra Vicentina, pela amizade e atenção.

A todos os Professores da Graduação e Pós-Graduação, pela amizade e conhecimento por mim adquirido.

A Companhia Brasileira de Esterilização (CBE) pela irradiação das amostras.

Aos funcionários do Departamento de Produção e Exploração Animal, pela colaboração, convívio e amizade.

Aos funcionários do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Biociências de Botucatu, pela colaboração, paciência, convívio e amizade.

Às secretárias da Pós-Graduação em Zootecnia, pelo convívio e apoio.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram na realização deste trabalho.

BIOGRAFIA DO AUTOR

Karen Franco de Godoi Cardoso é filha de Reinaldo Franco de Godoi e Aparecida Matheus de Godoi. Nasceu aos 18 de agosto de 1978 na cidade de São Paulo - SP. Casou-se com Rhaufe Cluife Cardoso com quem tem um filho Rhafael de Godoi Cardoso.

Em fevereiro de 2000, ingressou no curso de Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, SP, onde recebeu o título de Zootecnista em vinte e oito de junho de 2005.

Em agosto de 2005 ingressou no Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, Campus de Botucatu.

SUMÁRIO

Capítulo 1.....	Pág. 01
Considerações iniciais	
1 - <i>Introdução.....</i>	Pág. 02
2 - <i>Revisão de Literatura.....</i>	Pág. 03
3 - <i>Referências Bibliográficas.....</i>	Pág. 15
Capítulo 2.....	
Efeito da irradiação sobre a qualidade microbiológica de filés de peito de frango armazenados em diferentes períodos	Pág. 22
<i>Resumo</i>	Pág. 23
<i>Introdução</i>	Pág. 24
<i>Material e Métodos</i>	Pág. 25
<i>Resultados e Discussão</i>	Pág. 29
<i>Conclusão</i>	Pág. 36
<i>Referências Bibliográficas</i>	Pág. 36
Capítulo 3.....	
Efeito da embalagem com atmosfera modificada sobre a qualidade microbiológica de filés de peito de frango armazenados em diferentes períodos	Pág. 39
<i>Resumo</i>	Pág. 40
<i>Introdução</i>	Pág. 41
<i>Material e Métodos</i>	Pág. 42
<i>Resultados e Discussão</i>	Pág. 46
<i>Conclusão</i>	Pág. 51
<i>Referências Bibliográficas</i>	Pág. 51
Capítulo 4.....	Pág. 54
<i>Implicações</i>	

SUMÁRIO DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Médias e desvio-padrão (Log_{10} UFC/g) da enumeração de microrganismos mesófilos aeróbios ou anaeróbios facultativos e psicrotróficos em filés de peito de frango submetidos à irradiação e armazenados sob refrigeração (4°C) por 21 dias.....	Pág. 30
Tabela 2. Médias e desvio-padrão (Log_{10} UFC/g) da enumeração de microrganismos mesófilos aeróbios ou anaeróbios facultativos e psicrotróficos em filés de peito de frango submetidos à irradiação e armazenados sob congelamento (-18°C) por 90 dias.....	Pág. 32
Tabela 3. Médias e desvio-padrão (Log_{10} NMP/g) do Numero Mais Provável de coliformes totais e termotolerantes em filés de peito de frango submetidos à irradiação e armazenados sob refrigeração (4°C) por 21 dias.....	Pág. 33
Tabela 4. Médias e desvio-padrão (Log_{10} NMP/g) do Número Mais Provável de coliformes totais e termotolerantes em filés de peito de frango submetidos à irradiação e armazenados sob congelamento (-18°C) por 90 dias.....	Pág. 34
Tabela 5. Frequência de <i>Salmonella</i> nas amostras submetidas à irradiação e armazenadas sob refrigeração (4°C) por 21 dias.....	Pág. 35
Tabela 6. Frequência de <i>Salmonella</i> nas amostras submetidas à irradiação e armazenadas sob congelamento (-18°C) por 90 dias.....	Pág. 36

SUMÁRIO DE TABELAS

CAPÍTULO 3

- Tabela 1.** Médias e desvio-padrão (Log_{10} UFC/g) da enumeração de microrganismos mesófilos aeróbios ou anaeróbios facultativos e psicrotróficos em filés de peito de frango embalados em diferentes atmosferas e armazenados sob refrigeração (4°C) por 21 dias..... Pág. 47
- Tabela 2.** Médias e desvio-padrão (Log_{10} UFC/g) da enumeração de microrganismos mesófilos aeróbios e anaeróbios facultativos e psicrotróficos em filés de peito de frango embalados em diferentes atmosferas e armazenados sob congelamento (-18°C) por 90 dias..... Pág. 48
- Tabela 3.** Médias e desvio-padrão (Log_{10} NMP/g) do Numero Mais Provável de coliformes totais e termotolerantes em filés de peito de frango embalados em diferentes atmosferas e armazenados sob refrigeração (4°C) por 21 dias..... Pág. 49
- Tabela 4.** Médias e desvio-padrão (Log_{10} NMP/g) do Numero Mais Provável de coliformes totais e termotolerantes em filés de peito de frango embalados em diferentes atmosferas e armazenados sob congelamento (-18°C) por 90 dias..... Pág. 50
- Tabela 5.** Frequência de *Salmonella* nas amostras embaladas em diferentes atmosferas e armazenadas sob refrigeração (4°C) por 21 dias..... Pág. 50
- Tabela 6.** Frequência de *Salmonella* nas amostras embaladas em diferentes atmosferas e armazenadas sob congelamento (-18°C) por 90 dias..... Pág. 51

CAPÍTULO 1
CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1 - Introdução

O Brasil produziu 9,3 milhões de toneladas de carne de frango em 2006, sendo 6,6 milhões destinadas ao mercado interno e 2,7 milhões, ao mercado externo, com consumo per capita de 35,6 kg/habitante/ano. Somente as exportações de carne de frango em 2006 geraram receitas de US\$ 3,2 bilhões. Com estes números, o Brasil sustenta a posição de maior exportador e terceiro maior produtor do mundo. Em 2005, os principais estados produtores foram o Paraná (22,8%), Santa Catarina (16,8%), Rio Grande do Sul (14,8%) e São Paulo (14,4%) (ABEF, 2007).

O segmento avícola é importante fornecedor de proteínas, contribuindo com 27% do consumo humano, porcentagem que era de 12% nos anos 60. O expressivo aumento do consumo de carne aves está ligado aos preços mais baixos comparados às demais carnes, por não haver restrição religiosa ao consumo, pela diversidade de produtos e suas características nutricionais. Essas vantagens são realçadas pela flexibilidade e relativa facilidade de produção (ciclo curto, intensivo). Com base no crescente consumo, o mercado de carne de aves aumentou seu potencial tanto nos países desenvolvidos como nos em desenvolvimento (Silva, 2001).

O prolongamento da vida útil das carcaças de frango é preocupação constante da indústria avícola (Miyagusku et al., 2003). Para assegurar a qualidade de um alimento, do ponto de vista de saúde pública e do aumento da sua vida-de-prateleira, vários são os métodos disponíveis para as indústrias de alimentos. Muitas técnicas têm sido preconizadas com o objetivo de controlar o processo de deterioração das carnes, envolvendo o uso de métodos físicos, químicos como o emprego da refrigeração e de congelamento, o uso de atmosferas modificadas, a descontaminação de carcaças pelo uso de ácidos orgânicos ou água aquecida e o emprego da irradiação (Lambert et al., 1991). A maioria age prevenindo ou inibindo o crescimento dos microrganismos (Andrews et al., 1998; Santos et al., 2003).

A necessidade de se oferecer um produto de qualidade ao consumidor final faz com que as tecnologias para o aumento de vida de prateleira dos produtos ganhem considerável importância, principalmente entre a indústria de irradiação de alimentos e dos fabricantes de embalagens (Jayas & Jeyamkondan, 2002). A aparência final do produto na embalagem é muito mais importante para o consumidor do que se imagina, sendo a expressão final e

definitiva de tudo que o produto é e significa, junto ao seu conteúdo (Carpenter et al., 2001).

As tecnologias de processamento da carne como a irradiação e de empacotamento, atmosfera modificada, evoluíram rapidamente nas últimas duas décadas. Conseqüentemente, o conhecimento das técnicas de irradiação de alimentos, das características dos sistemas e materiais de empacotamento, assim como os fatores do não-empacotamento que influenciam na manutenção da qualidade são essenciais na seleção de sistemas apropriados (Jayas & Jeyamkondan, 2002). Embora o uso de irradiação em alimentos e de embalagem em atmosfera modificada tenha sido assunto de muitas pesquisas nos últimos anos, pouco se sabe sobre o efeito destes métodos de processamento e armazenamento sobre a qualidade da carne de frango armazenada por diferentes períodos. Diante dessa necessidade, surgiu a realização dessa pesquisa onde, o tema foi tratado em dois capítulos da presente dissertação.

O Capítulo 2 denominado EFEITO DA IRRADIAÇÃO SOBRE A QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE FILÉS DE PEITO DE FRANGO ARMAZENADOS EM DIFERENTES PERÍODOS e o Capítulo 3 denominado EFEITO DA EMBALAGEM COM ATMOSFERA MODIFICADA SOBRE A QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE FILÉS DE PEITO DE FRANGO ARMAZENADOS EM DIFERENTES PERÍODOS apresentam-se de acordo com as normas de publicação da revista Brazilian Journal of Poultry Science.

No Capítulo 4 tem-se as implicações deste trabalho.

2 – Revisão de Literatura

2.1 – Carne de frango

O consumo da carne de frango tem aumentado significativamente. Segundo as estatísticas da Associação Brasileira dos Produtores e Exportadores de Frangos (ABEF), em 1989, o consumo brasileiro per capita de carne de frango era de 12,7kg/hab, em 1999 subiu para 29,1Kg/hab e em 2006 atingiu 35,7Kg/hab. Desta forma, a carne de frango vem assumindo papel cada vez mais importante na alimentação humana, principalmente por ser saudável e de baixo custo (Spoto et al., 1999).

Existe consenso por parte de consumidores, médicos e nutricionistas, de que a carne de aves é mais saudável que a carne vermelha. Isso está associado ao fato de que a primeira contém menos gordura saturada, apontada como a grande responsável por problemas cardiovasculares. Além de saudável, é um alimento altamente nutritivo. Uma porção de 100 gramas de filé de peito sem pele contém apenas 110 kcal e 23 gramas de proteína, sendo que com essa quantidade o consumidor estará satisfazendo 46% de suas necessidades diárias de proteína (Mendes, 2002).

Essa carne é comercializada normalmente refrigerada ou congelada, como: carcaças inteiras evisceradas, cortes como coxa, sobrecoxa, peito, asas e desossados na forma de filé de peito ou de coxa (Contreras et al., 2003).

.2 – Microbiologia da carne de frango

As características intrínsecas da carne, particularmente sua composição química, elevada disponibilidade de água (Aa) e pH próximo da neutralidade, são fatores que favorecem o desenvolvimento de microbiota extremamente variada (Leitão, 1995).

A carne de aves refrigerada é suscetível a contaminação, uma vez que na própria linha de abate existam pontos críticos, como o tanque de escalda, as depenadeiras, a linha de evisceração e o tanque de resfriamento, nos quais podem ocorrer contaminações cruzadas entre as carcaças.

Segundo pesquisas realizadas em frigoríficos dos Estados Unidos pelo Food Safety and Inspection Service (FSIS), no monitoramento do percentual de contaminação de carcaças de frango por *Salmonella* até o final do processamento, verificou-se que 3% a 5% eram positivos para *Salmonella* spp. quando chegavam à indústria e o percentual aumentava para 36% à medida que os frangos finalizavam as etapas de abate (Green, 1987).

A microbiota natural da carne fresca é constituída de microrganismos mesófilos e psicrotópicos e os mais comumente encontrados são *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Moraxella*, *Shewanella*, bactérias lácticas e enterobactérias (Gill & Newton, 1978; Egan, 1984; Lee & Han, 1986; Contreras et al., 2003). Algumas bactérias patogênicas ao homem, como *Salmonella*, *Campylobacter*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* e *Listeria monocytogenes*, também podem ser encontradas

(ICMSF, 1978; Cunningham, 1987; Faber, 1991; Contreras et al., 2003). Segundo Silva (1998), a contaminação das carcaças envolve adesão das bactérias por um filme líquido sobre a pele. Além disso, na avaliação microscópica da pele, observa-se múltiplas fissuras e propensão da mesma em expandir-se quando molhada, favorecendo a retenção de bactérias. Portanto, muitas das bactérias presentes podem estar aderidas ou retidas dependendo da sua localização.

Pesquisas mostram que no Brasil, a contaminação de carcaças de frango por *Salmonella* pode variar de 9,15 a 86,7% (Baú et al., 1999; Sá Barreto & Ramos, 1999; Almeida et al., 2000; Carvalho & Cortez, 2005).

O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento por meio da Instrução Normativa nº70 estabeleceu o Plano Nacional de Redução de Patógenos, para abate de aves e perus (Brasil, 2003). Este plano visa a realização de monitoramento dos estabelecimentos sob fiscalização federal e, com isso, criar ferramentas auxiliares na redução da contaminação por *Salmonella* spp (Bersot, 2006).

A resolução RDC nº12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, de 12 de janeiro de 2001, estabelece para carnes resfriadas ou congeladas “in natura” de aves (carcaças inteiras, fracionadas ou cortes) como único parâmetro microbiológico o número de coliformes termotolerantes, sendo este estipulado em 10^4 NMP/g (Brasil, 2001).

