

UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
DOUTORADO EM HIGIENE VETERINÁRIA E PROCESSAMENTO
TECNOLÓGICO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL

SAMIRA PIROLA SANTOS MANTILLA

EFEITO COMBINADO DA EMBALAGEM EM ATMOSFERA
MODIFICADA E IRRADIAÇÃO NA VALIDADE COMERCIAL,
MICROBIOTA, ACEITAÇÃO SENSORIAL E SOBREVIVÊNCIA DE
Listeria monocytogenes INOCULADA EM FILÉ DE FRANGO
RESFRIADO.

UNIVERSIDADE
FEDERAL
FLUMINENSE

Niterói
2010

SAMIRA PIROLA SANTOS MANTILLA

EFEITO COMBINADO DA EMBALAGEM EM ATMOSFERA MODIFICADA E IRRADIAÇÃO NA VALIDADE COMERCIAL, MICROBIOTA, ACEITAÇÃO SENSORIAL E SOBREVIVÊNCIA DE *Listeria monocytogenes* INOCULADA EM FILÉ DE FRANGO RESFRIADO.

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense como requisito parcial para obtenção do Grau de Doutora. Área de concentração: Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de P.O.A.

Orientador: Prof. Dr. ROBSON MAIA FRANCO
Co-orientadores: Prof. Dr. SÉRGIO BORGES MANO
Prof. Dr. HELIO DE CARVALHO VITAL

Niterói
2010

M292

Mantilla, Samira Pirola Santos

Efeito combinado da embalagem em atmosfera modificada e irradiação na validade comercial, microbiota, aceitação sensorial e sobrevivência de *Listeria monocytogenes* inoculada em filé de frango resfriado / Samira Pirola Santos Mantilla; orientador Robson Maia Franco. – 2010. 144f.

Tese (Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal)–Universidade Federal Fluminense, 2010.

Orientador: Robson Maia Franco

1. Carne de frango. 2. Irradiação. 3. Atmosfera modificada. 4. Microbiologia da carne de frango. 5. *Listeria monocytogenes*. I. Título.

CDD 664.0288

SAMIRA PIROLA SANTOS MANTILLA

EFEITO COMBINADO DA EMBALAGEM EM ATMOSFERA MODIFICADA E IRRADIAÇÃO NA VALIDADE COMERCIAL, MICROBIOTA, ACEITAÇÃO SENSORIAL E SOBREVIVÊNCIA DE *Listeria monocytogenes* INOCULADA EM FILÉ DE FRANGO RESFRIADO.

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense como requisito parcial para obtenção do Grau de Doutora. Área de concentração: Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de P.O.A.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. ROBSON MAIA FRANCO – Orientador
Universidade Federal Fluminense

Prof. Dr. SÉRGIO BORGES MANO
Universidade Federal Fluminense

Prof. Dr. HELIO DE CARVALHO VITAL
Centro Tecnológico do Exército

Prof.^a Dr.^a MÔNICA QUEIROZ DE FREITAS
Universidade Federal Fluminense

Prof.^a Dr.^a KAREN SIGNORI PEREIRA
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Niterói
2010

Ao futuro papai Alexandre Cordeiro Vieira e ao fruto do nosso amor, Bernardo Mantilla Cordeiro, que está chegando nesse mundo para compartilhar nossas alegrias.

AGRADECIMENTOS

À minha amada família, meus pais Ramiro Froilan Mantilla Carrasco e Angela Maria Santos Mantilla, meus irmãos Camila Pirola Santos Mantilla e Ramiro Santos Mantilla e ao meu marido, Alexandre Cordeiro Vieira pelo apoio e incentivo durante o curso de doutorado e por fazerem parte da minha vida.

Ao meu amigo e orientador Prof. Dr. Robson Maia Franco pela amizade e ensinamentos na área de microbiologia de alimentos e pela confiança depositada em mim durante todos esses anos.

Aos meus co-orientadores Prof. Dr. Sérgio Borges Mano e Prof. Dr. Helio de Carvalho Vital por toda ajuda e apoio prestados durante o desenvolvimento da pesquisa e pelos novos conhecimentos adquiridos na área de Tecnologia de Alimentos.

À Prof. Dr. Mônica Queiroz de Freitas pela ajuda na análise sensorial da pesquisa.

À minha querida amiga e “fiel escuderia” Érica Barbosa Santos pela ajuda na execução da pesquisa e pela amizade e apoio durante o curso e até hoje.

À Seção de Defesa Nuclear do CTEEx, pela autorização e viabilização do processo de irradiação.

À CAPES pelo auxílio financeiro durante a realização do experimento.

SUMÁRIO

RESUMO p.7

ABSTRACT p.8

1 INTRODUÇÃO p.9

2 REVISÃO DE LITERATURA p.12

2.1 CARACTERÍSTICAS E PRODUÇÃO DA CARNE DE AVES p.12

2.2 MICROBIOTA DE CARNES DE FRANGO p.13

2.2.1 *Listeria monocytogenes* em carne de frango p.15

2.3 USO DA ATMOSFERA MODIFICADA EM CARNE DE FRANGO p.18

2.3.1 Influência na validade comercial p.18

2.3.2 Tecnologia da EAM e gases utilizados p.20

2.3.3 Microbiologia da EAM p.23

2.4 IRRADIAÇÃO GAMA EM CARNE DE FRANGO p.25

2.4.1 Irradiação como método de conservação de alimentos p.25

2.4.2 Efeito sobre a microbiota p.27

2.4.3 Efeito sobre a qualidade nutricional e sensorial da carne p.30

2.4.4 Legislação brasileira sobre irradiação de alimentos p. 31

2.4.5 Carne de aves irradiadas p. 33

2.5 EFEITO COMBINADO DA ATMOSFERA MODIFICADA E IRRADIAÇÃO
p.34

2.6 MICROBIOLOGIA PREDITIVA p.35

2.6.1 Conceito e aplicações p.35

2.7 ANÁLISE SENSORIAL DE CARNES EMBALADAS E IRRADIADAS p.38

3 DESENVOLVIMENTO p.42

3.1 BACTÉRIAS DETERIORANTES EM FILÉS DE FRANGO EMBALADOS EM AR, VÁCUO E IRRADIADOS: PARÂMETROS BACTERIOLÓGICOS DE CRESCIMENTO E PRAZO COMERCIAL. Publicado na Pesquisa Agropecuária Tropical. p.42

3.2 EFEITO COMBINADO DA EMBALAGEM EM ATMOSFERA MODIFICADA E RADIAÇÃO GAMA NA MICROBIOLOGIA E NA ACEITAÇÃO SENSORIAL DE FILÉS DE PEITO DE FRANGO RESFRIADOS. Publicado na Revista Biotemas. p.56

3.3 REFRIGERATED POULTRY BREAST FILLETS PACKED IN MODIFIED ATMOSPHERE AND IRRADIATED: BACTERIOLOGICAL EVALUATION, SHELF LIFE AND SENSORY ACCEPTANCE. Enviado para "Brazilian Journal of Microbiology". p.69

3.4 MICROBIOLOGY, SENSORY ACCEPTANCE AND SHELF LIFE OF IRRADIATED CHICKEN BREAST FILLETS STORED IN AIR OR VACUUM. Enviado para "Brazilian Archives of Biology and Technology". p.84

3.5 *Listeria monocytogenes* INOCULATED INTO REFRIGERATED CHICKEN BREAST FILLETS PACKED IN MODIFIED ATMOSPHERE AND IRRADIATED: SHELF LIFE, NATURAL MICROBIOTA AND BACTERIAL GROWTH PARAMETERS. Enviado para "Archives Veterinary Science". p.95

3.6 ACEITAÇÃO SENSORIAL DE FILÉS DE FRANGO RESFRIADOS EMBALADOS EM ATMOSFERA MODIFICADA E IRRADIADOS. Enviado para a Revista Veterinária e Zootecnia. p. 116

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS p.134

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS p.136

RESUMO

A carne de frango é um alimento rico nutricionalmente, que, no entanto, possui prazo comercial relativamente curto quando resfriado, dependente da carga microbiana inicial. Em virtude disso, o aperfeiçoamento de novas tecnologias para conservação desse produto tem sido um tema amplamente pesquisado pela comunidade científica. Este trabalho investigou os efeitos do uso de diferentes embalagens (ar, vácuo e 80%CO₂ /20% N₂), conjuntamente com irradiação gama (0,0, 2,0 e 3,0 kGy) e refrigeração sobre a validade comercial, pH, aceitação sensorial e controle de *Listeria monocytogenes* em amostras de filé de peito de frango. O experimento foi realizado em duas etapas, nas quais foram analisadas amostras resfriadas submetidas a diferentes tratamentos, tendo havido inoculação do patógeno apenas na segunda etapa. Usando o programa DMFit, baseado em microbiologia preditiva, foram determinados os parâmetros bacteriológicos de crescimento dos microrganismos e foi estimada a validade comercial para cada combinação de processos empregados. A aceitação do produto pelos consumidores foi avaliada em testes de aceitação sensorial em relação aos atributos cor, impressão global, sabor e odor. Observou-se que a combinação mais eficiente foi a irradiação, na dose de 3,0 kGy, das amostras embaladas em atmosfera de 80%CO₂ /20% N₂ (EAM), que estendeu a fase lag das bactérias aeróbias mesófilas (nas amostras embaladas em aerobiose não irradiadas) de dois para seis dias na primeira etapa do experimento e de um para 16 dias na segunda. O prazo comercial foi ampliado de cinco para 16 dias nas amostras não inoculadas e de nove para 34 dias nas amostras inoculadas com *L. monocytogenes*, que tinham contagem inicial de bactérias mesófilas muito menores às das não inoculadas. Observou-se que as bactérias ácido lácticas e *Aeromonas* spp. foram as mais resistentes à radiação e à alta concentração de CO₂, enquanto as enterobactérias e os coliformes mostraram-se os mais sensíveis. A estirpe *L. monocytogenes* 4b, inoculada na concentração de 5 log UFC/g, foi capaz de se desenvolver em todas as amostras, embora a combinação EAM seguida de irradiação tenha sido eficaz na manutenção de contagens em torno de 3 log UFC/g. As amostras irradiadas apresentaram uma coloração rósea, mais atraente. Em contraste, o uso da EAM após a irradiação alterou o sabor e odor característico da carne de frango cozida. Concluiu-se que o uso combinado da EAM, seguida da irradiação com 3,0 kGy, possibilita a obtenção de carnes resfriadas de frango com maior prazo comercial, com melhor qualidade sanitária e características sensoriais atraentes, desde que sejam respeitadas as normas de boas práticas no manuseio do produto.