2.2.1– Microrganismos indicadores

Coliformes totais

Este grupo é composto por bactérias da família Enterobacteriaceae, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, quando incubados a 35–37°C, por 48h. São bacilos gram-negativos e não formadores de esporos, crescendo em sais biliares. Fazem parte desse grupo, predominantemente, bactérias pertencentes aos gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*. Destes, apenas a *Escherichia coli* tem como habitat primário o trato intestinal do homem e animais. Os demais, além de encontrados nas fezes, também estão presentes em outros ambientes como vegetais e solo, onde persistem por tempo superior ao de bactérias patogênicas de origem intestinal como *Salmonella* e *Shigella*. Conseqüentemente, a presença de coliformes totais no alimento não indica,

necessariamente, contaminação fecal recente ou ocorrência de enteropatógenos (Franco & Landgraf, 2005).

Coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*

As bactérias pertencentes a este grupo correspondem aos coliformes totais que apresentam a capacidade de continuar fermentando lactose com produção de gás, quando incubadas à temperatura de 44–45,5°C. Nessas condições, ao redor de 90% das culturas de *E. coli* são positivas, enquanto entre os demais gêneros, apenas algumas cepas de *Enterobacter* e *Klebsiella* mantêm essa característica.

A pesquisa de coliformes termotolerantes ou de *E.coli* nos alimentos fornece, com maior segurança, informações sobre as condições higiênicas dos produtos e melhores indicações de eventual presença de enteropatógenos (Franco & Landgraf, 2005).

Microrganismos mesófilos aeróbios ou anaeróbios facultativos

Esta contagem é comumente empregada para indicar a qualidade higiênica dos alimentos. A contagem elevada desse grupo de bactérias nos alimentos perecíveis pode indicar processamento inadequado e abuso durante o armazenamento em relação ao binômio tempo/temperatura. Esses microrganismos crescem em aerobiose e temperaturas de incubação entre 15 e 45 °C, com temperatura média de 35°C (Silva Jr., 2001). A deterioração de alimentos pode ser causada pelo crescimento de microrganismos que levariam alterações organolépticas. Neste caso, números elevados são esperados e variam com o tipo de alimento e microrganismo presente. A maioria dos alimentos apresenta, quando essas alterações são detectáveis, números superiores a 10⁶UFC/g do alimento. Entretanto, dependendo do microrganismo, são necessários 10⁷ ou até mesmo 10⁸UFC/g do alimento (Franco & Landgraf, 2005).

Microrganismos psicotróficos

Essa contagem avalia o grau de deterioração de alimentos refrigerados (Franco & Landgraf, 2005). Dentre os gêneros deste grupo estão a *Pseudomonas* e a *Listeria* (Farrag & Marth, 1989; Quinto et al., 1997; Santos et al., 1999, Rosa, 2004).

2.2.2 – Microrganismo patogênico - *Salmonella*

Características do microrganismo

O gênero *Salmonella* pertence à família Enterobacteriaceae e compreende bacilos Gram-negativos não produtores de esporos. São anaeróbios facultativos, produzem gás a partir de glicose (exceto *S. Typhi*) e são capazes de utilizar o citrato como única fonte de carbono. A maioria é móvel, por meio de flagelos peritríquios, com exceção de *S. Pullorum* e à *S. Gallinarum*.

O pH ótimo para multiplicação das salmonelas fica próximo de 7,0 sendo que valores superiores a 9,0 e inferiores à 4,0 são bactericidas. Dependendo da natureza do ácido utilizado para acidificação, o pH mínimo pode subir para 5,5. Os ácidos acéticos, o ácido propiônico e o ácido butírico são mais inibitórios do que os ácidos clorídrico e acético, para um mesmo pH. As salmonelas não toleram concentrações de sal superiores a 9%, O nitrito é inibitório e seu efeito é acentuado pelo pH ácido. A temperatura ideal para multiplicação de *Salmonella* é 35-37°C, sendo a mínima de 5°C e a máxima de 47°C (Franco & Landgraf, 2005).

Características da doença

As doenças causadas por *Salmonella* costumam ser subdivididas em três grupos: a febre tifóide, causada por *Salmonella Typhi*, as febres entéricas, causadas por *Salmonella Paratyphi* (A, B e C) e as enterocolites ou salmoneloses, causadas pelas demais salmonelas.

A febre tifóide só acomete o homem, e normalmente é transmitida por água e alimentos contaminados. Os sintomas são muito graves e incluem septicemia, febre alta, diarreia e vômitos.

As febres entéricas são bastante semelhantes à febre tifóide, mas os sintomas clínicos são mais brandos. Enquanto a febre tifóide pode durar de uma a oito semanas, as febres entéricas duram, no máximo, três semanas.

As salmoneloses caracterizam-se por sintomas que incluem diarreia, febre, dores abdominais e vômitos. Os sintomas aparecem, em média, de 12 a 36 horas após o contato com o microrganismo e duram entre um e quatro dias (Franco & Landgraf, 2005).

Patogenicidade

Acreditava-se que para um indivíduo adquirir salmonelose de origem alimentar, era necessária a ingestão de número elevado de células viáveis de *Salmonella* no alimento ($>10^8$ UFC). No entanto, diversos fatores podem alterar esse valor. O estabelecimento dos sintomas de salmonelose, bem como a sua gravidade, dependem do sorotipo de *Salmonella* envolvido, da competência dos sistemas de defesa inespecíficos e específicos do indivíduo afetado e das características do alimento. Assim, por exemplo, em alimentos com elevados teores lipídicos, as salmonellas ficam “protegidas” dentro dos glóbulos de gordura, não sendo afetadas por enzimas digestivas ou pela acidez gástrica. Nestes casos, doses infectantes de até 50 UFC/g podem causar os sintomas da infecção (Franco & Landgraf, 2005).

Na maioria das vezes, em adulto sadio, a salmonelose causa apenas enterocolite que evolui sem complicações e desaparece em uma semana, ou menos. Entretanto, se o hospedeiro for criança no primeiro ano de vida, a infecção causada por estas salmonelas pode evoluir de maneira diferente e ser bastante grave, podendo invadir a circulação sanguínea, provocando infecções em outros órgãos (Trabulsi, 1991).

2.3 – Congelamento de carne de aves

O congelamento é uma importante técnica na conservação de alimentos. A atividade microbiológica em alimentos congelados é controlada pela limitação da atividade de água e diminuição da temperatura do produto. Deste modo, a qualidade do produto pode ser mantida por longo período. Entretanto, o congelamento contribui pouco para a redução da flora bacteriana do produto, além de existir a possibilidade de bactérias patogênicas ou deteriorantes sobreviverem durante a estocagem (Takano et al., 1979). Embora as causas básicas de injúria e destruição celular, durante o congelamento, sejam de certo modo conhecidas, os efeitos quantitativos não podem geralmente ser previstos devido a diversos fatores que podem influenciar a taxa de sobrevivência. Os fatores relevantes incluem a natureza dos microrganismos, a composição do alimento, a temperatura de congelamento, o tempo de armazenamento congelado e o processamento e sanificação do alimento (Delazari, 1980).

Os microrganismos podem ser divididos em três grupos quanto à resistência ao congelamento. Os sensíveis, no qual estão incluídas as células vegetativas, bem como as bactérias gram-negativas pertencentes ao grupo dos coliformes, *Pseudomonas*, *Achromobacter* e *Salmonella*, embora esta última seja aparentemente mais resistente. O grupo dos microrganismos levemente resistentes, que são as bactérias gram-positivas, tais como *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus*. O terceiro grupo, o dos microrganismos resistentes ao congelamento, é formado por esporos; os esporos de *Bacillus* e *Clostridium* são altamente resistentes, enquanto os esporos de fungos estão agrupados nos levemente resistentes (Christophersen, 1968; Nunes, 2003).

2.4 – Irradiação de carne de aves

A fim de atender as necessidades de aumento da vida de prateleira e diminuição dos riscos à saúde humana pela contaminação por microrganismos, não só o setor avícola, mas todo o setor alimentício passou a pesquisar e investir em novos processos tecnológicos como a irradiação para conservação de seus produtos.

No Brasil, o pioneiro foi o Laboratório de Irradiação Gama do Centro de Desenvolvimento de Tecnologia Nuclear (CDTN), que congrega a Comissão Nacional de Energia Nuclear. Em 1992, diante de tantos benefícios que poderiam ser proporcionados pela irradiação, o CDTN fez uma campanha massiva de divulgação junto ao empresariado nacional. No entanto, este ficou relutante, apesar das nítidas vantagens, devido aparente rejeição pelos consumidores. Assim, somente em 1998 o CDTN desenvolveu pesquisas a fim de provar que o uso da irradiação era viável. O laboratório começou a ser construído, iniciando suas atividades em outubro de 2001. O irradiador pode funcionar 24h por dia alimentado pela fonte de cobalto 60, elemento não existente na Natureza e que emite radiações gama. Para obter a fonte, é preciso trabalhar com o cobalto 59 (existente na natureza), que passa por processo de bombardeamento de nêutrons e seu núcleo absorve mais um nêutron tornando-se o cobalto 60 (FUNDEP-UFMG, 2007).

Em 1990, o Food and Drug Administration (FDA) aprovou a irradiação de frango para controlar patógenos de origem alimentar (Pauli & Tarantino, 1995; Santos et al., 2003). No Brasil, a irradiação de alimentos foi normatizada pela Agência Nacional de

Vigilância Sanitária por meio da resolução RDC 21 de 26 de janeiro de 2001, a qual estabelece as diretrizes para aplicação do processo de irradiação. Por meio dessa resolução também ficou estabelecido que todo produto tratado com energia ionizante deve ser rotulado. No rótulo deve constar a frase: "Alimento tratado por processo de Irradiação" e mesmo que apenas uma parte do produto ou um ingrediente seja tratado por energia ionizante, a frase deve constar no rótulo (Brasil, 2001). Segundo a definição da ANVISA, a irradiação de alimentos é um processo físico de tratamento que consiste em submeter o alimento, já embalado ou a granel, a doses controladas de irradiação ionizante, por tempo prefixado e com objetivos bem determinados com finalidade sanitária, fitossanitária e ou tecnológica. Segundo o *Codex Alimentarius* (1999), a dose a ser utilizada deve ser suficiente para prolongar a vida de prateleira ("shelf-life") e eliminar os microrganismos patogênicos, principalmente *Salmonella*, sendo que o nível preconizado para a carne de frango pelo *Codex Alimentarius* (1999) de 7 kGy, com o propósito de aumentar a vida-útil e promover a descontaminação (Oliveira, 2000).

Segundo Diehl (1995), o processo de irradiação pode impedir a divisão de células vivas (bactérias e organismos superiores) ao alterar suas estruturas moleculares, além de retardar a maturação de algumas frutas e legumes, ao produzir reações bioquímicas nos processos fisiológicos dos tecidos vegetais.

As fontes de irradiação permitidas são aquelas autorizadas pela Companhia de Energia Nuclear (CNEN): Cobalto 60, Césio 137, Raios X gerados por máquinas que trabalham com energia até 5 MeV e elétrons acelerados gerados por máquinas que trabalham com energia até 10 MeV. Contudo, o Cobalto-60 é o mais utilizado comercialmente em todo mundo devido as suas vantagens como a disponibilidade, baixo custo, alto poder de penetração, boa uniformidade de dose, apresentação na forma metálica e insolúvel em água, proporcionando com isso maior segurança ambiental (Ehlermann, 1990). Como desvantagem apresenta meia-vida de 5,3 anos, e por isso 12% da fonte deve ser repostada anualmente para manter o potencial original (Jarret, 1987).

Segundo o International Consultive Group On Food Irradiation (1999), mesmo que os alimentos fossem expostos a doses de radiação muito elevadas, o nível máximo de radioatividade seria 200.000 vezes menor do que o nível de radioatividade naturalmente

presente no alimento. Ao penetrar nos alimentos, parte da energia da radiação ionizante é absorvida, sendo que a quantidade que passa pela massa do produto exposto é denominada "dose absorvida". A unidade para a dose de irradiação é o Gray (Gy) que corresponde à absorção de 1 Joule de energia/kg de matéria (Diehl, 1995).

Um exemplo de irradiação em alimentos foi proposto por Grégoire e colaboradores, para uso de raios-X de alta energia em carnes vermelhas. Neste trabalho, foi usada carne moída de boi, a qual foi irradiada com raios-X de 7,5 MeV ("Bremsstrahlung"), a uma dose de 15 kGy, duas vezes maior que a permitida pelo FDA para irradiação de carne, para assim avaliar o efeito da radiação. Ainda foram analisados os radioisótopos presentes na carne, antes e após a irradiação e, depois, a comparação entre elas para se estabelecer a margem de segurança do alimento irradiado. Foi verificado que a carne não-irradiada contém naturalmente uma pequena quantidade de isótopos radioativos, entre eles o ^{40}K , levando a uma dose baixa de exposição. A carne após ser irradiada com o "Bremsstrahlung" não teve sua radioatividade natural aumentada e, por isso, o risco para indivíduos que ingerem alimentos irradiados por raios-X, gerados por elétrons com energia nominal tão alta quanto 7,5 MeV, é desprezível (Xavier et al., 2007).

As doses de radiação aplicadas podem-se distinguir em três processos: radapertização, também chamado de esterilização comercial, que consiste em aplicações de doses de radiação suficientes para eliminar todos os microrganismos vivos, de forma que não possam ser detectados por método microbiológico, usando-se doses elevadas, de 10 a 70 kGy; a radicação ou radiopasteurização, que se assemelha ao processo de pasteurização, eliminando apenas os microrganismos patogênicos, usando doses intermediárias de 1 a 10 kGy. Já a radurização é a aplicação de doses ionizantes que não alteram o produto, mas reduzem sensivelmente sua carga microbiana, usando doses baixas de 0,5 a 1 kGy (Jay, 1994; Franco & Landgraf, 2005).

A sobrevivência de microrganismos ao processamento com radiação ionizante depende de alguns fatores, que incluem a natureza e extensão do dano direto produzido ao DNA. Além disso, a sobrevivência das células depende da sua capacidade em resistir à radiação ionizante e sofrer reparo. Também depende de condições ambientais extracelulares, tais como o pH, a temperatura, a presença ou ausência de oxigênio e a

composição química do alimento. A radiação ionizante danifica o DNA em nível celular, debilitando, assim, processos bioquímicos (Diehl, 1995 e Monk et al., 1995; Rosa, 2004).

Atualmente, os irradiadores de cobalto 60 são instalados num "bunker", câmara de irradiação cujas paredes são blindagens de concreto. Essa fonte, quando não está em operação, fica armazenada numa piscina (poço) com água tratada, revestida por um "liner" (revestimento) de aço inox, no interior da blindagem. Para serem irradiados, os alimentos são colocados em "containers" e por meio de um monotrilha são conduzidos para o interior da câmara, onde recebem a dose programada de radiação gama. Operadores qualificados controlam e monitoram eletronicamente a fonte de radiação e o tratamento dos produtos, por meio de um console situado fora da câmara de irradiação (Walder & Camargo, 2007).

O processo de irradiação de alimentos apresenta muitas vantagens, destacando-se o fato de que o produto pode ser tratado em sua embalagem final, evitando recontaminação, não há elevação da temperatura durante o tratamento, não apresenta riscos ao consumidor como os agrotóxicos, pesticidas e alguns aditivos, atende às exigências do mercado importador e tem menor custo que a maioria dos outros métodos de conservação de alimentos (Maliska, 2000).

2.5 – Atmosfera modificada para carne de aves

Apesar de todos os avanços científicos e tecnológicos da avicultura, a vida útil dos produtos mantidos sob atmosfera normal ou sem a presença de conservantes em sua composição é limitada. A refrigeração pode retardar alterações indesejáveis, mas não aumenta, satisfatoriamente, a vida útil para atender as exigências de distribuição e comercialização (Souza, 2003). Diante disso, a embalagem em atmosfera modificada é um dos métodos de preservação de alimentos que mantém a qualidade natural, prolongando o tempo de estocagem dos mesmos. O período de estocagem dos alimentos é consideravelmente maior pela modificação da atmosfera que circunda o produto, pela redução da taxa de respiração dos alimentos e diminui a atividade dos microrganismos presentes (Jayas et al, 2002). Esse tempo pode aumentar em até quatro vezes a vida útil dos alimentos, quando comparados aos embalados convencionalmente mantidos sob refrigeração (Parry, 1993). Além disso, atende à crescente demanda dos consumidores por

alimentos frescos e de boa qualidade, com maior vida útil, porém sem conservantes e aditivos (Soccol, 1999).

Segundo Vainionpää (2004), a vida de prateleira de carnes frescas aumenta significativamente quando são acondicionadas em embalagens com atmosfera modificada. Este método consiste na substituição da atmosfera que rodeia o produto no momento da embalagem por outra (um gás ou mistura otimizada de gases como CO₂, N₂ e O₂), especialmente preparada para cada tipo de alimento. Isto permite controlar melhor as reações químicas e enzimáticas e o crescimento de microrganismos, evitando ou minimizando as principais degradações que ocorrem durante o período de armazenamento (Brody, 1993; Parry, 1993; Leistner & Garris, 1994; Madrid et al., 1995; Teodoro et al., 2007).

A atmosfera modificada pode ser obtida por meios ativos ou passivos. A modificação passiva ocorre por meio da própria respiração do produto dentro da embalagem, até que ocorra um equilíbrio. Na modificação ativa, a obtenção da atmosfera é criada inflando-se o espaço livre da embalagem com uma mistura gasosa predeterminada, por sachê ou incorporada diretamente à embalagem, capaz de promover alterações na composição gasosa. Em ambos os casos, uma vez que a atmosfera modificada se estabeleça, ela é mantida por um equilíbrio dinâmico entre respiração e permeação (Hotchkiss, 1995; Yam & Lee, 1995).

Os gases de maior interesse para sistemas de embalagens com atmosfera modificada para alimentos são os gases carbônico, nitrogênio e oxigênio. O dióxido de carbono é responsável pelo efeito fungistático e bacteriostático, solúvel em meio aquoso ou lipídico. Sua ação sobre os microrganismos tem sido atribuída à redução do pH, devido a sua dissolução no meio, às alterações de permeabilidade celular bacteriana e a inibição enzimática, resultando no aumento da fase lag e no tempo de geração dos microrganismos (Church, 1993; Sarantópoulos & Soller, 1994; Rosa, 2004). Em concentrações superiores a 5% desse gás, a atmosfera provoca inibição do crescimento de bolores e bactérias psicrófilas Gram-negativas, como *Pseudomonas*, *Acinetobacter* e *Moraxella*, que são importantes deteriorantes de carne e derivados e de alimentos refrigerados (Franco & Landgraf, 2005).

O nitrogênio, gás quimicamente inerte, com baixa solubilidade tanto em meio aquoso quanto lipídico, é muito utilizado para substituir o O₂, retardando a rancidez oxidativa e inibindo o crescimento de microrganismos aeróbios. Além disso, pode prevenir colapso de embalagens com atmosferas contendo altas concentrações de CO₂, devido a sua baixa solubilidade e menor permeabilidade através da embalagem em relação ao O₂ e CO₂ (Day, 1992; Church, 1993; Rosa, 2004).

Segundo Sarantópoulos et al. (1998), a vida de prateleira de carne de aves resfriadas de 0 a 4°C tem sido estabelecida entre oito e dez dias, embora o odor pútrido apareça em menos de sete dias, mesmo em boas condições de refrigeração. Isso se deve principalmente pela dificuldade de comercialização do produto em torno de 0°C e da alta contaminação inicial. Esses autores, afirmaram que a carne de aves difere das de outros animais porque a contaminação da carcaça ou dos miúdos pode aumentar durante o processo de abate, devido ao resfriamento por imersão em tanques com água, favorecendo a contaminação cruzada. Assim, a vida útil da carne de frango depende da temperatura de estocagem, do tipo e número inicial de bactérias, da concentração inicial de CO₂, da efetiva barreira do filme da embalagem e da quantidade de gás no espaço livre (Farber, 1991). Desta maneira, esse método não deve ser utilizado para corrigir falhas ocorridas durante o processo de produção e comercialização (Sarantópoulos, 1998).

Apesar de observado que a atmosfera das embalagens não apresenta grandes variações com a estocagem, as concentrações de oxigênio, dióxido de carbono e nitrogênio são alteradas progressivamente, com o oxigênio decrescendo mais rapidamente, enquanto a concentração de nitrogênio aumenta progressivamente com a diminuição das concentrações dos outros gases (Gill, 1996).

Em experimento realizado por Xavier (1990), a carne de frango refrigerada (0-2°C) embalada convencionalmente com vida útil de sete dias, quando armazenada em embalagem com atmosfera modificada contendo de 25% a 100% de CO₂ conseguiu atingir vida de prateleira de 21 dias com qualidade microbiológica superior.

São muitas as vantagens do uso da tecnologia de atmosfera modificada, porém algumas desvantagens também devem ser consideradas. Dentre as vantagens estão o potencial aumento da vida útil do produto; os produtos podem ser comercializados e

distribuídos a longas distâncias, com redução de perdas e conseqüente possibilidade de economia; comercialização de produtos de alta qualidade, principalmente frescos, aumentando o volume de vendas; melhor apresentação, agregando valor ao produto e possibilitando maior aceitação; eliminação ou redução do uso de conservantes. As desvantagens são o custo adicional, devido ao uso de embalagens e equipamentos especiais e gases específicos; controle imprescindível da temperatura, desde a fabricação até o consumidor, para efetividade dos gases; necessidade de formulações de gases diferentes para cada tipo de produto; eficiência do equipamento de acondicionamento (Jeremiah, 2001; Boldrin et al., 2006).

3 - Referências Bibliográficas

ALMEIDA, IC, GONÇALVES, PMR, FRANCO, RM. et al. Isolamento e identificação de *Salmonella* em carcaças de frango congelados e frescos, através de método rápido. *Higiene Alimentar* 2000; 14(70): 59-62.

ANDREWS, WH, FLOWERS, RS, SILLIKER, J. et al. *Salmonella* In: DOWNES FP, ITO, K. (Eds). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. Washington: Apha. 2001, p.357-380.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES E EXPORTADORES DE FRANGOS. Estatísticas (on-line). Disponível em <http://www.abef.com.br> - acessado em 25 de junho de 2007.

BAU, AC, CARVALHAL, JB, ALEIXO, JAG. *Salmonella* em produtos de frango e ovos de galinha comercializados em Pelotas-RS. *Higiene Alimentar* 1999; 13(60): 26.

BERSOT, LS. *Salmonella* no Brasil: sua importância no abate de aves. In: V Simpósio de Sanidade Avícola da UFSM. Universidade Federal de Santa Maria, 2006.

BOLDRIN, MCF, SILVEIRA, NF de A, SILVEIRA, ETF. O uso de embalagem com atmosfera modificada com ênfase em carne de aves. *Revista Avicultura Industrial*. 1147/2006. Disponível em: http://www.aviculturaindustrial.com.br/site/dinamica.asp?id=22947&tipo_tabela=cet&categoria=processamento. Acessado em 09/07/2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, Resolução - RDC nº12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos, 2001. Disponível em <http://anvisa.gov.br/legis/resol>. Acessado em 26 de junho de 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, Resolução - RDC n.21, de 29 de janeiro de 2001. Regulamento técnico para irradiação de alimentos. Disponível em http://anvisa.gov.br/legis/resol/21_01rdc.htm. Acessado em 26 de junho de 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº70 de 06 de outubro de 2003. Programa de Redução de Patógenos – Monitoramento Microbiológico e Controle de *Salmonella* sp. em Carcaças de Frangos e Perus, em conformidade com o Anexo desta Instrução Normativa.

BRODY, AL. The market. In Principles and Applications of Modified Atmosphere Packaging of food. London: Blackie Academic & Professional. 1993, p.19-40.

CARPENTER, CE, CORNFORTH, DP, WHITTIER, D. Consumer preferences for beef color and packaging did not affect eating satisfaction. Meat Science 2001; 57: 359–363.

CARVALHO, ACFB, CORTEZ, ALL. *Salmonella* spp. em carcaças, carne mecanicamente separada, lingüiças e cortes comerciais de frango. Ciência Rural 2005; 35(6): 1465-1468.

CHRISTOPHERSEN, J. Effects of freezing and thawing on the microbial population of foodstuffs. In: HAWTHORN, J, ROLFE, EJ. (Ed.). Low temperature biology of foodstuffs. Oxford: Pergamon Press. 1968, p. 251-269.

CHURCH, PN. Meat products. In: PARRY, RT. Principles and applications of modified atmosphere packaging of food. London: Blackie Academic & Professional. 1993, p. 229-268.

CODEX ALIMENTARIUS. General requirements, 2nd. Rome: FAO/WHO. 1999, 390p.

CONTRERAS, CC, BROMBERG, R, CIPOLLI, KMOVAB. et al. Higiene e sanitização na indústria de carnes e derivados. São Paulo: Varela. 2003, 182p.

CUNNINGHAM, FE. Types of microorganisms associated with poultry carcasses. In: CUNNINGHAM, FE, COX, NA. The microbiology of poultry meat products. Orlando: Academic Press. 1987, p. 29-38.

- DAY, BPF. Guidelines for the good manufacturing and handing of modified atmosphere packed food products. Gloucestershire: The Campden Food and Drink Research Association. 1992, 79p.
- DELAZARI, I. Microbiologia de alimentos congelados. I. Efeito do congelamento sobre os microrganismos. Boletim do ITAL 1980; 17(1): 15-30.
- DIEHL, JF. Safety of irradiated foods. New York: Marcel Dekker. 1995, 454p.
- EGAN, AF. Microbiology and storage life of chilled fresh meats. In: European Meeting of Meat Research Workers, 30, 1984, Bristol. Proceedings...Bristol. p. 211-214, 1984.
- EHLERMANN, DAE. Food Irradiation. In: SPIESS, WEL, SCHUBERT, H. (Ed). Engineering and food: Preservation processes and related techniques. Elsevire Applied Science 1990, 2: 760-773.
- FARBER, JM. Microbiological aspects of modified atmosphere packaging technology – a review. Journal of Food Protection 1991, 54(1): 58-70.
- FARRAG, SA, MARTH, EH. Growth of *Listeria monocytogenes* in the presence of *Pseudomonas fluorescens* at 7 or 13°C in skim milk. Journal of Food Protection 1989, 52(12): 852-855.
- FRANCO, BDGM, LANDGRAF, M. Microbiologia dos alimentos. São Paulo: Atheneu. 2005, 183p.
- FUNDAÇÃO DE DESENVOLVIMENTO DA PESQUISA - FUNDEP. Universidade Federal de Minas Gerais. Irradiação com raios gama (on-line). Disponível em: <http://www.fundep.ufmg.br/homepage/cases/488.asp>. Acessado em 02/07/2007.
- GILL, CO, NEWTON, KG. The ecology of bacterial spoilage of fresh meat at chill temperatures. Meat Science 1978, 2(3): 207-217.
- GILL, CO. Extending the storage life of raw chilled meats. Meat Science 1996, 43: S99 – S109.
- GREEN, SS. Results of a national survey: *Salmonella* in broilers and overflow chill tank water 1982-1984. Washington: United States Department of Agriculture, Food Safety and Inspection Service, Science, 20250, 1987.
- HOTCHKISS, JH. Safety consideration inactive packaging. In: ROONEY, ML. Active food packaging. Glasgow: CHAMPMAN & HALL. 1995, p. 238-255.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS – ICMSF. Microorganisms in foods 1: their significance and methods of enumeration. 2ed. Toronto: University of Toronto Press. 1978, 434p.

INTERNATIONAL CONSULTIVE GROUP ON FOOD IRRADIATION. Facts about food irradiation. Viena, 1999, 48p.

JARRET, RD. Isotope (gamma) radiation sources. In: JOSEPHSON, ES.; PETERSON, MS. Preservation of food by ionizing radiation. Boca Raton: CRC Press. 1987, v.1, cap.3, p. 137-163.