Palavras-chave: carne de frango, irradiação, radiação gama, atmosfera modificada, microrganismos, microbiologia preditiva, *Listeria monocytogenes*

ABSTRACT

Poultry meat is a nutritionally rich food, however it is also a highly perishable product that has a relatively short shelf life even when it is kept in refrigeration, depending on the initial microbial load. Thus, developing more appropriate technologies for its conservation still remains a goal that the scientific community has been eagerly pursuing. This work investigated the effects of using different packaging methods (air, vacuum and 80%CO₂ /20% N₂) combined with gamma irradiation (0.0, 2.0 and 3.0 kGy) and refrigeration on shelf life, pH, sensory acceptance and growth of *Listeria monocytogenes* in chicken breast fillets. The experiment was performed in two phases, the first without pathogen inoculation and the second with inoculation, both using refrigerated samples from the several treatments tested. The DMFit program, based on predictive microbiology, was used to calculate the bacteriological growth parameters of microorganisms on all stages of the experiment and to predict the shelf life for each combination of methods. Sensory acceptance tests were performed for color, overall appearance, flavor and odor. Packaging in 80% CO₂ and 20% N₂ atmosphere followed by irradiation with 3.0 kGy was found to be the most efficient combination of treatments. It increased the mesophilic bacteria lag phase of unirradiated air-packaged samples from two to six days, in the first phase of the experiment, and from one to 16 days in the second phase, also extending the shelf life from five to 16 days in uninoculated samples and from nine to 34 days in samples inoculated with *L. monocytogenes* (counts for mesophilic bacteria were lower than those for uninoculated samples). Lactic acid bacteria and *Aeromonas* spp. were found to be the most resistant to gamma radiation and to high concentrations of CO₂. In contrast, enterobacteria and coliforms showed the largest sensitivity. The inoculated strain *L. monocytogenes* 4b was able to grow in all samples, however, modified atmosphere packaging followed by irradiation were effective in maintaining the counts of this pathogen around 3 log CFU/g. It was also found that the irradiated samples exhibited a more appealing pinkish color. In contrast the use of irradiation before packing caused the flavor and odor of the cooked poultry meat to become less attractive. It can be concluded that, provided good manufacturing practices are observed, chicken meat treated with modified atmosphere or vacuum packaging followed by irradiation with 3.0 kGy has a longer shelf life, better sanitary quality and attractive sensory characteristics.

Keywords: poultry meat, irradiation, modified atmosphere, microbiological spoilage, predictive microbiology, *Listeria monocytogenes*

1 INTRODUÇÃO

O consumo de carne de frango vem crescendo continuamente devido às suas atraentes características nutricionais e ao preço relativamente acessível para a população, quando comparado com outras fontes de proteína animal. O Brasil é um grande produtor e exportador de carne de frangos, sendo, portanto, a avicultura de grande relevância financeira e social para o país, pela geração de capital e empregos no setor agroindustrial.

Como os produtos de origem animal resfriados possuem um prazo comercial curto, são utilizados métodos de conservação, principalmente, no caso de cortes de frangos comerciais, como o congelamento. Porém, esse processo tecnológico altera as características da carne, devido à perda de nutrientes através do “drip” e conseqüentemente, a suculência também é afetada. Além disso, este tratamento não elimina os patógenos frequentemente encontrados em carnes de aves, representando um risco em potencial para a saúde coletiva.

Com relação aos microrganismos patogênicos, deve-se considerar a existência de *L. monocytogenes* em carnes de frango, que é uma bactéria de caráter ubiquitário e que atua como patógeno principalmente em gestantes, idosos, crianças e pacientes imunossuprimidos, os quais fazem parte do grupo de risco da listeriose. Em estudos realizados pelo Serviço de Microbiologia do Centro Nacional de Alimentação (Instituto de Saúde Carlos III, Mayadahonda) sobre carcaças de aves de diferentes procedências, em 90-95% das carcaças analisadas, foi encontrada *L. monocytogenes* (ANDERSON, 1992).

Para minimizar os efeitos dos tratamentos sobre as características da carne de frango, objetivando reduzir as populações de agentes patogênicos transmitidos por alimentos, muitos pesquisadores vêm investigando novos métodos para prolongar o prazo de validade de carnes de frango e derivados.

A adoção da tecnologia da Embalagem em Atmosfera Modificada (EAM) tem revolucionado e modernizado os frigoríficos e as indústrias de processamento de carne. Aumentos significativos na validade de produtos frescos e curados, obtidos com o uso da EAM, têm reduzido perdas devido à deterioração precoce e aumento da distribuição de produtos de alta qualidade. Embalagem a vácuo é a forma mais comum de EAM, a qual tem sido usada tanto para carnes processadas como em cortes frescos. Misturas gasosas contendo CO₂, N₂ e O₂ em uma variedade de combinações são usadas, podendo conter alta concentração de O₂ (80%) ou baixa (16%), nas quais o N₂ é usado como um gás quimicamente inerte de enchimento combinado com uma determinada proporção de CO₂, que inibe os microrganismos. Estes sistemas usam filmes de embalagem com barreira ao O₂ e quase sempre estas embalagens são mantidas, durante a estocagem e na distribuição a 4°C (HOLLEY, GILL, 2005).

A EAM prolonga a validade comercial de carne de aves, porém, não é suficiente para eliminar de forma efetiva os microrganismos deteriorantes e principalmente os patogênicos. Deste modo, a irradiação gama pode ser usada para este fim, existindo um consenso entre os especialistas na área de microbiologia de alimentos de que o processo é eficiente na produção de alimentos seguros. E o filé de frango embalado e irradiado poderá ser mais facilmente comercializado e, até mesmo, exportado para longas distâncias, aumentando a lucratividade das indústrias avícolas nacionais.

A irradiação de alimentos consiste em submeter os produtos, já embalados ou a granel, a uma quantidade controlada de radiação ionizante, por um tempo prefixado, com o objetivo de melhorar a qualidade sanitária e aumentar validade comercial dos alimentos. Tal tecnologia tem recebido uma crescente atenção em todo o mundo, junto com os métodos tradicionais de conservação de alimentos. As razões que despertaram o interesse dos diversos países estão relacionadas com as grandes perdas dos alimentos como consequência de infestação, contaminação e deterioração alimentícia, a crescente preocupação com os agentes etiológicos transmitidos por alimentos e o aumento do comércio internacional de produtos alimentícios sujeitos as normas de exportação rígidas (GCIIA, 1991).

Os efeitos da irradiação, conjuntamente com a EAM, variam de acordo com o tipo de carne e a composição da atmosfera na embalagem. Em alguns casos, a aplicação de doses excessivas pode ocasionar odor de queimado ou descoloração

da carne fresca nas embalagens que contêm ar (oxigênio). Consequentemente, considerando a qualidade sensorial e os interesses para a produção de alimentos seguros, os efeitos da irradiação em combinação com o vácuo ou com a EAM da carne bovina e de aves devem ser mais investigados (LEE et al., 1996).

Nesta pesquisa, objetivou-se avaliar o efeito combinado do uso de diferentes tipos de embalagens (100% ar, vácuo e atmosfera modificada 80% CO₂/ 20% N₂) e de duas doses de radiação gama (2,0 e 3,0 kGy) no aumento do prazo comercial, na variação do pH, na redução da microbiota natural, na aceitação sensorial e na eliminação de *Listeria monocytogenes* inoculada em filés de peito de frango resfriados.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CARACTERÍSTICAS E PRODUÇÃO DE CARNE DE AVES

Segundo Anderson et al. (2000), a carne de ave é uma boa fonte de proteína (21-24%), vitaminas (tiamina, niacina, riboflavina) e sais minerais. Bobbio e Bobbio (2003) relataram que as proteínas mais importantes são as musculares, sendo o teor de proteína na carne de frango superior ao da carne bovina e suína, respectivamente, em torno de 20%, 16% e 14%. Além disso, a carne de aves possui alta atividade de água (0,98-0,99) e pH que varia de 6,2 a 6,4 (ANDERSON et al, 2000).

Diferentemente da carne vermelha, na qual a gordura está distribuída por todos os tecidos, a maior parte da gordura da carne de aves se encontra abaixo da pele e na cavidade abdominal, sendo a quantidade de gordura variável de acordo com a idade, o sexo, a anatomia e a espécie (BRYAN, 1980).

Segundo Mendes et al. (2003), a produção de filés de peito de frango com especificações rígidas de peso, comprimento e espessura destinados à exportação e produção de produtos pré-processados ou restaurantes “fast food” tem implicações econômicas importantes na rentabilidade da indústria avícola.

Nas últimas duas décadas, a produção de frango de corte tem evoluído de forma bastante significativa no Brasil. O dinamismo da atividade avícola está atrelado aos constantes ganhos de produtividade, sobretudo, através da melhora dos índices de conversão alimentar, dos ganhos nutricionais, da pesquisa em genética, da maior automação dos aviários e de um melhor manejo (SOUZA; OSAKI, 2008).