JAY, JM. Microbiologia moderna de los alimentos. 3.ed. Zaragoza: Acribia. 1994, 580p.

JAYAS, DS & JEYAMKONDAN, S. Modified Atmosphere Storage of Grains Meats Fruits and Vegetables. Biosystems Engineering 2002, 82(3): 235 – 251.

JEREMIAH, LE. Packaging alternatives to deliver fresh meats using short – or long – term distribution. Food Research International 2001, 34: 749 – 772.

LAMBERT, AD, SMITH, JP, DODDS, KI. Shelf life extension and microbiological safety of fresh meat – a review. Food Microbiology 1991, 8: 267-297.

LEE, SH, HAN, SK. Effect of potassium sorbate on shelf-life and psychrotrophic flora of fresh poultry. Korean Journal of Animal Science 1986, 28(11): 742-746.

LEISTNER, L & GORRIS, LGM. Food Preservation by combined processes. FLAIR (Food Linked Agro-Industrial Research) 1994, p. 51-64.

LEITÃO, MFF. Controle microbiológico da qualidade no processamento industrial de bovinos. In: Ciência e tecnologia da carne bovina. Campinas: CTC/ITAL. 1995, p.89-96.

MADRID, A. et al. Manual de indústria de alimentos. São Paulo: Livraria Varela. 1995, p. 519 – 530.

MALISKA, C. Conservação de alimentos por irradiação. Higiene Alimentar 2000, 14: 16-17.

MENDES, AA. Carne de frango saudável e nutritiva. Revista Avicultura Industrial. 05/11/2002. Disponível em:

http://www.aviculturaindustrial.com.br/site/dinamica.asp?id=3037&tipo_tabela=negocios&categoria=marketing. Acessado em 09/07/2007.

- MIYAGUSKU, L, CHEN, F, LEITÃO, MF de F. *et al.* Avaliação microbiológica e sensorial da vida-útil de cortes de peito de frango irradiados. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 2003, 23 (suplemento): 7 – 16.
- MONK, JD, BEUCHAUT, LR, DOYLE, MP. Irradiation inactivation of foodborne microorganisms. *Journal of Food Protection* 1995, 58(2): 197-208.
- NUNES, TP. Efeitos da pré-cura na estabilidade microbiológica de carne mecanicamente separada e elaboração de um produto reestruturado com filés de peitos de galinhas de descarte. Piracicaba: ESALQ/USP 2003. 101p. Dissertação (Mestrado em Ciências, Área de Concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luis de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- OLIVEIRA, LC. Present situation of food irradiation in South America and the regulatory perspectives for Brazil. *Radiation Physics and Chemistry* 2000, 57: 249-252.
- PARRY, RT. Envasado de los alimentos en atmósfera modificada. Madrid(España): A Madrid Vicent. 1993, p.13-31.
- PAULI, GH, TARANTINO, LM. FDA regulatory aspects of food irradiation. *Journal of Food Protection* 1995, 58(2): 209-212.
- QUINTO, EJ, FRANCO, CM, FENTE, CA. *et al.* Growth of *Escherichia coli* O157:H7 in the presence of *Pseudomonas fluorescens* in skimmed milk at 7 or 25°C. *Journal of Food Safety* 1997, 16(4): 273-285.
- ROSA, VP da. Efeitos da atmosfera modificada e da irradiação sobre as características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais do queijo Minas Frescal, Piracicaba: ESALQ/USP 2004. 141p. Dissertação (Mestrado em Ciências, Área de Concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luis de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- SÁ BARRETO, ES, RAMOS, SM. Pesquisa de *Salmonella* em cortes congelados de frangos comercializados no município do Rio de Janeiro. *Higiene Alimentar* 1999, 13(61): 53-54.
- SANTOS, AF, VIZEU, DM, DESTRO, MT. *et al.* Determinação da dose de radiação gama para reduzir a população de *Salmonella* spp em carne de frango. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 2003, 23(2): 200-205.

- SANTOS, ES, CARVALHO, EP, ABREU, LR. Psicotróficos: Conseqüências de sua presença em leites e queijos. Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos 1999, 33(2): 129-138.
- SARANTÓPOULOS, CIGL, SOLLER, RM. Embalagens com atmosfera modificada/controlada. Catálogo Brasileiro de Produtos e Serviços. Campinas: ITAL. 1994, p. 32-42.
- SARANTÓPOULOS, CIGL, ALVES, RVM, OLIVEIRA, LM. et al. Embalagens com atmosfera modificada. 2 ed. Campinas: CETEA/ITAL. 1998, 114p.
- SILVA, JCT da. Carne de Frango: aumenta a demanda mundial e a produção brasileira acompanha o crescimento. Revista Avicultura Industrial. 18/12/2001. Disponível em: http://www.aviculturaindustrial.com.br/site/dinamica.asp?id=1338&tipo_tabela=produtos&categoria=frango_de_corte. Acessado em 05/07/2007.
- SILVA JUNIOR, EA. Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos. 4.ed. São Paulo: Varela. 2001, 477p.
- SOCCOL, MCH. Otimização da vida útil da Tilápia cultivada (*Oreochromis niloticus*), minimamente processada e armazenada sobre refrigeração, Piracicaba: ESALQ/USP 1999. 141p. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luis de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- SOUZA, VG. Efeito da embalagem em atmosfera modificada e do ácido lático sobre a vida útil de lingüiça frescal de frango, Niterói: UFF 2003. 59p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Área de Concentração: Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) – Universidade Federal Fluminense.
- SPOTO, MHF, GALLO, CR, DOMARCO, RE. et al. Radiação gama na redução da carga microbiana de filés de frango. Ciência e Tecnologia de Alimentos 1999, 19(3): 397-400.
- TAKANO, M, SIMBOL, AB, YASIN, M. et al. Bactericidal effect of freezing with chemical agents. Journal of Food Science 1979, 44(1): 112-115.
- TEODORO, AJ, ANDRADE, ECB, MANO, SB. Avaliação da utilização de embalagem em atmosfera modificada sobre a conservação de sardinhas (*Sardinella brasiliensis*). Ciência e Tecnologia de Alimentos 2007, 27(1): 158-161.
- TRABULSI, LR. Microbiologia. 2. ed. São Paulo: Atheneu. 1991, 398p.

VAINIONPÄÄ, J, SMOLANDER, M, ALAKOMI, H-L. et al. Comparison of different analytical methods in the monitoring of the quality of modified atmosphere packaged broiler chicken cuts using principal component analysis. *Journal of Food Engineering* 2004, 65: 273-280.

WALDER, JMM, CAMARGO, AC de. Divulgação da tecnologia de irradiação de alimentos e outros materiais. Equipamentos utilizados para irradiação de alimentos e/ou outros materiais (on-line). Centro de Energia Nuclear na Agricultura – Universidade de São Paulo. Disponível em <http://www.cena.usp.br/irradiacao/index.asp> - acessado em 09/07/2007.

XAVIER, C. V. A. Estudo da vida de prateleira da carne suína embalada sob atmosfera modificada, São Paulo: USP 1990. 132p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Universidade de São Paulo.

XAVIER, AM, LIMA, AG, VIGNA, CRM. Marcos da história da radioatividade e tendências atuais. *Química Nova* 2007, 30(1): 83-91.

YAM, KL, LEE, DS. Design of modified atmosphere packaging for fresh produce. In: ROONEY, ML. *Active food packaging*. Glasgow: CHAMPMAN & HALL. 1995, p. 55-73.

CAPÍTULO 2

EFEITO DA IRRADIAÇÃO SOBRE A QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE FILÉS DE PEITO DE FRANGO ARMAZENADOS EM DIFERENTES PERÍODOS

Resumo

Estudou-se o efeito da irradiação na redução e/ou destruição de microrganismos presentes em filés de peito de frango armazenados sob refrigeração e congelamento. Foram obtidos 40 filés de peito de frango, provenientes de abatedouro comercial inspecionado pelo SIF. As amostras foram acondicionadas em embalagens plásticas seladas a vácuo, sendo em seguida resfriadas ou submetidas ao congelamento lento. As amostras foram irradiadas com dose de 3 kGy e em seguida armazenadas em câmara frigorífica (4°C) por 21 dias ou freezer (-18°C) por 90 dias, conforme o tratamento. Foram realizadas análises microbiológicas para enumeração de microrganismos mesófilos aeróbios ou anaeróbios facultativos, psicrotróficos, determinação do Número Mais Provável de coliformes totais e termotolerantes e detecção da presença de *Salmonella*. A dose de 3 kGy foi suficiente para melhorar a qualidade microbiológica dos filés de frango e oferecer maior segurança para o consumidor, quanto à presença de *Salmonella*.

Palavras-chave: irradiação, filé de frango, vida-útil, *Salmonella*.

EFFECT OF IRRADIATION ON THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF CHICKEN BREAST STORED IN DIFFERENT PERIODS

Abstract

The effect of irradiation on the reduction and/or destruction of microorganisms present in chicken breast stored under refrigeration and freezing was studied. Forty chicken breast filets were obtained from a slaughterhouse inspected by the SIF. The samples were placed in vacuum plastic packages and then they were refrigerated or submitted to slow freezing. The samples were irradiated with a dose of 3 kGy and then stored in cold room (4°C) for 21 days or freezer (-18°C) for 90 days, according to treatment. Microbiological analyses were performed to determine the number of mesophilic aerobic microorganisms,

or optional anaerobic, psychrotrophic, determination of the number of total and thermotolerant coliforms and detection of the presence of *Salmonella*. The dose of 3 kGy was enough to improve the microbiological quality of the chicken breast and provide more safety to the consumers, regarding the presence of *Salmonella*.

Key-words: irradiation, chicken breast, shelf life, *Salmonella*.

1. Introdução

Com o aumento das necessidades mundiais de alimentos, foram aumentando os problemas advindos da demanda de estruturas adequadas de armazenamento e processamento, levaram à busca de novos métodos de preservação. Neste contexto, a irradiação é utilizada como um método de preservação de alimentos, tanto in natura quanto como coadjuvante dos processados industriais (Villavicencio, 1998; Siqueira, 2001).

O processo de irradiação de alimentos apresenta muitas vantagens, destacando-se o fato de que o produto pode ser tratado em sua embalagem final, evitando recontaminação, não há elevação da temperatura durante o tratamento, não apresenta riscos ao consumidor como os agrotóxicos, pesticidas e alguns aditivos, atende às exigências do mercado importador e tem menor custo que a maioria dos outros métodos de conservação de alimentos (Maliska, 2000).

A irradiação de alimentos com doses de 2 – 7kGy, dependendo da condição de irradiação (temperatura durante o processo, por exemplo) e do alimento, pode reduzir significativamente microrganismos patogênicos incluindo tanto os já conhecidos como *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus* como os emergentes como *E.coli* O157: H7 (Gelli et al., 1998).

Segundo Helson (1997) os alimentos julgados mais importantes na transmissão de *Salmonella* são aves e produtos à base de aves e a estratégia mais eficiente para a redução deste patógeno é a aplicação de irradiação nos produtos, bem como a adoção do sistema de análise de perigo em pontos críticos de controle (HAACP).

Assim sendo, o objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito da irradiação sobre a qualidade microbiológica de filés de peito de frango, através da realização de análises microbiológicas em diferentes tratamentos.

2 – Material e Métodos

2.1 – Obtenção das amostras

Para o experimento foram obtidos 40 filés de peitos de frangos, provenientes de um abatedouro comercial inspecionado pelo SIF.

2.2 – Fracionamento dos filés de frangos e preparo das embalagens

O trabalho foi conduzido na linha de abate do abatedouro. Cada peito foi dividido em oito partes (número de tratamentos) de 25gr cada, com o auxílio de faca esterilizada. Todas as 320 amostras (40 amostras/tratamento) foram embaladas em embalagem plástica e seladas em uma seladora a vácuo modelo 30I, sendo em seguida resfriadas ou submetidas ao congelamento lento de acordo com os tratamentos:

Grupo dos Resfriados:

Tratamento 1: amostra para determinação da carga microbiana inicial;

Tratamento 2: refrigerada e submetida irradiação;

Tratamento 3: sem irradiação e mantida em refrigeração por 21 dias;

Tratamento 4: irradiada mantida em refrigeração por 21 dias;

Grupo dos Congelados:

Tratamento 1: após congelamento lento;

Tratamento 2: após congelamento lento e irradiação;

Tratamento 3: sem irradiação e mantida congelada por 90 dias;

Tratamento 4: irradiada mantida congelada por 90 dias;

As amostras refrigeradas foram mantidas em câmara frigorífica a 4°C e as amostras congeladas foram mantidas em freezer a -18°C. Todas as embalagens apresentavam etiquetas com identificação da amostra e do tratamento.

2.3 – Irradiação das amostras

No dia seguinte ao da embalagem (24 horas depois), as amostras destinadas à irradiação foram conduzidas até a Companhia Brasileira de Esterilização (CBE) localizada em Jarinú-SP para serem irradiadas com uma dose nominal de 3 kGy. O transporte foi realizado em caixas térmicas com gelo reciclável e termômetro de forma que estas permaneceram na condição resfriada ou congelada durante todo o processo de transporte e irradiação.

Tanto as amostras resfriadas (4°C) quanto as congeladas (-18°C) foram irradiadas por meio de raios gama com radioisótopo Cobalto-60. O processo foi monitorado por dosímetros do tipo amber Batch N da marca Harwell.

Foram testados dois níveis de irradiação (0 e 3 kGy), em carne resfriada (4°C) e congelada (-18°C) e armazenada por dois períodos (0 e 21 dias para as amostras resfriadas e 0 e 90 dias para as amostras congeladas).

2.4 - Análises microbiológicas

As análises microbiológicas das amostras foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Biociências da UNESP – Campus de Botucatu/SP.

Todas as análises foram realizadas segundo o American Public Health Association (2001).