O mercado de carne de aves aumentou significativamente desde 1990, devido ao ingresso de vários países importadores, fazendo com que a produção aumentasse para atender a esses novos consumidores. O comércio internacional ganha cada vez mais importância no mercado de carne de aves. Os principais exportadores são: EUA, Brasil, China, Hong Kong e União Européia, sendo os maiores compradores: China, Hong Kong, Rússia, Japão, Arábia Saudita e México (SILVA, 2008).

O expressivo aumento do consumo de carne de aves está ligado aos preços mais baixos, comparados às demais carnes; por não haver restrição religiosa ao consumo; pela diversidade de produtos e pelas suas características nutricionais. Essas vantagens são realçadas pela flexibilidade e relativa facilidade de produção. Com base nas recentes variações do consumo, a carne de aves aumentou seu potencial, tanto nos países desenvolvidos como naqueles em desenvolvimento (SILVA, 2008).

Entretanto, segundo a Associação Brasileira dos Produtores e Exportadores de Frangos (ABEF) (2010), no Brasil, o setor exportador de carne de frango foi impactado principalmente pela retração da economia mundial, devido à crise financeira internacional, com a redução de preços e de encomendas de países importadores importantes como Rússia, Japão e Venezuela, e pela valorização do real frente ao dólar americano. Se houver uma alteração no quadro cambial, será possível que 2010 termine com um crescimento entre 3% e 5% nos volumes e de até 10% na receita. Mas, se a relação real/dólar permanecer nos atuais patamares, é possível que não haja crescimento. Um dos reflexos será a retração dos investimentos das empresas do setor, como se verificou em 2009.

2.2 MICROBIOTA DE CARNES DE FRANGO

As principais alterações das carnes de aves são de origem microbiana. Estas alterações dependem da qualidade inicial da carne e das condições de armazenamento, mas a microbiota inicial e sua possibilidade de desenvolvimento dependem de todo um conjunto de fatores que intervêm nas distintas etapas da produção (BOURGOIS, 1994).

A carne de frango é frequentemente contaminada com uma população bacteriana diversa que consiste principalmente em bactérias deteriorantes. Esta carne possui pH mais elevado do que a carne vermelha, sendo um bom meio para o crescimento destas bactérias (BRODY, 1995).

A validade comercial da carne de frango vai depender da contaminação bacteriana inicial e da temperatura de armazenamento. Conforme Anderson et al. (2000), com a carga bacteriana inicial de 10^3 UFC/g, a carne de frango apresenta uma validade em torno de 12 dias sem mostrar alterações; se a carga inicial é de 10^5 UFC/g, o alimento começa a mostrar alterações nas características sensoriais em torno do 6º dia. Se uma carcaça de frango com carga bacteriana inicial baixa se mantém sob refrigeração a 5°C, a deterioração ocorre entre o 6º e 7º dia e a 10°C observa-se um odor ruim e limosidade na superfície no 3º dia de estocagem.

A qualidade bacteriológica da carne de ave depende de distintos fatores relacionados com o abate do animal e sua comercialização. Na carne de aves, o crescimento microbiano começa sempre a partir da pele, que constitui uma verdadeira barreira à penetração dos microrganismos. Somente depois de certo tempo de armazenamento, os microrganismos, em particular as bactérias, invadem os músculos. Numerosos parâmetros estão envolvidos no desenvolvimento microbiano desde a criação animal até o consumo, passando pelas diferentes etapas de abate e armazenamento e vão fazer variar a natureza da microbiota da carne das aves (BOURGOIS, 1994; ANDERSON et al., 2000).

Levando-se em consideração a microbiota psicrótrófica, os microrganismos encontrados na carne logo após o abate são muito variados: *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp., *Aeromonas* spp., enterobactérias, corynebactérias, micrococos, e outros. Estes tipos bacterianos podem variar em função do modo de abate da ave. Os fenômenos de resistência bacteriana também selecionam uma determinada microbiota ao longo do armazenamento. Normalmente, são *Pseudomonas* spp. que se desenvolvem durante a estocagem refrigerada da carne. Entretanto, quando as condições de armazenamento se modificam como, por exemplo, alterações da embalagem observam-se variações importantes na microbiota predominante (BOURGOIS, 1994).

Pseudomonas spp. são bactérias aeróbias estritas que crescem rapidamente em temperatura de refrigeração e são capazes de dominar a microbiota das carnes embaladas aerobicamente. Estes microrganismos utilizam preferencialmente a

glicose disponível, porém, quando o carboidrato é exaurido, iniciam o catabolismo de aminoácidos, o que produz odores e sabores desagradáveis. Outros microrganismos aeróbios, tais como *Acinetobacter* spp. e *Moraxella* spp. também estão presentes em carnes deterioradas aerobicamente. Quando a carne é embalada a vácuo ou é usada uma EAM com mais de 20% de CO₂, o crescimento de *Pseudomonas* spp. é suprimido. Sob estas condições, as bactérias lácticas crescem mais rapidamente e são frequentemente os únicos microrganismos detectáveis durante a armazenagem refrigerada de produtos em EAM. Estes microrganismos fermentam a glicose e alguns outros substratos presentes na carne e, quando estes últimos são exauridos, o crescimento cessa. Isto ocorre normalmente quando o número atinge 8 log/cm² (HOLLEY; GIL, 2005).

Quando as carnes são embaladas a vácuo, os microrganismos microaerófilos como *Brochothrix thermosphacta* e os lactobacilos são os que predominam. Se a embalagem é semipermeável, pode-se observar a substituição das *Pseudomonas* spp. por *Serratia liquefaciens*. Contudo, tem-se demonstrado que durante os tratamentos tecnológicos, como a irradiação, por exemplo, ocorre uma seleção da microbiota, e neste caso, há o crescimento preferencial de *Acinetobacter* spp. (BOURGOIS, 1994).

Em relação à microbiota patogênica na carne de aves, podem ser encontrados numerosos tipos de bactérias, tanto na superfície da carne, quanto nos produtos derivados. Com frequência são isolados *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter* spp., *Yersinia* spp. (BOURGOIS, 1994).

Os fungos têm menor importância na deterioração de carnes de aves, exceto quando antimicrobianos são utilizados para suprimir o crescimento bacteriano, neste caso, os fungos filamentosos se tornam os principais agentes da deterioração (JAY, 2005).

2.2.1 *Listeria monocytogenes* em carne de frango

Listeria monocytogenes é um bacilo curto com extremidades arredondadas, que às vezes apresenta-se sob forma de cocobacilo. É um microrganismo não esporulado, móvel, Gram positivo, anaeróbio facultativo e catalase positivo. Pode-se

desenvolver nos valores de pH compreendidos entre 5,09,0, sendo o pH ótimo de crescimento 7,5 (ANDERSON et al., 2000).

As estirpes de *L. monocytogenes* são sorotipadas de acordo com seus antígenos somáticos "O" e flagelares "H" (VASCONCELOS et al., 2008). *Listeria monocytogenes* contém os sorovares 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4b, 4c, 4e, 7 (SEELIGER; JONES, 1996). Entretanto, conforme Vasconcellos et al. (2008), apenas três destes sorovares, especificamente 1/2a, 1/2b e 4b, estão envolvidos com a maioria dos casos clínicos de listeriose. E Pettinati et al. (2006) salientam que o sorotipo 4 b está associado a 70% dos casos de listeriose humana.

L. monocytogenes é um patógeno intracelular facultativo, que pode crescer em macrófagos, células epiteliais e fibroblastos cultivados. Todas as cepas virulentas produzem uma hemolisina, a listeriolisina O, que está geneticamente relacionada com a estreptomicina O e a pneumolisina (MURRAY, 2000).

Segundo Jemmi e Stephan (2006), o caráter ubíquo de *L. monocytogenes*, a capacidade de persistir em ambientes de processamento de alimentos e de se multiplicar em temperaturas de refrigeração, dificulta o controle deste microrganismo no alimento, tornando-o uma ameaça significativa para a saúde pública.

Todas as espécies do gênero *Listeria* são amplamente distribuídas na natureza e têm sido isoladas de solo, vegetação, esgoto, água, alimentos para animais, carne fresca e congelada, resíduos de matadouros e fezes de animais saudáveis. Assim, os animais e o seu ambiente podem apresentar uma importante fonte de contaminação dos alimentos (JEMMI; STEPHAN, 2006).

A transmissão da *Listeria* spp. pode ocorrer tanto por contato direto quanto indireto com fontes contaminadas; por via oral, ocular, cutânea, respiratória e urogenital. O organismo pode estar presente em secreções oculares, nasal e purulenta da epiderme e na urina, placenta de bovino infectado; outros tecidos contaminados, fezes e sangue. Porém, a transmissão por alimentos parece ser a forma mais importante (MARTH, 1988).

As listérias crescem em temperatura de 1 a 45°C, sendo a faixa ótima de 30 a 37°C, embora existam relatos sobre o crescimento a 0°C. Suportam repetidos congelamentos e descongelamentos (FRANCO; LANDGRAF, 2008; LOVETT; TWEDT, 1988; SEELIGER; JONES, 1996)

O meio científico foi despertado para o perigo da listeriose durante a década de 80, quando uma série de surtos ocorreu na América do Norte e Europa; e a

Listeria monocytogenes foi responsável por várias formas de listeriose humana. A partir de 1988, principalmente nos países da Europa Central, pesquisadores passaram a investigar a listeriose como doença de origem alimentar (FARBER; PETERKIN, 1991; OLIVEIRA, 1993).