2.4.1 - Preparo das amostras e suas diluições

No momento das análises a embalagem foi aberta de forma asséptica, retirando-se 25g da amostra e colocando-a em sacos de polietileno estéril específico para esse fim. Dentro deste, foi adicionado 225mL de água peptonada tamponada esterilizada (BPW – Merck) e levado ao Stomacher Lab Blender 400 por 30 segundos. A partir desta diluição inicial a 10^1 , foi preparada uma série de diluições decimais, utilizando-se tubos de ensaio com 9ml de solução salina a 1% estéril.

2.4.2 - Contagem padrão de microrganismos mesófilos ou anaeróbios facultativos

Foi realizada empregando-se a técnica de semeadura em profundidade (pour-plate). Desta forma, 1mL de cada diluição foi depositada em uma placa de Petri. Em seguida, foi adicionado 15mL de agar para contagem padrão (Plate Count Agar-OXOID) fundido e resfriado em temperatura próxima de 45°C. Após a homogeneização e solidificação do ágar, as placas foram incubadas em posição invertida a 35°C/24-48 horas e a contagem das Unidades Formadoras de Colônia (UFC) foi realizada com o auxílio de um contador de colônia tipo Quebec, em placas contendo entre 25 e 250 UFC. Para o resultado final, o número de UFC/g foi multiplicado pelo fator inverso de diluição da respectiva placa de contagem e o resultado expresso em UFC/g (Morton, 2001).

2.4.3 - Contagem padrão de microrganismos psicrotróficos

Foi realizada empregando-se a técnica de semeadura na superfície do ágar padrão (spread). Para tal, um inóculo de 0,1mL de cada diluição foi depositado sobre o ágar da placa de Petri e espreado por toda a superfície do meio com o auxílio de um bastão de vidro em “L”, partindo-se da maior diluição. As placas foram incubadas a 7°C por 10 dias e após esse período, foi realizada a contagem das unidades formadoras de colônia (UFC) com o auxílio de um contador de colônia tipo Quebec, em placas contendo entre 25 e 250 UFC. Para o resultado final, o número de UFC/g foi multiplicado por 10 e pelo fator inverso de diluição da respectiva placa de contagem e o resultado expresso em UFC/g (Morton, 2001).

2.4.4 - Determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e termotolerantes

Esta determinação foi realizada empregando-se a técnica dos tubos múltiplos (Kornacki & Johnson, 2001). Assim, na prova presuntiva, foram inoculadas diluições em volumes de 1mL, em uma série de três tubos por diluição, contendo 10mL de caldo Lauril Sulfato (LST - Difco) e um tubo de Durham invertido. Os tubos foram incubados a 35°C/24-48 horas. Os inóculos positivos revelavam-se pela observação da produção de gás no tubo de Durham. A seguir, três alçadas de cada tubo positivo eram repicadas em tubos de ensaio contendo 10 mL de caldo lactose bile verde brilhante (CLBVB-Difco) para a

confirmação da presença de coliformes totais (CT) e outras três alçadas eram repicadas em tubos de ensaio com 5 mL de caldo E.C. (EC - Difco) para a confirmação de coliformes termotolerantes. Todos os tubos de CLBVB e de EC apresentavam tubos de Durham invertidos. O CLBVB foi incubado a 35°C/48 horas em estufa e o caldo EC, a 45°C/24 horas em estufa BOD. Após o período de incubação, foi realizada a leitura pela observação da presença de gás no tubo de Durham invertido. A seguir, utilizando-se a tabela do Número Mais Provável, foram calculados os NMP de coliformes totais e termotolerantes por grama de amostra analisada.

2.4.5 - Detecção da presença de *Salmonella* sp.

Para a detecção da presença de *Salmonella*, 25g da amostra foram obtidas de maneira asséptica e colocadas em saco de polietileno estéril contendo 225mL de água peptonada tamponada (BPW - Merck). Em seguida, o mesmo foi colocado em Stomacher Lab Blender 400 por 30 segundos para completa homogeneização da amostra. O volume foi transferido a um Erlenmeyer e incubado a 35°C/24 horas. Após este período, 1mL foi semeado em 10mL de caldo Tetrionato (TT - Difco) ao qual foi adicionado 0,1mL de iodeto de potássio imediatamente antes do uso, seguindo-se de incubação a 35°C/24 horas. Outra alíquota de 0,1mL da amostra foi transferida para 10mL de caldo Rapaport-Vassiliadis (RV - Difco) que foi incubado a 43°C/24 horas. Após este período, uma alçada de cada tubo foi semeada em placas contendo ágar Xilose-Lisina-Desoxicolato (XLD - Difco) e de ágar Rambach (Merck). Após o período de incubação a 35°C/ 24 horas, as colônias características de *Salmonella* foram repicadas para tubos inclinados de ágar Tripticase Soja (TSA - Difco), a partir dos quais foram realizados testes bioquímicos de triagem, em tubos inclinados de ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI, Difco) e ágar fenilalanina (Difco). O TSI característico de *Salmonella* apresenta base amarela com produção de gás ou não, evidenciada pela presença de bolhas e ápice vermelho. O meio pode estar enegrecido devido à produção de ácido sulfídrico (H₂S). Já a desaminação ou não da fenilalanina era evidenciada pela adição de 3-4 gotas de solução de cloreto férrico 10% sobre o crescimento. Na leitura característica para *Salmonella*, não ocorre alteração da cor do meio, uma vez que este microrganismo não utiliza tal aminoácido.

Após os resultados esperados nestes dois testes, a cepa foi submetida ao sistema API-20E (Biomérieux), que apresenta 20 provas bioquímicas para enterobactérias. Após leitura positiva no API, as cepas suspeitas de serem *Salmonella* foram testadas frente ao soro polivalente somático (Probac) e depois da positividade deste, ao soro flagelar (Probac).

2.5 – Análise estatística dos resultados

Os resultados foram analisados estatisticamente através do procedimento GLM (General Linear Models) do programa SAS (SAS Institute, 1991), onde o nível de significância foi de 5% para a contagem de microrganismos mesófilos aeróbios ou anaeróbios facultativos, psicrotróficos e Número Mais Provável de coliformes totais e termotolerantes.

3 – Resultados e Discussão

3.1. Contagem de microrganismos mesófilos aeróbios ou anaeróbios facultativos e psicrotróficos

A Tabela 1 apresenta as médias e desvio-padrão (Log_{10} UFC/g) da enumeração de microrganismos mesófilos aeróbios ou anaeróbios facultativos e psicrotróficos em filés de peito de frango submetidos à irradiação e armazenados sob refrigeração a 4°C por 21 dias. Observou-se que a irradiação de 3 kGy reduziu a contagem inicial de microrganismos mesófilos na carne de frango de corte resfriada em 2,01 log de UFC/g ($p < 0,05$). Este valor está semelhante aos encontrados por Lescano et al. (1991) que, estudando filés de frango embalados com poliestireno e irradiados com 2,5 kGy reduziu em 2 ciclos logarítmicos a contagem total de microrganismos mesófilos em relação à amostra controle.

Após os 21 dias de armazenamento sob refrigeração (4°C), as amostras não irradiadas apresentaram aumento de bactérias mesófilas de 4,52 log de UFC/g, alcançando contagens de 10,62 log de UFC/g. Nesta fase, a amostra apresentava odor repugnante e formação de limosidade na superfície. Já nas amostras irradiadas, o aumento foi inferior (2,42 log de UFC/g). Esses resultados sugerem que o processo de irradiação com dose de 3 kGy causou danos às células bacterianas, impedindo sua multiplicação durante o período de armazenamento. Estes valores diferem dos encontrados por Miyagusku et al. (2003), que

utilizando 3 kGy em carne de peito de frango sem pele e ossos, conseguiram reduzir a contagem inicial de microrganismos mesófilos em apenas 1 ciclo logarítmico (log UFC/g) e, no 22º dia de armazenamento, as amostras apresentaram aumento de 4,5 ciclos logarítmicos (log UFC/g) em relação ao 1º dia.

Tabela 1. Médias e desvio-padrão (Log_{10} UFC/g) da enumeração de microrganismos mesófilos aeróbios ou anaeróbios facultativos e psicrotróficos em filés de peito de frango submetidos à irradiação e armazenados sob refrigeração (4°C) por 21 dias.

Microrganismo	Armazenamento (dias)	Nível de Irradiação		Média
		0 kGy	3 kGy	
Mesófilos	0	6,10 ± 0,55 ^{aB}	4,09 ± 0,67 ^{bB}	5,10 ^B
	21	10,62 ± 0,31 ^{aA}	6,51 ± 0,62 ^{bA}	8,56 ^A
	Média	8,36 ^a	5,30 ^b	-
Psicrotróficos	0	4,20 ± 0,41 ^{aB}	2,09 ± 0,07 ^{bB}	3,14 ^B
	21	9,51 ± 0,73 ^{aA}	3,88 ± 0,85 ^{bA}	6,70 ^A
	Média	6,85 ^a	2,98 ^b	-

Valores seguidos pela mesma letra maiúscula, nas colunas, e pela mesma letra minúscula, nas linhas, não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

As bactérias psicrotróficas apresentam bom desenvolvimento em temperatura de refrigeração e, quando presentes em números elevados, contribuem para a diminuição da vida útil do alimento. Desta forma, a dose de 3 kGy de irradiação mostrou-se eficiente para reduzir em 2,11 log de UFC/g a contagem inicial de microrganismos psicrotróficos na carne de frango de corte resfriada ($p < 0,05$). As amostras irradiadas armazenadas por 21 dias sob refrigeração (4°C), apresentaram população de bactérias psicrotróficas inferior (3,88 log de UFC/g) ao das amostras não irradiadas (9,51 log de UFC/g). Esses valores confirmam a injúria causada as células bacterianas pelo processo de irradiação e sua dificuldade de multiplicação.

Os valores deste trabalho estão de acordo com Miyagaku et al. (2003), que observaram redução da contagem inicial de bactérias psicrotróficas entre as amostras não

irradiadas e irradiadas (3 kGy) de, aproximadamente, 2 log de UFC/g e nas amostras armazenadas por oito dias sob refrigeração (5°C), a diferença entre as amostras não irradiadas e irradiadas (3 kGy) foi de 5,4 log de UFC/g (de 8,4 para 3 log de UFC/g).

Lopes (2006), utilizando uma dose de 3,5 kGy de radiação gama em camarões, obteve diminuição da população inicial de bactérias psicotróficas de 3,5 log de UFC/g (de 3,8 para <0,3 log de UFC/g). No 21º dia de armazenamento sob refrigeração, os camarões irradiados apresentaram crescimento dessa população de, aproximadamente, 5 log de UFC/g. Esse valor era inferior ao das amostras não submetidas a irradiação, pois estas apresentaram já no 7º dia de armazenamento sob refrigeração, contagens de aproximadamente 9 log de UFC/g, demonstrando a eficiência desse processamento.

Pela Tabela 2, pode-se observar as médias e desvio-padrão (Log_{10} UFC/g) da enumeração de microrganismos mesófilos aeróbios e anaeróbios facultativos e psicotróficos em filés de peito de frango submetidos à irradiação e armazenados sob congelamento (-18°C) por 90 dias. Observou-se que a contagem inicial de microrganismos mesófilos na carne congelada não irradiada foi de 6,99 log de UFC/g e após o processo de irradiação, com 3 kGy, esse valor diminuiu para 4,96 log de UFC/g, apresentando redução de 2,03 log de UFC/g ($p < 0,05$). Ao final dos 90 dias de armazenamento em freezer, as amostras não irradiadas apresentaram diminuição de 1,65 log de UFC/g, alcançando contagens de 5,34 log de UFC/g. Nas amostras irradiadas, essa redução foi de 1,9 log de UFC/g ($p < 0,05$).

O processo de irradiação reduziu as contagens iniciais dos microrganismos mesófilos em aproximadamente 2 log de UFC/g nas amostras resfriadas e nas congeladas. No entanto, o processo de congelamento das amostras reduziu significativamente a contagem dos microrganismos mesófilos durante os 90 dias de armazenamento de todas as amostras (não irradiadas e irradiadas), enquanto houve crescimento dessa população nas amostras resfriadas.

Na população de bactérias psicotróficas, a redução não foi significativa. Essa diminuição pouco acentuada observada nas contagens desses microrganismos durante a estocagem congelada pode ter ocorrido pela resistência natural desse grupo de microrganismos ao frio.

Tabela 2. Médias e desvio-padrão (Log_{10} UFC/g) da enumeração de microrganismos mesófilos aeróbios ou anaeróbios facultativos e psicrotróficos em filés de peito de frango submetidos à irradiação e armazenados sob congelamento (-18°C) por 90 dias.

Microrganismo	Armazenamento (dias)	Nível de Irradiação		Média
		0 kGy	3 kGy	
Mesófilos	0	$6,99 \pm 0,73^{\text{aA}}$	$4,96 \pm 0,63^{\text{bA}}$	$5,97^{\text{A}}$
	90	$5,34 \pm 0,59^{\text{aB}}$	$3,06 \pm 0,58^{\text{bB}}$	$4,20^{\text{B}}$
	Média	$6,16^{\text{a}}$	$4,01^{\text{b}}$	-
Psicrotróficos	0	$2,99 \pm 0,50^{\text{aA}}$	$2,11 \pm 0,85^{\text{aA}}$	$2,55^{\text{A}}$
	90	$2,85 \pm 0,54^{\text{aA}}$	$1,98 \pm 0,13^{\text{bA}}$	$2,42^{\text{A}}$
	Média	$2,92^{\text{a}}$	$2,05^{\text{a}}$	-

Valores seguidos pela mesma letra maiúscula, nas colunas, e pela mesma letra minúscula, nas linhas, não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

3.2 - Número Mais Provável de coliformes totais e termotolerantes

A Tabela 3 apresenta as médias e desvio-padrão (Log_{10} NMP/g) do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e termotolerantes em filés de peito de frango submetidos à irradiação e armazenados sob refrigeração (4°C) por 21 dias. O NMP inicial de coliformes totais e de termotolerantes das amostras resfriadas não irradiadas foi de 6,34 log de NMP/g e 5,84 log de NMP/g, respectivamente. Ambos os valores decresceram após o processo de irradiação, sendo que o NMP de coliformes totais diminuiu 4,49 log de NMP/g e o de termotolerantes, 4,08 log de NMP/g. Resultados semelhantes também foram observados por Lopes (2006), que utilizando dose de 3,5 kGy reduziu em 1,7 log de NMP/g (de 2,0 para $< 0,3$ log de NMP/g) a população de coliformes totais de camarões resfriados.