A listeriose no organismo humano e no animal tem um quadro diferente da maioria das outras doenças enquadradas como enfermidades, cujos agentes etiológicos são transmitidos por alimentos. Isto se deve à natureza intracelular facultativa do seu agente causal que, rompendo as células, produz septicemia, o que propicia a infecção de tecidos normalmente não afetados, como o sistema nervoso central, a placenta e o útero gravídico (CASTRO, 1989; FARBER; PETERKIN, 1991.; FRANCO; LANDGRAF, 2008; LOVETT; TWEDT, 1988; MARTH, 1988)

A ingestão de alimentos contaminados com *Listeria* spp. é particularmente perigosa para gestantes, recém nascidos, indivíduos com síndrome de imunodeficiência adquirida, portadores de carcinomas ou de outras doenças imunocomprometedoras ou usuários de medicamentos que provoquem comprometimento do sistema imunológico (FRANCO; LANDGRAF, 2008; HOBBS; ROBERTS, 1992).

O aborto listérico na mulher ocorre geralmente na segunda metade da gravidez, com mais frequência no terceiro trimestre. Os sintomas que precedem em alguns dias ou semanas ao aborto ou ao parto podem consistir em calafrios, aumento da temperatura corporal, ligeira irritação e às vezes sintomas gastrointestinais (ACHA; SZYERES, 2001).

Os sintomas nos adultos variam consideravelmente nos estágios finais da doença. Os sintomas iniciais são geralmente similares aos da influenza, seguido por dor severa de estômago, dores nos membros, frio, altas temperaturas, pescoço duro, náusea, vômito e fotofobia. O paciente fica sonolento e isto é intermitente, porém crescem frequentemente casos de coma e delírio antes da morte (VARNAM; EVANS, 1996)

Na pesquisa realizada por Gonçalves (1998) no Estado do Rio de Janeiro, das 40 amostras de carne de frango congeladas, foram isoladas 246 cepas de *Listeria* spp., sendo 52 cepas de *L. monocytogenes*. De 63 amostras de carcaças de frango analisadas em Portugal, todas apresentaram-se contaminadas com *Listeria* spp., sendo que 26 amostras (41%) foram positivas para *L. monocytogenes* (ANTUNES et. al., 2002).

No trabalho desenvolvido por Mena et al. (2004), vários tipos de produtos alimentícios foram analisados quanto a presença de *L. monocytogenes* em Portugal. Das 1035 amostras (leite, carne, peixes crus, e alimento termicamente processados e fermentados), 72 (7,0%) foram positivas para *L. monocytogenes*. Das 17 amostras de carne bovina crua, 3 (18 %) foram positivas para *L. monocytogenes*. A carne de frango crua obteve maior número de amostras positivas, sendo que das 15 amostras analisadas, 9 (60%) apresentaram-se positivas.

Das 178 amostras de carcaça de frango, pele de pescoço e de superfícies com e sem contato com o alimento, oriundas de matadouro frigorífico no Estado de São Paulo, 28 (16 %) foram positivas para *L. monocytogenes* (DIAS, 2008).

Nalério et al. (2009) verificaram que 1,7% (15/128) das amostras de abatedouro no Rio Grande do Sul (84 referentes a frangos/carcaças, 24 amostras de superfícies que entram em contato com o alimento e 20 amostras de superfícies que não mantêm contato com o alimento) apresentaram contaminação por *L. monocytogenes* e nos frangos resfriados procedentes do comércio, a prevalência foi de 33 % (15/45).

2.3 USO DA ATMOSFERA MODIFICADA EM CARNE DE FRANGO

2.3.1 Influência na validade comercial

A utilização de EAM para estender a validade de alimentos é reconhecida há muitos anos. A primeira grande aplicação comercial de EAM foi em 1974, quando uma companhia francesa, SCOPA, começou a comercializar carnes embaladas. Hoje, alimentos embalados em EAM incluem carnes cruas e cozidas, frango, peixe, crustáceo, vegetais, frutas, batatas, café, chá e outros (CHURCH, 1994).

Floros e Matsos (2005) relataram que a EAM aumenta o prazo comercial de produtos alimentícios através da redução das alterações fisiológicas, químicas/bioquímicas e físicas indesejáveis nos alimentos e do controle do crescimento microbiano. Atmosferas contendo alta concentração de gás carbônico devem ser usadas para suprimir os microrganismos e estender a validade do produto. Uma mistura de gases com altas concentrações de O₂ e CO₂ é ideal para a

conservação da qualidade dos produtos cárneos e consequente extensão do prazo comercial.

Atualmente, na América do Norte, cerca de 85% de carnes frescas e a maioria das carnes processadas são embaladas sob vácuo ou distribuídas embaladas em atmosfera modificada contendo um ou mais gases. Garantindo-se que as temperaturas de estocagem sejam mantidas baixas ($-1,5^{\circ}\text{C}$ para carnes frescas) a validade comercial pode alcançar pelo menos 9-12 semanas para carnes frescas. De um modo geral, o prazo comercial de carnes vermelhas pode ser aumentado para até dois meses se embaladas com 75% de O_2 + 25% de CO_2 e armazenadas a -1°C . A alta concentração de oxigênio garante a manutenção da cor vermelha (JAY, 2005).

Comercialmente, o sistema de embalagem em atmosfera modificada mais utilizado para embalagem da carne fresca emprega altas concentrações de O_2 em combinação com CO_2 , normalmente 60-80% O_2 / 20-40% CO_2 (EILERT, 2005). Segundo Pereira (2005), a proporção de misturas de gases mais utilizada para carnes vermelhas é de aproximadamente 70% O_2 e 30% CO_2 . Porém, a estabilidade da cor da carne e a validade comercial dos produtos armazenados contendo esta mistura de gases ainda são limitadas.

No caso de carne de aves, a presença do oxigênio não é necessária. Em alguns casos, na carne de peru, por exemplo, a presença do oxigênio pode até ser prejudicial por causar odores indesejáveis. A extensão da validade comercial de carne de aves sob EAM aumenta com o aumento da concentração de CO_2 , devido à supressão do crescimento microbiano. Entretanto, tem sido observado que altas concentrações de gás carbônico podem ocasionar a descoloração do produto (FLOROS; MATSOS, 2005).

Para aves, diferentes misturas gasosas são utilizadas no acondicionamento, podendo incluir O_2/CO_2 ; N_2/CO_2 e $\text{O}_2/\text{CO}_2/\text{N}_2$. No acondicionamento de carcaças de aves, podem ser utilizadas misturas com altas concentrações de CO_2 , atingindo uma validade comercial de até 21 dias (normalmente seis a 14 dias). Para a comercialização de cortes em pequenas porções, a concentração de CO_2 não deve exceder 30%, para não ocasionar problemas de descoloração (ZEPKA, 2008).

Jiménez et al. (1997) observaram que a EAM (70% CO_2 /30% N_2) estendeu a validade comercial de peito de frango resfriado para 21 dias, comparados com cinco dias das amostras controle. Saucier et al. (2000) determinaram o prazo comercial de

carne de frango e carne de peru embaladas sob dois tipos de atmosfera modificada: 62% CO₂/ 8% O₂/30% N₂ e 20% CO₂/ 80% N₂ e verificaram que as carnes embaladas com a segunda mistura de gases mantiveram a contagem microbiana mais elevada durante todo o experimento.

Patsias et al. (2006) constataram que carnes de frango pré-cozidas foram melhor conservadas sob as misturas de gases: 60%/40% e 90%/10% (CO₂/N₂). A validade comercial foi estendida para mais seis dias quando comparada com o controle embalado a vácuo e essas misturas mantiveram as características de odor e sabor desejáveis.

2.3.2 Tecnologia da EAM e gases utilizados

Segundo Church (1995), as carnes frescas podem ser preservadas tanto pelo vácuo como por embalagem em atmosfera modificada seguida pela refrigeração. O primeiro possui a vantagens de ser uma técnica simples, porém, a compressão que causa no alimento pode alterar sua forma original e/ou aumentar o “drip” da carne. Brody (1995) ressalta que o prazo comercial das carnes de frango embaladas a vácuo é usualmente pequena, limitada a duas semanas antes do desenvolvimento de odores pútridos.

A embalagem a vácuo é definida como o acondicionamento do produto em embalagens com barreira aos gases onde o ar é removido para prevenir o crescimento de organismos deteriorantes, a oxidação e a descoloração do produto. Para a maioria dos pesquisadores, esse tipo de embalagem é considerado uma forma de EAM visto que, ao remover o ar, a atmosfera no interior da embalagem é modificada. Sob tais condições, o oxigênio residual é utilizado pela microbiota aeróbica residente, produzindo gás carbônico (10-20%) e fazendo com que o potencial de redox tenda a ficar negativo. Estas mudanças no redox e a composição da atmosfera suprimem o crescimento de bactérias aeróbias deteriorantes responsáveis pela viscosidade, rancificação e descoloração indesejáveis no produto. A condição resultante favorece o crescimento de organismos anaeróbios facultativos incluindo as bactérias ácido lácticas, porém em velocidade lenta, atrasando a deterioração da carne (GENIGEORGIS, 1895; HINTLIAN; HOTCHKISS, 1986).

A técnica da EAM envolve a remoção do ar da embalagem e substituição por uma mistura de gases. A pressão do gás dentro da embalagem é aproximadamente 1 atm (igual à pressão externa). Isto é conseguido pelas técnicas do “gás flushing” ou pelo equipamento de embalagem a gás de termo-formação. Na técnica do “gás flushing” ou de nivelamento do gás, o gás é introduzido continuamente na embalagem, diluindo o ar presente, sendo, no final, a embalagem selada. Na técnica da termo-formação, um método de vácuo compensado é usado para introduzir a mistura gasosa. Isto envolve a passagem do produto por uma bandeja e remoção do ar. O vácuo é quebrado pela mistura de gases apropriada e a embalagem é selada com calor. A vantagem deste último método é a maior eficiência na remoção do oxigênio em níveis residuais menores que 1% (SMITH et al., 1990).

Três gases são geralmente usados na embalagem de alimentos: O_2 , N_2 e CO_2 , cada qual possuindo uma função específica (CHURCH, 1995). A escolha da mistura de gases utilizada é influenciada pela microbiota capaz de crescer no produto, pela sensibilidade do produto ao O_2 e ao CO_2 e pela estabilidade da cor desejada (por exemplo: preservação da oximioglobina em carne fresca e nitrosomioglobina em produtos cárneos curados) (CHURCH, 1994).

A mistura de gases utilizada em EAM de diferentes alimentos também depende da natureza do alimento e dos mecanismos prováveis de deterioração. Quando a deterioração é principalmente microbiana, o nível de CO_2 na mistura deve ser o mais alto possível, limitado somente pelos efeitos negativos do CO_2 no alimento específico (por exemplo, colapso da embalagem). A composição gasosa típica nessa situação é de 30 a 60% de CO_2 e 40 a 70% de N_2 . Para produtos que são muito sensíveis ao oxigênio, onde a deterioração é principalmente pela rancificação oxidativa, misturas de 100% N_2 ou N_2/CO_2 são usadas, se a deterioração microbiana também for importante nesse alimento (ROBERTSON, 2006).

O gás O_2 geralmente estimula o crescimento de bactérias aeróbicas e inibe o crescimento de anaeróbias estritas, embora exista uma grande variação da sensibilidade de anaeróbios ao O_2 . A presença de O_2 é mais importante no armazenamento de carnes vermelhas frescas, por manter o pigmento da carne, mioglobina em sua forma oxigenada, oximioglobina, que fornece à carne fresca a cor vermelha característica. Baixos níveis de O_2 (0,5%) podem ocasionar uma coloração marrom em carnes resfriadas (CHURCH, 1994).

Embora o nível de O₂ diminua durante o armazenamento, sua inclusão no início do empacotamento pode favorecer o crescimento de microbiota competitiva e ajudar a inibir o crescimento de bactérias patogênicas anaeróbias presentes (CHURCH, 1994).

Alguns pesquisadores verificaram que o uso de altas concentrações de O₂ têm sido eficaz na redução da microbiota em diferentes alimentos, como citado por Amanatidou et al. (2000), os quais concluíram que altas concentrações de O₂ podem ser usadas para conservar cenouras minimamente processadas pois mantêm seu frescor diminuindo a microbiota durante armazenamento prolongado. Jacxsens et al. (2001) também observaram que a concentração de 95% de O₂ estendeu a fase de adaptação do patógeno *Listeria monocytogenes* e reduziu a população de leveduras em vegetais prontos para consumo. Strotmann et al. (2008) verificaram que 100% de O₂ na embalagem de carne suína inoculada com *Yersinia enterocolitica* reduziu significativamente o número desse patógeno ao final do armazenamento (12 dias).

O gás CO₂ é um inibidor do crescimento bacteriano e fúngico. Seu modo de ação depende da dissolução do gás no produto embalado. O efeito inibitório da embalagem em atmosfera modificada é diretamente relacionado com a quantidade de CO₂ presente. A solubilidade deste gás é indiretamente proporcional à temperatura de armazenamento, logo, baixas temperaturas possuem um efeito sinérgico para a ação bacteriostática do CO₂ (CHURCH, 1995).

O CO₂ é solúvel em água e em gorduras e seu efeito bacteriostático é influenciado pela carga bacteriana inicial, pela temperatura de estocagem e pelo tipo de produto embalado. A absorção do gás pelo produto causa pequena redução no volume do gás e, conseqüentemente, pode ocasionar o colapso da embalagem. Em alimentos com muita umidade, como carnes vermelhas, de aves e pescados, a excessiva absorção de CO₂ pode causar o colapso da embalagem, fazendo com que a embalagem do produto fique com aparência de ter sido a vácuo. Embalagens contendo altas concentrações de CO₂ podem ocasionar o aumento do “drip” da carne fresca (CHURCH, 1994; CHURCH, 1995).

Quando o CO₂ se dissolve em água, acidifica o meio. A acidificação, assim como o efeito antimicrobiano do CO₂ nas concentrações maiores que 10-15%, pode suprimir o crescimento de muitos microrganismos deteriorantes e por esta razão é um componente importante da EAM (BRODY, 1995).

O nitrogênio (N_2) é um gás inerte, insípido e menos predisposto a acidentes do que os outros gases comumente usados em EAM. O N_2 é usado como um gás de enchimento, substituindo o O_2 como uma alternativa da embalagem a vácuo quando o produto é frágil, ou para limitar o colapso da embalagem causado pela absorção do CO_2 pelo produto (CHURCH, 1995).

O N_2 possui baixa solubilidade em água e em gorduras. É usado para substituir o O_2 em embalagens retardando a rancificação oxidativa e inibindo o crescimento de microrganismos aeróbios (CHURCH, 1994).

2.3.3 Microbiologia da EAM

A extensão da validade comercial do produto embalado em atmosfera modificada deve-se à baixa concentração de oxigênio que favorece o controle de bactérias aeróbias, que são as principais responsáveis pela deterioração. Além disso, uma alta concentração de CO_2 também aumenta a validade comercial dos alimentos embalados. O efeito antimicrobiano do dióxido de carbono ocorre quando o gás está na concentração em torno de 10% e aumenta com maiores concentrações. Usando 20% de CO_2 é possível controlar o crescimento de muitos aeróbios, incluindo *Pseudomonas* spp., *Acetobacter* spp. e *Moraxella* spp., embora altas concentrações possam estimular o crescimento de *Clostridium botulinum* (FLOROS, MATSOS, 2005).

O mecanismo da atividade antimicrobiana do CO_2 não está completamente entendido, mas sabe-se que o CO_2 estende a fase de adaptação do crescimento microbiano de muitas maneiras. O gás penetra na parede da célula microbiana e altera a permeabilidade celular; se solubiliza dentro da célula e produz ácido carbônico (H_2CO_3), que reduz o pH da célula; e, finalmente, interfere em muitas rotas enzimáticas e bioquímicas dentro da célula microbiana, reduzindo a sua taxa de crescimento (FLOROS; MATSOS, 2005).

A atividade inibitória do CO_2 aumenta se a temperatura de armazenamento diminui, devido à maior solubilidade do gás em água sob baixas temperaturas. A inibição também aumenta quando o pH diminui em uma faixa ácida (JAY, 2005). A efetividade do CO_2 depende, também, da fase de crescimento do organismo presente. O CO_2 aumenta a duração da fase de adaptação e reduz a taxa de

crescimento durante a fase logarítmica. Entretanto, o efeito sobre a primeira é maior e, portanto, à medida que a bactéria passa da fase lag para a fase log, o efeito inibitório do crescimento é reduzido (CHURCH, 1995).

Em geral, as bactérias Gram negativas são mais sensíveis à inibição pelo CO₂ do que as Gram positivas, sendo as pseudomonas classificadas como as mais sensíveis, e os clostrídios como os mais resistentes. Durante o armazenamento prolongado, o CO₂ provoca uma mudança considerável na microbiota da carne, variando de uma microbiota predominantemente formada por microrganismos Gram negativos, nos produtos frescos, para uma principalmente, ou exclusivamente formada por Gram positivos (JAY, 2005).

Fungos filamentosos, leveduras e bactérias aeróbias deteriorantes são altamente susceptíveis ao CO₂. As bactérias facultativas podem ou não ser inibidas pelo CO₂, enquanto as bactérias ácido lácticas e anaeróbias são altamente resistentes (FINNE, 1982)

Algumas bactérias, por exemplo, *Brochothrix thermosphacta*, podem tolerar níveis de CO₂ acima de 75%, e outras, como as bactérias ácido lácticas, podem crescer sob condições de 100% de CO₂ (SMITH et al, 1990).

Em alimentos protéicos e refrigerados, como a carne e peixe, o uso da EAM geralmente resulta em inibição de bactérias Gram negativas como *Pseudomonas* spp., *Enterobacteriaceae*, *Acinetobacter* spp. e *Moraxella* spp.. Já as bactérias Gram positivas ácido-lácticas e *B. thermosphacta* se tornam os organismos dominantes (CHURCH, 1994).

Os microrganismos deteriorantes mais importantes em carnes frescas estocadas sob refrigeração pertencem ao gênero *Pseudomonas*, inibido pelo vácuo e por concentrações de CO₂ em torno de 10 a 20%. Nessas condições, outros microrganismos se tornam dominantes como, por exemplo, *B. thermosphacta* e *Lactobacillus* em aerobiose e anaerobiose, respectivamente (CHURCH, 1995).

Segundo Church (1994), as autoridades e algumas indústrias de alimentos vêm tendo interesse no perigo que certos alimentos embalados em EAM podem representar para a saúde coletiva. Em relação à segurança microbiológica, o *Clostridium botulinum* representa um perigo em potencial para alimentos embalados em EAM. Sugere-se que a supressão da microbiota deteriorante em EAM pode resultar em produtos contendo um grande número de microrganismos patogênicos

ou toxinas, enquanto a aparência do produto permanece intacta, sendo aceitável sensorialmente pelos consumidores.