A bactéria *Escherichia coli* pertence ao grupo dos coliformes termotolerantes e é um dos principais agentes etiológicos das infecções entéricas. Com isso, a diminuição dessa população é importante, pois atenua possíveis riscos que o alimento contaminado possa oferecer à saúde do consumidor.

Os resultados obtidos no presente trabalho estão de acordo com Spoto et al. (1999) que utilizando doses de 2,0 e 4,0 kGy, conseguiram reduzir em 4 e 6 ciclos logarítmicos, respectivamente a população de *Escherichia coli* de filés de frango refrigerados.

Transcorrido os 21 dias de armazenamento sob refrigeração (4°C), a população de coliformes totais e termotolerantes nas amostras submetidas à irradiação manteve-se menor que a das amostras não irradiadas, indicando melhora na qualidade microbiológica dos filés de peito de frango irradiados em relação aos não irradiados.

Tabela 3. Médias e desvio-padrão (Log₁₀ NMP/g) do Numero Mais Provável de coliformes totais e termotolerantes em filés de peito de frango submetidos à irradiação e armazenados sob refrigeração (4°C) por 21 dias.

Microorganismo	Armazenamento (dias)	Nível de Irradiação		Média
		0 kGy	3 kGy	
Coliformes	0	6,34 ± 0,55 ^{aB}	1,85 ± 1,56 ^{bB}	4,09 ^B
Totais	21	9,85 ± 0,57 ^{aA}	5,07 ± 1,06 ^{bA}	7,46 ^A
	Média	8,09 ^a	3,46 ^b	-
Coliformes	0	5,84 ± 0,63 ^{aB}	1,76 ± 1,44 ^{bB}	3,80 ^B
Termotolerantes	21	9,38 ± 0,76 ^{aA}	5,04 ± 1,02 ^{bA}	7,21 ^A
	Média	7,61 ^a	3,40 ^b	-

Valores seguidos pela mesma letra maiúscula, nas colunas, e pela mesma letra minúscula, nas linhas, não diferem pelo teste de Tukey (p<0,05).

A partir da Tabela 4 pode-se observar as médias e desvio-padrão (Log₁₀ NMP/g) do Número Mais Provável de coliformes totais e termotolerantes em filés de peito de frango submetidos à irradiação e armazenados sob congelamento (-18°C) por 90 dias. Nas amostras congeladas não irradiadas, o NMP inicial de coliformes totais e de termotolerantes foi de 5,97 log de NMP/g e 5,52 log de NMP/g, respectivamente. Ambos os valores decresceram após o processo de irradiação. O NMP de coliformes totais diminuiu 2,21 log de NMP/g e o de termotolerantes 3,02 log de NMP/g.

Após 90 dias de armazenamento em freezer (-18°C), somente o NMP de coliformes totais das amostras irradiadas sofreu redução significativa. Nos tratamentos não irradiados e no irradiado para a detecção de coliformes termotolerantes, não houve decréscimo da população bacteriana ao longo do tempo de estocagem. Tal resultado corrobora com Christophersen (1968), o qual afirma que os coliformes totais pertencem ao grupo dos microrganismos sensíveis ao congelamento, embora essa redução não tenha sido observada no tratamento sem irradiação. Esses resultados sugerem possível sinergismo entre os processos de irradiação e de congelamento.

Tabela 4. Médias e desvio-padrão (Log₁₀ NMP/g) do Número Mais Provável de coliformes totais e termotolerantes em filés de peito de frango submetidos à irradiação e armazenados sob congelamento (-18°C) por 90 dias.

Microrganismo	Armazenamento (dias)	Nível de Irradiação		Média
		0 kGy	3 kGy	
Coliformes Totais	0	5,97 ± 0,63 ^{aA}	3,76 ± 0,57 ^{bA}	4,87 ^A
	90	4,41 ± 0,81 ^{aA}	1,61 ± 1,30 ^{bB}	3,01 ^A
	Média	5,19 ^a	2,69 ^b	-
Coliformes Termotolerantes	0	5,52 ± 0,48 ^{aA}	2,50 ± 1,25 ^{bA}	4,01 ^A
	90	4,24 ± 0,83 ^{aA}	1,25 ± 1,07 ^{bA}	2,75 ^A
	Média	4,88 ^a	1,88 ^b	-

Valores seguidos pela mesma letra maiúscula, nas colunas, e pela mesma letra minúscula, nas linhas, não diferem pelo teste de Tukey (p<0,05).

3 – Comportamento da *Salmonella* frente ao processo de irradiação

Na tabela 5 tem-se a frequência de *Salmonella* nas amostras submetidas à irradiação e armazenadas sob refrigeração (4°C) por 21 dias. Inicialmente, nas amostras não irradiadas, foi detectado *Salmonella* em cinco das 40 amostras coletadas (12,5%). Aos 21 dias de armazenamento sob refrigeração, somente em duas amostras (5%) o patógeno foi detectado. Tal resultado mostra-se inferior ao obtido por Carvalho et al. (2005) que detectaram *Salmonella* em 30% dos cortes de peitos de frango analisados e superior aos

obtidos por Mayrhofer et al. (2004), que detectaram em 16, 4% dos cortes de carne de frango analisados.

Após o processo de irradiação com dose de 3 kGy, o patógeno não foi detectado em nenhuma das amostras, nos dois períodos (0 e 21 dias), demonstrando a eficácia da dose sobre a *Salmonella*. Tal resultado corrobora com o USDA (1992) e Morrison et al. (1992), os quais afirmam que doses de 1,5 a 3,0 kGy são suficientes para eliminar de 99,5 a 99,9% da população de *Salmonella* em carnes de frango.

Os resultados do presente trabalho discordam dos obtidos por Spoto et al. (2000), que avaliaram doses de 2,0; 4,0; 6,0 e 8,0 kGy de radiação gama para eliminação de bactérias patogênicas em filés de frango refrigerados e armazenados por 28 dias, as amostras irradiadas com 2,0 kGy apresentaram ausência de *Salmonella* somente com 21 dias de armazenamento. Com dose de 4,0 kGy a ausência ocorreu com sete dias de armazenamento e nas doses de 6,0 e 8,0 kGy, não houve detecção da bactéria em nenhum dos períodos de armazenamento.

Tabela 5. Frequência de *Salmonella* nas amostras submetidas à irradiação e armazenadas sob refrigeração (4°C) por 21 dias.

Armazenamento (dias)	Nível de Irradiação	
	0 kGy	3 kGy
0	5/40	0/40
21	2/40	0/40

A tabela 6 apresenta a frequência de *Salmonella* nas amostras submetidas à irradiação e armazenadas sob congelamento (-18°C) por 90 dias. Inicialmente, nas amostras não irradiadas, foi detectado o patógeno em nove das 40 amostras coletadas (22,5%) e no 90° dia de armazenamento em freezer, nas mesmas nove amostras foi identificada a presença de *Salmonella*. Esses resultados são contrários aos de Foster & Mead (1976), que afirmaram que o congelamento da carne reduz ou prejudica a sobrevivência de *Salmonella*. Santos et al. (2000) identificaram *Salmonella* em 32% das amostras de carcaças de frango

congeladas. Desta forma, os resultados mostraram que a carne de frango, mesmo congelada, pode ser um veículo de transmissão de *Salmonella*.

Nas amostras congeladas submetidas ao processo de irradiação com dose de 3 kGy, não foi detectado *Salmonella*, confirmando a eficiência do processo e da dose utilizada sobre a carne congelada.

Tabela 6. Frequência de *Salmonella* nas amostras submetidas à irradiação e armazenadas sob congelamento (-18°C) por 90 dias.

Armazenamento (dias)	Nível de Irradiação	
	0 kGy	3 kGy
0	9/40	0/40
90	9/40	0/40

4 – Conclusões

- A irradiação mostrou-se eficiente para reduzir a carga microbiana na carne de frango.
- A dose de 3 kGy foi suficiente para melhorar a qualidade microbiológica dos filés de frango e oferecer maior segurança para o consumidor, quanto à presença de *Salmonella*.

5 - Referências Bibliográficas

ANDREWS, WH, FLOWERS, RS, SILLIKER, J. et al. *Salmonella* In: DOWNES FP; ITO, K. (Eds). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Washington: Apha. 2001, p.357-380.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, Resolução nº12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos, 2001. Disponível em <http://anvisa.gov.br/legis/resol>. Acessado em 26 de junho de 2007.

CARVALHO, ACFB, CORTEZ, ALL. *Salmonella* spp. em carcaças, carne mecanicamente separada, linguiças e cortes comerciais de frango. Ciência Rural 2005; 35(6): 1465-1468.

- CHRISTOPHERSEN, J. Effects of freezing and thawing on the microbial population of foodstuffs. In: HAWTHORN, J, ROLFE, EJ. (Ed.). Low temperature biology of foodstuffs. Oxford: Pergamon Press. 1968, p. 251-269.
- FORSTER RD & MEAD GC. Effect of temperature and added polyphosphate on the survival of salmonellae in poultry meat during cold storage. *Journal Applied Bacteriology* 1976; 41: 504-510.
- GELLI, DS, JAKABI, M, SAKATA, H. et al. *Salmonellas* isoladas de alimentos no período de 1985–1996 no estado de São Paulo. In: 5º Congresso Latino-Americano de Microbiologia de Alimentos, 1998, Águas de Lindóia, Livro de Resumos, p. 105.
- HELSON, S. Estimating the incidence of food-borne *Salmonella* and effectiveness of alternative control measures using the Dephi method. *International Journal of Food Microbiology* 1997; 33: 195-204.
- KORNACKI, JL, JOHNSON, JL. Enterobacteriaceae, coliforms, and *Escherichia coli* as quality and safety indicators. In: DOWNES FP, ITO, K. (Eds). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. Washington: Apha. 2001, p.69-80.
- LESCANO, G, NARVAIZ, P, KAUPERT, N. Effect of chicken breast irradiation on microbiological, chemical and organoleptic quality. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* 1991; 24: 130-134.
- LOPES, TGG. Efeito sinérgico da radiação gama e da refrigeração na conservação do camarão-branco-do-pacífico (*Litopenaeus vannamei*), Piracicaba: ESALQ/USP 2006. 94p. Dissertação (Mestrado em Ciências, Área de Concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luis de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- MALISKA, C. Conservação de alimentos por irradiação. *Higiene Alimentar* 2000, 14: 16-17.
- MAYRHOFER S, PAULSEN P, SMULDERS FJM. Antimicrobial resistance profile of five major food-borne pathogens isolated from beef, pork and poultry. *International Journal of Food Microbiology* 2004, 97: 23-29.
- MIYAGUSKU, L, CHEN, F, LEITÃO, MF de F. et al. Avaliação microbiológica e sensorial da vida-útil de cortes de peito de frango irradiados. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 2003, 23 (Suplemento): 7-16.

- MORRISON, RM, ROBERTS, T, WITUCKI, L. Irradiation of U.S. poultry: benefits, costs, and export potential. *Food Review* 1992, 15: 16-21.
- MORTON, RD. Aerobic Plate Count. In: DOWNES FP, ITO, K. (Eds). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. Washington:Apha. 2001, p. 63-67.
- SANTOS, DMS, BERCHIERI Jr, ADM, FERNANDES, SA. et al. *Salmonella* em carcaças de frango congeladas. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 2000, 20(1): 39-42.
- SAS Institute, SAS User's Guide. SAS Institute Inc., Cary, NC., 1991.
- SIQUEIRA, AAZC de. Efeitos da irradiação e refrigeração na qualidade e no valor nutritivo da Tilápia (*Oreochromis niloticus*), Piracicaba: ESALQ/USP 2001. 137p. Dissertação (Mestrado em Ciências, Área de Concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luís de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- SPOTO, MHF, GALLO, CR, ALCARDE, AR. et al. Gamma irradiation in the control of pathogenic bacteria i refrigerated ground chicken meat. *Scientia Agrícola* 2000, 57(3): 389-394.
- SPOTO, MHF, GALLO, CR, DOMARCO, RE. et al. Radiação gama na redução da carga microbiana de filés de frango. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 1999, 19(3): 397-400.
- USDA. Poultry irradiation and preserving foodborne illness. Washington: USDA, FSIS Backgrounder, Food Safety and Inspection Service. 1992, p.1-6.
- VILLAVICENCIO, ALCH. Avaliação dos efeitos da radiação ionizante de ^{60}Co em propriedades físicas, químicas e nutricionais dos feijões *Phaseolus vulgaris L.* e *Vigna unguiculata (L) Walp*, São Paulo: FCF/USP 1998. 138p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

CAPÍTULO 3

**EFEITO DA EMBALAGEM COM ATMOSFERA MODIFICADA SOBRE A
QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE FILÉS DE PEITO DE FRANGO
ARMAZENADOS EM DIFERENTES PERÍODOS.**

Resumo

Neste trabalho estudou-se o efeito da embalagem com atmosfera modificada na conservação de filés de peito de frango armazenados sob refrigeração e congelamento. Para o experimento foram obtidos 40 filés de peitos de frangos, provenientes de um abatedouro comercial inspecionado pelo SIF. As amostras foram acondicionadas em embalagens plásticas a vácuo e em atmosfera modificada, para esta foram utilizadas duas diferentes misturas gasosas, chamadas de Gás I e Gás II (Gás I = 62% CO₂ / 8% O₂ / 30% N₂ e Gás II = 20% CO₂ / 80% N₂) e em seguida foram resfriadas ou submetidas ao congelamento lento. As amostras foram armazenadas em câmara frigorífica (4°C) por 21 dias ou freezer (-18°C) por 90 dias, conforme o tratamento. Foram realizadas análises microbiológicas para enumeração de microrganismos mesófilos aeróbios ou anaeróbios facultativos, psicrotróficos, determinação do Número Mais Provável de coliformes totais e termotolerantes e detecção da presença de *Salmonella*. As amostras acondicionadas nas embalagens com atmosfera modificada apresentaram melhor qualidade microbiológica que as embaladas a vácuo.