Entretanto, pesquisadores sugerem que a carne fresca embalada em EAM não proporciona qualquer vantagem competitiva para as bactérias patogênicas crescerem além das oportunidades presentes em carnes frescas refrigeradas desembaladas. O perigo associado aos *C. botulinum* e psicrotróficos e consequente produção de toxinas em alimentos sob EAM não parece ser significativamente diferente do perigo destes microrganismos produzirem toxinas em produtos embalados aerobicamente (HOLLEY; GILL, 2005)

Uma maneira de prevenir o perigo representado pelo *C. botulinum* em carnes de peixe é o uso de um pré tratamento em combinação com a EAM. O sorbato de potássio, o cloreto de sódio e a irradiação vem mostrando efetividade. Para produtos nos quais a retirada do O₂ pode permitir a sobrevivência de patógenos anaeróbios, é recomendado que um ou mais dos critérios a seguir sejam observados: Aa < 0,92; pH < 4,5; adição de nitrito de sódio; temperatura mantida abaixo de 3°C (CHURCH, 1994).

Church (1994) relatou que vem havendo interesse sobre a habilidade de outros patógenos psicrotróficos (por exemplo, os gêneros *Aeromonas*, *Yersinia* e *Listeria*) de crescer em produtos embalados em EAM.

L. monocytogenes, *Y. enterocolítica* e *A. hydrophila* são mais competitivas e consequentemente uma concentração de 40% de CO₂ é necessária para sua inibição efetiva. Estes microrganismos representam perigo em potencial para a saúde dos consumidores de carnes embaladas a vácuo. *L. monocytogenes* e *Y. enterocolítica* podem crescer em altas concentrações de CO₂, 75% por exemplo, em carnes “Dark, Firm, Dry” (DFD) (CHURCH, 1995).

2.4 IRRADIAÇÃO GAMA EM CARNE DE FRANGO

2.4.1 Irradiação como método de conservação de alimentos

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 radiação ionizante, com finalidades sanitária, fitossanitária e ou tecnológica (BRASIL, 2001).

O uso de irradiação para preservar alimentos é um método eficaz e recomendável, de acordo com várias evidências científicas. Grupos internacionais de cientistas estudaram este processo extensivamente e concluíram que a irradiação com doses recomendadas não é prejudicial. Nenhum resíduo de radioatividade permanece no alimento processado, como também nenhum efeito adverso é observado na qualidade nutricional. Existem vantagens em utilizar a irradiação na conservação de produtos alimentícios, visto que os alimentos podem ser expostos à radiação após o empacotamento, e mantêm o seu frescor por longos períodos de tempo (PELCZAR et. al, 1997).

O processo de conservação de alimentos por irradiação constitui uma excelente ferramenta no desenvolvimento de alimentos microbiologicamente inócuos, nutritivos e de prazo comercial mais longo. Embora ainda muito subutilizado em nosso país, a irradiação apresenta-se como uma opção muito promissora para reduzir o desperdício e controlar surtos de doenças causadas por alimentos contaminados, podendo também viabilizar a exportação de mais produtos agropecuários e favorecer o surgimento de novas áreas produtoras (VITAL et al., 2008).

O processamento de alimentos por irradiação fornece vantagens significativas aos produtores do alimento, destruindo patógenos e estendendo a validade comercial do produto (DURANTE, 2002). Talvez a mais importante aplicação deste método de conservação seja garantir a qualidade higiênica de alimentos sólidos ou semi-sólidos, especialmente os de origem animal, através de inativação de patógenos de origem alimentar (ICGFI, 1999).

Segundo Brasil (2001), as seguintes fontes de radiação são autorizadas para alimentos: Isótopos radioativos emissores de radiação gama: cobalto-60 e céσιο-137; Raios X gerados por máquinas que trabalham com energias de até 5 MeV; e Elétrons gerados por máquinas que trabalham com energias de até 10 MeV. O “International Consultative Group on Food Irradiation” (ICGFI, 1999) ressalta que esses tipos de radiações são também referidos como radiações ionizantes, pois possuem energia alta o suficiente para desalojar os elétrons dos átomos e das moléculas e convertê-los em partículas eletricamente carregadas, chamadas íons.

Os intervalos de dose comumente usados em irradiação de alimentos para atingir diversos objetivos podem ser classificados em: Radappertização (suficiente para fornecer produtos comercialmente esterilizados, 10-100 kGy, geralmente entre

25 e 45 kGy); Radicidação (suficiente para eliminar as bactérias patogênicas viáveis não formadoras de esporos, equivalente à pasteurização com o calor e que requer doses intermediárias. É também conhecido como radiopasteurização); Radurização (suficiente para reduzir o número de microrganismos deteriorantes e também auxiliar na manutenção da qualidade do alimento) (PATTERSON, LOAHARANU, 2000; IAEA, 2002).

Para que esta tecnologia possa ser aplicada em escala comercial, serão necessárias campanhas de informação ao consumidor e às indústrias, estando a mídia diretamente relacionada com esse processo. Somando-se a isso, para que os produtos irradiados sejam competitivos com os produtos existentes atualmente no mercado, deverão oferecer algum atrativo que possa justificar sua escolha pelo consumidor (SILVA et al., 2006).

2.4.2 Efeito sobre a microbiota

O efeito da radiação ionizante e a eficiência de determinada dose de radiação sobre os microrganismos dependem da radiorresistência do microrganismo, dependendo da resposta da célula microbiana à radiação ionizante, da natureza e da quantidade do dano direto produzido, além do número, da natureza e longevidade dos radicais químicos induzidos pela radiação, sendo também muito dependente da habilidade inerente à célula em tolerar ou reparar o dano ocasionado pelo processo (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

A radiação ionizante pode afetar diretamente os microrganismos pela interação com moléculas específicas no interior das células, ou indiretamente por meios de efeitos inibidores de radicais livres produzidos pela radiólise da água. Este efeito indireto desempenha um papel importante, visto que, na ausência de água, são necessárias doses duas a três vezes mais elevadas para se obter o mesmo resultado sobre os microrganismos. (ADAMS; MOSS, 1995).

As radiações ionizantes induzem principalmente modificações químicas no DNA e RNA, como hidratação da citosina, ruptura das cadeias e/ou pontes de hidrogênio, formação de pontes entre as hélices e entre os pares de uma mesma hélice (CORRE; VENAILLE, 1994).

Ao sofrer ação direta das radiações (ionização) ou indireta (através da ação dos radicais livres formados durante o processo), a molécula de DNA expõe basicamente dois tipos de danos: mutações gênicas e quebras (NOUAILHETAS, 2009). As modificações no DNA e RNA têm as seguintes consequências: bloqueio da duplicação do DNA, quando não existe sistema de reparação para o tipo de enlace quebrado e paralisação da síntese de proteínas. Esses fatores têm como consequência a inibição da reprodução e do crescimento dos microrganismos. Além disso, as radiações ionizantes podem ser responsáveis pelas oxidações destrutivas das estruturas lipoprotéicas das membranas celulares (CORRE; VENAILLE, 1994).

A medida de sensibilidade à radiação mais comumente utilizada é a dose D_{10} , que é a dose necessária para eliminar 90% de uma população bacteriana (DIEHL, 1990). Entre os microrganismos, existem diferenças entre os gêneros e mesmo entre estirpes de uma mesma espécie. A faixa da radiorresistência microbiana é ampla, embora não tanto quanto a variação que ocorre na termorresistência. As bactérias Gram-negativas, tanto as deteriorantes como as patogênicas, são geralmente mais sensíveis do que as células vegetativas das bactérias Gram-positivas (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Microrganismos radiosensíveis parecem ser incapazes de superar o efeito deletério causado pela formação de radicais livres e peróxidos provenientes da radiólise da água (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

Os fatores que contribuem para eficácia da irradiação, segundo Jay (2005), são: o grupo e a espécie do organismo, a quantidade de microrganismos presentes na amostra, a presença ou ausência de oxigênio, o estado físico do alimento, o estágio de desenvolvimento do microrganismo e a composição da suspensão do alimento.

Normalmente, quanto maior o número de microrganismos presentes no alimento, maior será a dose necessária à destruição; os microrganismos apresentam maior resistência quando irradiados em meios protéicos, em ausência de oxigênio ou ainda, em células desidratadas ou meios congelados (LANDGRAF, 1996)

Durante a fase de latência, os microrganismos tendem a ser mais resistentes à irradiação e gradativamente vão se tornando mais sensíveis, à medida que progridem na fase logarítima, voltando a ser evidenciada resistência na fase estacionária (DIEHL, 1990.; LANDGRAF, 1996).

O Center for Disease Control (CDC) (2008) relatou que um dos maiores fatores que contribui para eficiência da radiação é a extensão do DNA do microrganismo envolvido. Parasitas e insetos, os quais possuem DNA mais longo, são rapidamente destruídos por baixas doses de radiação. As bactérias necessitam de maiores doses de radiação, visto que possuem o DNA menor do que os primeiros, sendo o valor D exigido em torno de 0,3 a 0,7 kGy. Porém, para inativar bactérias esporuladas, é necessária dose na ordem de 2,8 kGy. Os vírus são os menores patógenos que possuem ácido nucléico, sendo geralmente resistentes à radiação em doses apropriadas para alimentos. Seriam necessárias, então, doses de dezenas de quilograys para inativá-los. O príon, que é a partícula protéica envolvida na encefalopatia espongiforme bovina, não possui ácido nucléico, logo, não é inativado pela irradiação, exceto em doses extremamente altas.

De um modo geral, os microrganismos formadores de esporos são mais resistentes à radiação do que aqueles não esporogênicos, sendo que, dentre as bactérias não formadoras de esporos mais resistentes, quatro espécies pertencem ao gênero *Deinococcus* e uma espécie de cada gênero a seguir: *Deinobacter*, *Rubrobacter* e *Acinetobacter*. Com exceção destas, *Enterococcus faecium* R53, os micrococcos e os lactobacilos homofermentativos estão entre as bactérias não formadoras de esporos mais resistentes (JAY, 2005). As bactérias do gênero *Deinococcus* exibem uma extraordinária capacidade de resistir aos efeitos letais e mutagênicos no DNA, particularmente aos efeitos da radiação ionizante. Relativamente pouco é conhecido sobre a base bioquímica para este fenômeno, no entanto, sabe-se que a reparação de danos no DNA é, em grande parte, responsável pela radioresistência desse gênero bacteriano (BATTISTA, 1997). A grande multiplicidade do genoma, os vários mecanismos específicos de reparação do DNA e a ausência de genes comuns de reparação de DNA parecem facilitar a reparação altamente eficiente do DNA e contribuir para a sua impressionante radioresistência (APTE, 2009)

O mecanismo de resistência dessas bactérias ainda não está esclarecido. Supõe-se que a presença de envelope celular mais complexo possa ser um fator. Além disso, todos apresentam pigmentos e contêm vários carotenóides que sugerem alguma relação com a alta radiorresistência. Outro fator parece estar relacionado à presença de um eficiente mecanismo de reparo de seus ácidos nucléicos (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Pseudomonas spp. e flavobactérias são as mais sensíveis, e as outras bactérias Gram negativas possuem sensibilidade intermediária. Em relação à radiosensibilidade de fungos filamentosos e leveduras, as últimas são mais resistentes, com ambos os grupos sendo menos sensíveis do que as bactérias Gram negativas (JAY, 2005).

A alta resistência ao calor não necessariamente implica em mais alta resistência à radiação, a exemplo da *Moraxella-Acinetobacter*, bactéria não esporulada altamente resistente à radiação, porém facilmente inativada pelo calor, em contraste com a célula vegetativa da bactéria *Geobacillus stearothermophilus*, que é bastante resistente ao calor e menos radiorresistente (DIEHL, 1990).

2.4.3 Efeito sobre a qualidade nutricional e sensorial da carne

Ao interagir com a matéria, a radiação ionizante age em nível atômico, podendo causar pequenas alterações na composição química dos alimentos. A radiação produz os seguintes efeitos: excitação ou ionização de átomos e dissociação de moléculas. Os dois podem dar origem a radicais livres, denominados “produtos radiolíticos”, em geral, altamente instáveis e reativos, que tendem a recombinar-se rapidamente produzindo outros compostos. Esses compostos são quimicamente idênticos àqueles produzidos nos tratamentos térmicos (chamados termolíticos), com uma exceção conhecida: a 2 alquil ciclobutanona formada na radiólise de lipídios, a qual não apresenta toxicidade significativa (VITAL; FREIRE-JUNIOR, 2008).

As doses de radiação menores que 10,0 kGy em alimentos provocam mudanças muito pequenas ou nulas na qualidade nutritiva dos produtos alimentícios. O valor nutritivo das proteínas nos alimentos irradiados é pouco diferente dos alimentos tratados por outros processos, como o calor, às vezes, inclusive, é menor. O conteúdo de aminoácidos sofre uma variação pequena com tratamentos ionizantes entre 25,0 e 70,0 kGy. No que se refere aos glicídios, o tratamento com radiação ionizante altera menos estes compostos do que o tratamento térmico. O conteúdo de vitaminas não varia na radapertização, exceto a vitamina K que é destruída sob estas condições (CORRE; VENAILLE, 1994).

As modificações químicas induzidas pelas radiações ionizantes podem ocasionar alterações nas características sensoriais dos alimentos, cuja intensidade varia em função da dose absorvida, da composição química do alimento e da presença ou não de radioativadores e radioprotetores (CORRE; VENAILLE, 1994).

Além da água, as proteínas e outras estruturas nitrogenadas parecem ser os compostos mais sensíveis aos efeitos da irradiação nos alimentos (JAY, 2005). A principal alteração é o aparecimento de odor desagradável no alimento irradiado, principalmente devido à ação das radiações sobre os lipídios e proteínas, sobretudo se a irradiação e ou o armazenamento ocorrem na presença de oxigênio. Isso acontece, pois, nos produtos irradiados, observa-se um aumento na quantidade de peróxidos e hidroperóxidos, que levam à produção de aldeídos e cetonas. Entretanto, como há comprovado por numerosos pesquisadores, os aromas indesejáveis tendem a desaparecer durante o armazenamento e após o cozimento dos alimentos irradiados (CORRE; VENAILLE, 1994; JAY, 2005).

2.4.4 Legislação brasileira sobre irradiação de alimentos

Pelo menos 36 países haviam aprovado a irradiação de alimentos até a metade do ano de 1989. No mínimo 20 materiais de embalagem diferentes foram aprovados pelo “Food and Drug Administration” (FDA) norte americano para serem irradiados com doses de 10,0 ou 60,0 kGy. Em 1983, o FDA liberou a irradiação de temperos e vegetais sazonais com até 10,0 kGy. Em 1985, o FDA concedeu a permissão para a irradiação de carne suína com até 1,0 kGy para o controle de *Trichinella spiralis*. Em maio de 1990, o “United States Department of Agriculture” (USDA) aprovou a irradiação de carne de frango com até 3,0 kGy (JAY, 2005).

Em 1981, um comitê formado pela “Food and Agriculture Organization” (FAO)/ Agência Internacional de Energia Atômica (AIEA)/ Organização Mundial da Saúde (OMS) declarou que alimentos irradiados com até 10,0 kGy são incondicionalmente seguros. Pelo menos 40 países aprovaram a irradiação de um ou mais produtos alimentícios, e 29 utilizaram a irradiação de alimentos comercialmente (JAY, 2005).

Em setembro de 1992, o “Food Safety and Inspection Service” (FSIS) aprovou orientações para utilização da irradiação em carne de frango crua embalada. A decisão da FSIS seguiu as regras aprovadas pelo FDA em maio de 1990, que

concluiu que a irradiação de carne de aves com dose de até 3,0 kGy não representa risco aos consumidores e é eficiente no controle de doenças transmitidas por alimentos. O FDA determinou, em dezembro de 1997, que o uso da irradiação na carne crua é seguro. O FSIS estabeleceu, como as dose máximas para carnes refrigeradas e congeladas, os valores 4,5 kGy e 7,0 kGy, respectivamente, além do limite de 3,0 kGy (FSIS, 1999) para o tratamento de carne de aves.

A atual legislação de irradiação de alimentos em vigor no Brasil é a Resolução RDC nº 21, de 26 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001) que aprovou o Regulamento Técnico para Irradiação de Alimentos.

No Regulamento Técnico para Irradiação de Alimentos (BRASIL, 2001), constam os requisitos gerais para o uso da irradiação de alimentos com vistas à qualidade sanitária do produto final. Qualquer alimento poderá ser tratado por radiação desde que sejam observadas as seguintes condições: a dose mínima absorvida deve ser suficiente para alcançar a finalidade pretendida e a dose máxima absorvida deve ser inferior àquela que comprometeria as propriedades funcionais e ou os atributos sensoriais do alimento. Na rotulagem dos Alimentos Irradiados, além dos dizeres exigidos para os alimentos em geral e específico do alimento, deve constar no painel principal: "ALIMENTO TRATADO POR PROCESSO DE IRRADIAÇÃO", com as letras de tamanho não inferior a um terço (1/3) do da letra de maior tamanho nos dizeres de rotulagem. Quando um produto irradiado é utilizado como ingrediente em outro alimento, isso também deve ser informado na lista de ingredientes, entre parênteses, após o nome do mesmo.

A legislação brasileira de irradiação exige que os alimentos irradiados tenham rótulo informando sobre essa condição, para que o consumidor possa optar entre consumir o produto irradiado ou não. Segundo Morehouse (2002), o FDA concluiu que é necessário informar ao consumidor que o alimento foi irradiado, pois a irradiação, assim como outras formas de processamento, pode afetar as características dos alimentos. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2001) estabelece que alimentos ou ingredientes irradiados exibam, ao lado da especificação deles na embalagem, o rótulo "alimento tratado por processo de irradiação".

2.4.5 Carne de aves irradiadas

A irradiação é considerada um dos processos tecnológicos mais eficientes para a redução da população de microrganismos no alimento. Pode ser utilizado para melhorar a segurança de produtos alimentícios e para estender seu prazo comercial.

Após a aprovação do FDA nos Estados Unidos e do programa de controle de qualidade para aves irradiadas, em 1993, carne de frango irradiada foi colocada à venda em algumas mercados varejistas na Flórida, Illinois, Iowa e Kansas com sucesso (ICGFI, 1999).

Na pesquisa realizada por Spoto et al (2000), verificou-se que a radiação gama foi um tratamento eficaz para a conservação da carne de frango porque o dose da radiação de 6.0 kGy manteve o peito de frango dentro dos limites microbiológicos estabelecidos pela legislação brasileira, por até 28 dias sob refrigeração. Miyagusku et al. (2003), ao analisarem o prazo comercial e as características sensoriais de cortes de peito de frango irradiados nas doses 1,5; 3, 0 e 7,0 KGy, observaram um ganho na validade comercial de 1,75; 4,40 e 7,0 vezes para as respectivas doses utilizadas. Constataram o aumento do odor de queimado à medida que se aumentava a dose de irradiação, sendo que a dose de 3,0 KGy foi mais eficiente em relação as características sensoriais do produto, sendo este tratamento recomendado para aumentar o prazo comercial do produto.

Bueno (2008) analisou os efeitos da radiação gama (1,5 e 3,0 kGy) em peitos de frango embalados sob atmosfera convencional e a vácuo e constatou que a irradiação nas duas doses mostrou-se eficiente na eliminação de *Salmonella* spp., reduzindo as contagem das bactérias mesófilas e coliformes, sendo que a oxidação lipídica foi maior nas amostras irradiadas a 3,0 kGy.

Oliveira et al. (2009) avaliaram os efeitos da radiação gama nas doses de 1,5 e 3,0,0 kGy, em peitos de frango embalados em embalagem convencional e a vácuo e verificaram que a dose de 3,0 kGy pode ser utilizada no controle da microbiota do peito de frango armazenado sob refrigeração, sendo uma alternativa para o aumento da validade comercial por até 10 dias, ao garantir a segurança do consumidor pela eliminação de possíveis patógenos.