Palavras-chave: atmosfera modificada, filé de frango, *Salmonella*

**EFFECT OF MODIFIED ATMOSPHERE PACKAGING ON THE
MICROBIOLOGICAL QUALITY OF CHICKEN BREAST STORED IN
DIFFERENT PERIODS**

Abstract

In this work, the effect of modified atmosphere packaging on chicken breast stored under refrigeration and freezing was studied. Forty chicken breast filets were obtained from a slaughterhouse inspected by the SIF. The samples were placed in vacuum plastic

packages and in modified atmosphere, for this, two different gas mixtures were used, called Gas I and Gas II (Gas I = 62% CO₂ / 8% O₂ / 30% N₂ and Gas II = 20% CO₂ / 80% N₂) and then they were refrigerated or submitted to slow freezing. The samples were stored in cold room (4°C) for 21 days or freezer (-18°C) for 90 days, according to treatment. Microbiological analyses were performed to determine the number of mesophilic aerobic microorganisms, or optional anaerobic, psychrotrophic, determination of the number of total and thermotolerant coliforms and detection of the presence of *Salmonella*. The samples placed in modified atmosphere showed a better microbiological quality than the vacuum packed ones.

Key-words: modified atmosphere, chicken breast, *Salmonella*.

1 Introdução

A carne apresenta uma composição química favorável ao crescimento de microrganismos. Apresenta alta atividade de água, é um alimento rico em substâncias nitrogenadas, minerais e fatores de crescimento. Além disso, o pH é favorável para a maioria dos microrganismos (Franco & Landgraf, 2005).

A embalagem em atmosfera modificada é um dos métodos de preservação de alimentos que mantém a qualidade natural, prolongando o tempo de estocagem dos mesmos. O período de estocagem dos alimentos é consideravelmente maior pela modificação da atmosfera que circunda o produto, pela redução da taxa de respiração dos alimentos e diminuição da atividade dos microrganismos presentes (Jayas & Jeyamkondan, 2002). Esse tempo pode aumentar em até quatro vezes a vida útil dos alimentos, quando comparados aos embalados convencionalmente mantidos sob refrigeração (Parry, 1993).

Este método consiste na substituição da atmosfera que rodeia o produto no momento da embalagem por outra (um gás ou mistura otimizada de gases como CO₂, N₂, O₂), especialmente preparada para cada tipo de alimento. Isto permite controlar melhor as reações químicas e enzimáticas e o crescimento de microrganismos, evitando ou minimizando as principais degradações que ocorrem durante o período de armazenamento

(Brody, 1993; Parry, 1993; Leistener & Garris, 1994; Madrid et al., 1995; Teodoro et al., 2007).

Dessa forma, o objetivo da pesquisa foi avaliar o efeito da utilização de embalagem com atmosfera modificada sobre a qualidade microbiológica de filés de peito de frango, através da realização de análises microbiológicas em diferentes tratamentos.

2 – Material e Métodos

2.1 – Obtenção das amostras

Para o experimento foram obtidos 40 filés de peitos de frangos, provenientes de um abatedouro comercial inspecionado pelo SIF.

2.2 – Fracionamento dos filés de frangos e preparo das embalagens com atmosfera modificada

O trabalho foi conduzido na linha de abate do abatedouro. Cada peito foi dividido em 8 partes (número de tratamentos) de 25gr cada, com o auxílio de uma faca esterilizada. Todas as 320 amostras (40 amostras por tratamento) foram embaladas com mistura gasosa ou não (conforme o tratamento) em embalagem plásticas e seladas por uma seladora a vácuo modelo 30I acoplada a um equipamento de injeção de gases. Para os tratamentos com atmosfera modificada foram utilizadas duas concentrações gasosas (Gás 1: 62% de CO₂, 8% de O₂, 30% de N₂; Gás 2: 20% de CO₂ e 80% de N₂) adquiridas em cilindros da empresa White Martins Gases Industriais S.A., linha alimentícia. Em seguida, as amostras foram resfriadas ou submetidas a congelamento lento de acordo com os tratamentos.

Grupo dos Resfriados:

Tratamento 1: amostra para determinação da carga microbiana inicial.

Tratamento 2: embalada a vácuo e mantida em refrigeração por 21 dias.

Tratamento 3: embalada com o G1 e mantida em refrigeração por 21 dias.

Tratamento 4: embalada com o G2 e mantida em refrigeração por 21 dias.

Grupo dos Congelados:

Tratamento 1: após congelamento lento.

Tratamento 2: embalada a vácuo e mantida congelada por 90 dias.

Tratamento 3: embalada com o G1 e mantida congelada por 90 dias.

Tratamento 4: embalada com o G2 e mantida congelada por 90 dias.

As amostras refrigeradas foram mantidas em câmara frigorífica a 4°C e as amostras congeladas foram mantidas em freezer a -18°C. Todas as embalagens apresentam etiquetas com identificação da amostra e do tratamento.

2.3 - Análises Microbiológicas

As análises microbiológicas das amostras foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Biociências da UNESP – Campus de Botucatu/SP.

Todas as análises foram realizadas segundo o American Public Health Association (2001).

2.3.1 - Preparo das amostras e suas diluições

As amostras sob atmosfera modificada foram submetidas à análise da composição dos gases da embalagem mediante o analisador combinado de gases (O₂ + CO₂) antes da abertura da embalagem.

No momento das análises, a embalagem foi aberta de forma asséptica, retirando-se 25g da amostra e colocando-a em sacos de polietileno estéril específico para esse fim. Dentro deste, foi adicionado 225mL de água peptonada tamponada esterilizada (BPW – Merck) e levado ao Stomacher Lab Blender 400 por 30 segundos. A partir desta diluição inicial a 10⁻¹, foi preparada uma série de diluições decimais, utilizando-se tubos de ensaio com 9ml de solução salina a 1% estéril.

2.3.2 - Contagem padrão de microrganismos mesófilos ou anaeróbios facultativos

Esta determinação foi realizada empregando-se a técnica de semeadura em profundidade (pour-plate). Desta forma, 1mL de cada diluição foi depositada em uma placa de Petri. Em seguida, foi adicionado um volume de 15mL de agar para contagem padrão (Plate Count Agar-OXOID) fundido e resfriado em temperatura próxima de 45°C. Após a homogeneização e solidificação do agar, as placas foram incubadas em posição invertida a

35°C/24-48 h e a contagem das Unidades Formadoras de Colônia (UFC) foi realizada com o auxílio de um contador de colônia tipo Quebec, em placas contendo entre 25 e 250 UFC. Para o resultado final, o número de UFC/g foi multiplicado pelo fator inverso de diluição da respectiva placa de contagem e o resultado expresso em UFC/g (Morton, 2001).

2.3.3 - Contagem padrão de microrganismos psicrotróficos

Esta determinação foi realizada empregando-se a técnica de semeadura na superfície do ágar padrão (spread). Para tal, um inóculo de 0,1mL de cada diluição foi depositado sobre o ágar da placa de Petri e espraçado por toda a superfície do meio com o auxílio de um bastão de vidro em “L”, partindo-se da maior diluição. As placas foram incubadas a 7°C por 10 dias e após esse período, foi realizada a contagem das unidades formadoras de colônia (UFC) com o auxílio de um contador de colônia tipo Quebec, em placas contendo entre 25 e 250 UFC. Para o resultado final, o número de UFC/g foi multiplicado por 10 e pelo fator inverso de diluição da respectiva placa de contagem e o resultado expresso em UFC/g (Morton, 2001).

2.3.4 - Determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e termotolerantes

Esta determinação foi realizada empregando-se a técnica dos tubos múltiplos (Kornacki & Johnson, 2001). Assim, na prova presuntiva, foram inoculadas diluições em volumes de 1mL, em uma série de três tubos por diluição, contendo 10mL de caldo Lauril Sulfato (LST - Difco) e um tubo de Durham invertido. Os tubos foram incubados a 35°C/24-48 h. Os inóculos positivos revelavam-se pela observação da produção de gás no tubo de Durham. A seguir, três alçadas de cada tubo positivo eram repicadas em tubos de ensaio contendo 10 mL de caldo lactose bile verde brilhante (CLBVB-Difco) para a confirmação da presença de coliformes totais (CT) e outras três alçadas eram repicadas em tubos de ensaio com 5 mL de caldo E.C. (EC - Difco) para a confirmação de coliformes termotolerantes. Todos os tubos de CLBVB e de EC apresentavam tubos de Durham invertidos. O CLBVB foi incubado a 35°C/48 h em estufa e o caldo EC, a 45°C/24 h em estufa BOD. Após o período de incubação, foi realizada a leitura pela observação da

presença de gás no tubo de Durham invertido. A seguir, utilizando-se a tabela do Número Mais Provável, foram calculados os NMP de coliformes totais e termotolerantes por grama de amostra analisada.

2.3.5 - Detecção da presença de *Salmonella* sp.

Para a detecção da presença de *Salmonella*, 25g da amostra foram obtidas de maneira asséptica e colocadas em saco de polietileno estéril contendo 225mL de água peptonada tamponada (BPW - Merck). Em seguida, o mesmo foi colocado em Stomacher Lab Blender 400 por 30 segundos para completa homogeneização da amostra. O volume foi transferido a um Erlenmeyer e incubado a 35°C/24 h. Após este período, 1mL foi semeado em 10mL de caldo Tetrionato (TT - Difco) ao qual foi adicionado um volume de 0,1mL de iodeto de potássio imediatamente antes do uso, seguindo-se de incubação a 35°C/24 h. Outra alíquota de 0,1mL da amostra foi transferida para 10mL de caldo Rapaport-Vassiliadis (RV - Difco) que foi incubado a 43°C/24 h. Após este período, uma alçada de cada tubo foi semeada em placas contendo ágar Xilose-Lisina-Desoxicolato (XLD - Difco) e de ágar Rambach (Merck). Após o período de incubação a 35°C/ 24 h, as colônias características de *Salmonella* foram repicadas para tubos inclinados de ágar Trypticase Soja (TSA - Difco), a partir dos quais foram realizados testes bioquímicos de triagem, em tubos inclinados de ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI, Difco) e ágar fenilalanina (Difco). O TSI característico de *Salmonella* apresenta base amarela com produção de gás ou não, evidenciada pela presença de bolhas e ápice vermelho. O meio pode estar enegrecido devido à produção de ácido sulfídrico (H₂S). Já a desaminação ou não da fenilalanina era evidenciada pela adição de 3-4 gotas de uma solução de cloreto férrico 10% sobre o crescimento. Na leitura característica para *Salmonella*, não ocorre alteração da cor do meio, uma vez que este microrganismo não utiliza tal aminoácido.

Após os resultados esperados nestes 2 testes, a cepa foi submetida ao sistema API-20E (Biomérieux), que apresenta 20 provas bioquímicas para enterobactérias. Após leitura positiva no API, as cepas suspeitas de serem *Salmonella* foram testadas frente ao soro polivalente somático (Probac) e depois da positividade deste, ao soro flagelar (Probac).

2.4 – Análise estatística dos resultados

Os resultados foram analisados estatisticamente através do procedimento GLM (General Linear Models) do programa SAS (SAS Institute, 1991), onde o nível de significância foi de 5% para a contagem de microrganismos mesófilos aeróbios ou anaeróbios facultativos, psicotróficos e Número Mais Provável de coliformes totais e termotolerantes.

3 – Resultados e Discussão

3.1. Contagem de microrganismos mesófilos aeróbios ou anaeróbios facultativos e psicotróficos

A Tabela 1 apresenta as médias e desvio-padrão (Log_{10} UFC/g) da enumeração de microrganismos mesófilos aeróbios ou anaeróbios facultativos e psicotróficos em filés de peito de frangos embalados em diferentes atmosferas e armazenados sob refrigeração (4°C) por 21 dias. A contagem inicial de microrganismos mesófilos na carne de frango resfriada foi de 6,91 log de UFC/g. Transcorrido os 21 dias do período de armazenamento, a mesma amostra embalada a vácuo, apresentou um aumento de 3,71 log de UFC/g ($P < 0,05$) na população desse grupo de microrganismo. Balamatsia et al. (2007) observaram um aumento de, aproximadamente, 2 log de UFC/g (de 4,9 para 7,0 log de UFC/g) na contagem de microrganismos mesófilos na carne de frango embalada a vácuo e armazenada por 15 dias sob refrigeração (4°C), valores semelhantes aos observados neste trabalho.

A população de microrganismos mesófilos das amostras embaladas a vácuo e armazenadas por 21 dias foi maior do que das embaladas com o gás 1 e gás 2 ($P < 0,05$), confirmando a ação bacteriostática do dióxido de carbono. Sua ação nos microrganismos tem sido atribuída a redução do pH, devido a sua dissolução no meio, às alterações de permeabilidade celular bacteriana e a inibição enzimática, resultando no prolongamento da fase de adaptação e o aumento do tempo de geração dos microrganismos (Church, 1993; Sarantópoulos & Soller, 1994; Rosa, 2004).

No 21º dia de armazenamento em refrigeração, as amostras embaladas a vácuo apresentaram um aumento de 6,07 log de UFC/g ($P < 0,05$) na sua população de bactérias psicotróficas. As embaladas em atmosferas contendo 62%CO₂ / 8%O₂ / 30%N₂ e

20%CO₂/ 80%N₂, quando comparadas às embaladas a vácuo, obtiveram valores menores nessa população. Tal resultado corrobora com Franco & Landgraf (2005), ao afirmar que concentrações de dióxido de carbono superiores a 5% na atmosfera provocam inibição do crescimento de bactérias psicrotróficas Gram-negativas, entre elas *Pseudomonas*, *Acinetobacter* e *Moraxella*, que são importantes deteriorantes de carne e derivados e de alimentos refrigerados.

Tabela 1. Médias e desvio-padrão (Log₁₀ UFC/g) da enumeração de microrganismos mesófilos aeróbios ou anaeróbios facultativos e psicrotróficos em filés de peito de frango embalados em diferentes atmosferas e armazenados sob refrigeração (4°C) por 21 dias.

Microrganismo	Carga inicial	Armazenamento (dias)	Tipo de Embalagem		
			Vácuo	Gás I ¹	Gás II ²
Mesófilos	6,91±0,84	21	10,62±0,31 ^a	8,56±0,66 ^b	8,99±0,87 ^b
Psicrotróficos	3,44±0,73	21	9,51±0,73 ^a	7,96±0,79 ^b	7,96±0,79 ^b

Valores seguidos pela mesma letra minúscula, nas linhas, não diferem pelo teste de Tukey (p<0,05).

¹GásI = 62%CO₂/ 8%O₂/ 30%N₂ - ²GásII = 20% CO₂/ 80%N₂.

Na Tabela 2 tem-se as médias e desvio-padrão (Log₁₀ UFC/g) da enumeração de microrganismos mesófilos aeróbios e anaeróbios facultativos e psicrotróficos em filés de peito de frango embalados em diferentes atmosferas e armazenados sob congelamento (-18°C) por 90 dias. A contagem inicial de microrganismos mesófilos na carne de frango congelada embalada a vácuo foi de 5,47 log de UFC/g. Transcorrido os 90 dias do período de armazenamento, a mesma apresentou aumento não significativo (0,18 log de UFC/g) na população desse microrganismo. A população de microrganismos mesófilos das amostras embaladas a vácuo foi maior do que das embaladas com o gás 1 e gás 2 (P<0,05).

Na população de microrganismos psicrotróficos não houve diferença significativa entre as amostras embaladas a vácuo e as embaladas sob atmosfera modificada.

Tabela 2. Médias e desvio-padrão (Log_{10} UFC/g) da enumeração de microrganismos mesófilos aeróbios e anaeróbios facultativos e psicrotróficos em filés de peito de frango embalados em diferentes atmosferas e armazenados sob congelamento (-18°C) por 90 dias.

Microrganismo	Carga inicial	Armazenamento (dias)	Tipo de Embalagem		
			Vácuo	Gás I ¹	Gás II ²
Mesófilos	5,47±0,72	90	5,65±0,67 ^a	4,99±0,57 ^b	4,99±0,57 ^b
Psicrotróficos	2,86±0,40	90	2,19±0,41 ^a	2,30±0,54 ^a	2,29±0,55 ^a

Valores seguidos pela mesma letra minúscula, nas linhas, não diferem pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

¹GásI = 62% CO_2 / 8% O_2 / 30% N_2 - ²GásII = 20% CO_2 / 80% N_2 .

3.2 - Número Mais Provável de coliformes totais e termotolerantes

A tabela 3 apresenta as médias e desvio-padrão (Log_{10} NMP/g) do Numero Mais Provável de coliformes totais e termotolerantes em filés de peito de frango embalados em diferentes atmosferas e armazenados sob refrigeração (4°C) por 21 dias. O NMP inicial de coliformes totais e termotolerantes nas amostras embaladas a vácuo foram de 6,39 Log_{10} NMP/g e 5,96 Log_{10} NMP/g, respectivamente. Aos 21 dias de armazenamento sob refrigeração, ambas as populações aumentaram significativamente ($P<0,05$). As amostras armazenadas sob atmosfera modificada obtiveram um número de coliformes totais e fecais inferior ($P<0,05$) ao das amostras embaladas a vácuo. Os coliformes termotolerantes mostraram-se mais sensíveis, quando armazenados sob atmosfera modificada, que os coliformes totais.

Tabela 3. Médias e desvio-padrão (Log_{10} NMP/g) do Numero Mais Provável de coliformes totais e termotolerantes em filés de peito de frango embalados em diferentes atmosferas e armazenados sob refrigeração (4°C) por 21 dias.

Microorganismo	Carga inicial	Armazenamento (dias)	Tipo de Embalagem		
			Vácuo	Gás I ¹	Gás II ²
Coliformes Totais	6,39±0,81	21	9,85±0,57 ^a	7,21±0,44 ^b	7,42±0,56 ^b
Coliformes Termotolerantes	5,96±0,96	21	9,38±0,76 ^a	5,65±0,47 ^b	5,69±0,51 ^b

Valores seguidos pela mesma letra minúscula, nas linhas, não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

¹Gás I = 62% CO_2 / 8% O_2 / 30% N_2 - ²Gás II = 20% CO_2 / 80% N_2

A partir da tabela 4 pode-se observar as médias e desvio-padrão (Log_{10} UFC/g) do Número Mais Provável de coliformes totais e termotolerantes em filés de peito de frango embalados em diferentes atmosferas e armazenados sob congelamento (-18°C) por 90 dias. Nas amostras embaladas a vácuo o NMP inicial de coliformes totais e de termotolerantes foi de 4,79 log de UFC/g e 4,49 log de UFC/g, respectivamente. O NMP de coliformes totais e termotolerantes não apresentou aumento significativo depois de 90 dias de armazenamento sob congelamento. Nas amostras armazenadas em atmosfera modificada o NMP de coliformes totais e termotolerantes sofreu decréscimo no final do período de armazenamento, quando comparado aos das amostras embaladas a vácuo.

As embalagens submetidas ao congelamento apresentaram boa qualidade microbiológica até no final dos 90 dias de armazenamento. As amostras em atmosfera modificada apresentaram valores inferiores na população de microrganismos que os das embaladas a vácuo. Esses dados mostram que o efeito das atmosferas modificadas sobre os microrganismos pode ser potencializado, reduzindo-se a temperatura de armazenamento, resultado do sinergismo entre CO_2 e baixa temperatura.

Tabela 4. Médias e desvio-padrão (Log_{10} NMP/g) do Numero Mais Provável de coliformes totais e termotolerantes em filés de peito de frango embalados em diferentes atmosferas e armazenados sob congelamento (-18°C) por 90 dias.

Microrganismo	Carga inicial	Armazenamento (dias)	Tipo de Embalagem		
			Vácuo	Gás I ¹	Gás II ²
Coliformes Totais	4,79±0,72	90	4,96±0,70 ^a	4,22±0,61 ^b	3,95±0,63 ^b
Coliformes Termotolerantes	4,49±0,78	90	4,77±0,60 ^a	3,70±0,53 ^b	3,69±0,48 ^b

Valores seguidos pela mesma letra minúscula, nas linhas, não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

¹GásI = 62% CO_2 / 8% O_2 / 30% N_2 - ²GásII = 20% CO_2 / 80% N_2

3.3 – Comportamento da *Salmonella* frente ao armazenamento em atmosfera modificada

A tabela 5 apresenta a frequência de *Salmonella* nas amostras embaladas em diferentes atmosferas e armazenadas sob refrigeração (4°C) por 21 dias. Inicialmente, nas amostras embaladas a vácuo, foi detectado *Salmonella* em 13 das 40 amostras coletadas (32,5%) e no 21º dia de armazenamento em refrigeração, 11 amostras (27,5%) mantiveram-se positivas. Já as amostras embaladas em atmosfera modificada e armazenadas sob refrigeração por 21 dias, apresentaram frequência de 22,5% para o gás I e 17,5% para o gás II.

Tabela 5. Frequência de *Salmonella* nas amostras embaladas em diferentes atmosferas e armazenadas sob refrigeração (4°C) por 21 dias.

Armazenamento (dias)	Após Coleta	Tipo de Embalagem		
		Vácuo	GásI ¹	GásII ²
0	13/40	-	-	-
21	-	11/40	9/40	7/40

¹GásI = 62% CO_2 / 8% O_2 / 30% N_2

²GásII = 20% CO_2 / 80% N_2

Na tabela 6 tem-se a frequência de *Salmonella* nas amostras embaladas em diferentes atmosferas e armazenadas sob congelamento (-18°C) por 90 dias. Inicialmente, nas amostras embaladas a vácuo, foi detectado *Salmonella* em 6 das 40 amostras coletadas (15%) e no 90° dia de armazenamento em freezer, 5 amostras (12,5%) mantiveram-se positivas. Já as amostras embaladas em atmosfera modificada e armazenadas sob congelamento por 90 dias, apresentaram frequência de 10% para o gás I e 7,5% para o gás II.

Tabela 6. Frequência de *Salmonella* nas amostras embaladas em diferentes atmosferas e armazenadas sob congelamento (-18°C) por 90 dias.

Armazenamento (dias)	Após Coleta	Tipo de Embalagem		
		Vácuo	GásI ¹	GásII ²
0	6/40	-	-	-
90	-	5/40	4/40	3/40

¹GásI = 62% CO₂ / 8% O₂ / 30% N₂

²GásII = 20% CO₂ / 80% N₂.

4 – Conclusões

- As amostras acondicionadas nas embalagens com atmosfera modificada apresentaram melhor qualidade microbiológica que as embaladas a vácuo.
- Os filés de peito de frango embalados em atmosfera modificada mantiveram-se contaminados por *Salmonella*.
- O congelamento não foi capaz de eliminar *Salmonella*.

5 - Referências Bibliográficas

ANDREWS, W H, FLOWERS, RS, SILLIKER, J. et al. *Salmonella* In: DOWNES FP, ITO, K. (Eds). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Washington: Apha. 2001, p.357-380.

BALAMATSIA, CC, PATSIAS, A, KONTOMINAS, MG. et al. Possible role of volatile amines as quality-indicating metabolites in modified atmosphere-packaged chicken fillets:

- correlation with microbiological and sensory attributes. *Food Chemistry* 2007, 104: 1622-1628.
- BRODY, AL. The market. In *Principles and Applications of Modified Atmosphere Packaging of food*. London: Blackie Academic & Professional 1993, p.19-40.
- CHURCH, PN. Meat products. In: PARRY, RT. *Principles and applications of modified atmosphere packaging of food*. London: Blackie Academic & Professional 1993, p.229-268.
- FRANCO, BDGM, LANDGRAF, M. *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo: Atheneu. 2005,183p.
- JAYAS, DS & JEYAMKONDAN, S. Modified Atmosphere Storage of Grains Meats Fruits and Vegetables. *Biosystems Engineering* 2002, 82(3): 235–251.
- KORNACKI, JL, JOHNSON, JL. Enterobacteriaceae, coliforms, and Escherichia coli as quality and safety indicators. In: DOWNES F. P; ITO, K. (Eds). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. Washington: Apha. 2001, p.69-80.
- LEISTNER, L & GORRIS, LGM. *Food Preservation by combined processes*. Alemanha: FLAIR (Food Linked Agro-Industrial Research). 1994, p. 51-64.
- MADRID, A. et al. *Manual de indústria dos alimentos*. São Paulo: Livraria Varela. 1995, p. 519-530.
- MORTON, RD. Aerobic Plate Count. In: DOWNES FP, ITO, K. (Eds). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. Washington: Apha. 2001, p.63-67.
- PARRY, RT. *Envasado de los alimentos en atmósfera modificada*. Madrid(España): A Madrid Vicent. 1993, p.13-31.
- ROSA, VP da. *Efeitos da atmosfera modificada e da irradiação sobre as características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais do queijo Minas Frescal*, Piracicaba: ESALQ/USP 2004. 141p. Dissertação (Mestrado em Ciências, Área de Concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luis de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

SARANTÓPOULOS, CIGL, SOLLER, RM. Embalagens com atmosfera modificada/controlada. Catálogo Brasileiro de Produtos e Serviços. Campinas: ITAL. 1994, p. 32-42.

SARANTÓPOULOS, CIGL, ALVES, RVM, OLIVEIRA, LM. et al. Embalagens com atmosfera modificada. 2 ed. Campinas: CETEA/ITAL. 1998, 114p.

SAS Institute, SAS User's Guide. SAS Institute Inc., Cary, NC., 1991.

CAPÍTULO 4

Implicações

De acordo com a Associação Brasileira dos Produtores e Exportadores de Frangos, o Brasil é líder absoluto nas exportações mundiais de carne de frango desde 2004. Dados como estes motivam a indústria na busca por alternativas que assegurem a qualidade e a sanidade do produto brasileiro. Além disso, prolongar a vida útil do produto e maximizar os lucros, são os principais objetivos das indústrias.

As amostras obtidas para o experimento apresentaram uma elevada contaminação inicial em decorrência das falhas de processamento do abatedouro em que foi realizada a coleta.

A irradiação mostrou ser uma ferramenta eficiente na diminuição da microbiota presente na carne de frango e na eliminação da *Salmonella*. A dificuldade de multiplicação da população restante confirma os danos causados no DNA das células bacterianas pelo processo de irradiação. Com isso, a utilização desse método oferece um aumento da vida-de-prateleira do produto e garantia de qualidade quanto à ausência de *Salmonella*.

As amostras de filé de frango acondicionadas em embalagem com atmosfera modificada apresentaram um crescimento menor da população microbiana ao longo do tempo de estocagem que as embaladas a vácuo. Assim, a utilização deste tipo de embalagem promove uma maior vida-de-prateleira para o produto.

É importante salientar que as alternativas tecnológicas apresentadas neste trabalho não servem para corrigir falhas cometidas durante as etapas da cadeia produtiva. A gestão da qualidade é sempre imprescindível.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)