2.5 EFEITO COMBINADO DA ATMOSFERA MODIFICADA E IRRADIAÇÃO

Muitas pesquisas sobre a irradiação da carne bovina e de aves foram realizadas durante as quatro últimas décadas, contudo há uma necessidade para a consideração do uso combinado com outras tecnologias, tais como a embalagem em atmosfera modificada. Nos artigos científicos publicados, consta que os efeitos da irradiação combinada à embalagem em EAM, variam de acordo com o tipo da carne analisada e com a composição da atmosfera na embalagem. A irradiação pode resultar em odor de queimado ou descoloração da carne fresca nas embalagens que contêm ar (oxigênio) (LEE et al., 1996).

Dependendo das características dos alimentos, a irradiação é aplicada em conjunto com outras técnicas de conservação (métodos combinados), para redução da carga microbiana, seja patogêna ou deteriorante. A utilização de métodos combinados pode culminar com a redução da dose necessária para assegurar a estabilidade microbiológica do produto durante a distribuição, comercialização e consumo, sem prejudicar aspectos nutricionais e/ou sensoriais (SANT' ANA; ARAÚJO, 2007).

O efeito combinado da irradiação com outras formas de conservação pode ser utilizado para impedir o desenvolvimento de células que venham a sobreviver. Uma tecnologia emergente é a combinação com embalagens em atmosfera modificada, sendo o processo de irradiação um tratamento bactericida enquanto o sistema de embalagem representa um tratamento bacteriostático (WORCMAN-BARNIKA; LANDGRAF, 2006).

Yan et al. (2006) analisaram sensorialmente rodela de peito de peru cru e cozidos embalados a vácuo e sob ar e tratados com irradiação nas doses 0,0 e 1,5 kGy. As amostras cruas embaladas a vácuo apresentaram um aroma de irradiação mais intenso do que as embaladas sob ar. Em relação às amostras cozidas, não houve diferença significativa.

No experimento desenvolvido por Chouliara et. al. (2008), foi investigado o efeito combinado da irradiação gama (2,0 e 4,0 kGy) e da EAM (30% N₂/ 70% CO₂ e 70% N₂/ 30% CO₂) na extensão da validade comercial da carne fresca de frango armazenado sob refrigeração. As populações microbianas foram reduzidas em torno de 1 a 5 log UFC/g para um dado dia de amostragem, dependendo do tratamento específico. O efeito foi mais pronunciado na combinação da EAM (70% N₂/ 30%

CO₂) e da dose mais elevada de radiação (4 kGy). A irradiação teve um maior efeito na extensão da validade comercial da carne de frango em comparação com a EAM. A combinação da irradiação a 4,0 kGy e da EAM (70% N₂ / 30% CO₂) aumentou o prazo comercial por mais 12 dias comparados às amostras embaladas com ar.

2.6 MICROBIOLOGIA PREDITIVA

2.6.1 Conceito e aplicações

A microbiologia preditiva começou como uma ciência puramente empírica, embora quantitativa. Sua primeira aparição foi provavelmente através de Esty e Meyer (1922), que descreveram a morte térmica dos esporos de *Clostridium botulinum* tipo A por um modelo linear, que é ainda utilizado para estimar o processamento térmico necessário para alimentos com baixa acidez. Esse modelo simplesmente denota que, a uma dada temperatura, a relação (ou taxa de mortalidade específica) da bactéria com o tempo é constante (BARANYI; ROBERTS, 2004). Porém, o maior avanço na microbiologia preditiva ocorreu na década de 1980, com o desenvolvimento de programas computacionais sofisticados (LOPEZ-GOMES, 2009).

A modelagem microbiana ou microbiologia preditiva é uma disciplina emergente que utiliza modelos/equações matemáticas para prever o crescimento e/ou a atividade de um microrganismo em um alimento, ao longo do tempo. Os aspectos preditivos e de modelagem não são novos, pois foram incorporados aos cálculos de processos térmicos de alimentos enlatados de baixa acidez. O que é novo é o interesse na ampliação da utilização destes conceitos para muitos microrganismos deteriorantes de alimentos, muitas vezes, também responsáveis por doenças de origem alimentar. Tal aplicação deve ocorrer mediante o uso de modelos matemáticos computadorizados sofisticados, os quais podem manipular múltiplos parâmetros de crescimento (JAY, 2005).

Tradicionalmente, os microbiologistas de alimentos explicam as diferenças entre as microbiotas do produto fresco e do produto deteriorado através de análises de contagem de microrganismos. Como esta metodologia é demorada, não é possível uma medida preventiva da contaminação do produto antes que o mesmo

seja distribuído. É evidente a impossibilidade da realização de uma análise microbiológica precisa da ampla variedade dos produtos, processos e condições de armazenamento a partir dos métodos tradicionais. Além disso, os resultados não proporcionam uma base de dados que seja significativa e aplicável a produtos e circunstâncias futuras. Deste modo, foi proposta a microbiologia preditiva, na qual as respostas do crescimento dos microrganismos nos alimentos seriam modeladas a respeito dos principais parâmetros de controle (ROBERTS, 1992).

Nas últimas duas décadas, a microbiologia preditiva estabeleceu-se como uma disciplina científica, com conferências internacionais regulares, artigos científicos em revistas e jornais, livros e portais na internet (MEMBRÉ, 2008). Para os produtores, distribuidores e consumidores, prever o restante da validade comercial dos alimentos constitui uma situação muito vantajosa. Isso equivale a minimizar o risco de perdas injustificadas de alimentos ainda bons para o consumo, devido a uma curta estimativa de validade, e também reduz o risco do consumidor comprar um produto que já tenha se deteriorado (MCMEEKIN, 1996).

A microbiologia preditiva tem sido considerada sob os aspectos probabilístico e cinético. Os modelos probabilísticos correspondem a modelos para prever a probabilidade de algum evento, como por exemplo, a germinação de esporos ou a formação de uma quantidade de toxina detectável, em um determinado período de tempo. Os modelos cinéticos correspondem à modelagem da extensão e velocidade de crescimento de populações ou destruição de microrganismos de interesse (ROSS; MCMEEKIN, 1994).

Segundo Roberts (1992), para microrganismos patogênicos não produtores de toxinas e para os microrganismos deteriorantes, é proposto o modelo cinético, que estima a fase de adaptação e o tempo de geração. As curvas de crescimento são elaboradas para combinações particulares de pH, salinidade e temperatura. O modelo também calcula os parâmetros de crescimento M (tempo no qual se observa a velocidade máxima de crescimento) e B (velocidade de crescimento relativa a M). Deste modo, é possível prever uma curva de crescimento para qualquer combinação de condições que estejam dentro do limite do experimento. Outros parâmetros de crescimento como a fase lag e o tempo de geração, podem ser deduzidos a partir da curva preditiva.

Para Cliver (2007), os modelos preditivos de crescimento costumam incluir um número de parâmetros cinéticos de crescimento: duração da fase lag

(quantidade de tempo necessária para o microrganismo adaptar-se ao ambiente); taxa de crescimento exponencial (a velocidade que a população se duplica dentro da fase exponencial); tempo de geração (o tempo necessário para a população duplicar na fase de crescimento exponencial); máxima densidade populacional (a maior contagem microbiana).

Pode-se considerar que os modelos matemáticos estabelecidos para a microbiologia preditiva possuem três níveis: nível primário ou primeiro nível, nível secundário ou segundo nível e nível terciário ou terceiro nível (WHITING; BUCHANAN, 1993).

Nos modelos primários é descrito como o número de microrganismos em uma população muda com o tempo sob condições específicas. Os modelos secundários relacionam os parâmetros do modelo primário com as variáveis ambientais ou intrínsecas, como a temperatura ou pH. Modelos terciários combinam os modelos primários e secundários com uma interface de computador, fornecendo uma ferramenta completa de predição (MARKS, 2008).

Exemplos de modelos primários incluem o modelo de Gompertz, modelos linear e não linear de inativação térmica; modelos de sobreviventes e inativação; valores da taxa de crescimento e o modelo de Baranyi e Roberts (PEÑA, 2005).

Gibson et al. (1987) foram os primeiros a utilizar a equação de Gompertz para ajustar as curvas de crescimento microbiano e constataram que a mesma pode descrever com precisão as fases exponencial e estacionária de curvas de crescimento microbiano sigmoidal, mas não foi eficaz para a fase lag. Para resolver esse problema, o modelo de Gompertz modificado foi proposto por Gibson et al. em 1987 e foi considerado o melhor modelo sigmoidal de curvas de crescimento (LI, 2007).

No entanto, o modelo de crescimento modificado de Gompertz não é derivado de considerações mecanicistas, que incorporam todas as variáveis intrínsecas e extrínsecas que regem o metabolismo celular e interpretam a resposta modelada em termos de fenômenos e processos conhecidos. Como resultado, é difícil fornecer uma base biológica para a interpretação de seus parâmetros. Portanto, algumas tentativas têm sido feitas para propor modelos de crescimento mais mecanicistas. O modelo proposto por Baranyi e Roberts (1994) é um dos modelos mais notáveis (LI, 2007).

O nível secundário envolve equações que descrevem como as respostas dos modelos primários (duração da fase lag, velocidade de crescimento e densidade máxima de população) mudam com alterações nos fatores ambientais (MIYAGUSKU et al., 2003).

O nível terciário é constituído por programas softwares utilizados para resolver os modelos de nível primário e secundário. Provavelmente, o pacote de software mais geral da microbiologia preditiva seja o Pathogen Modeling Program (USDA) e o Food MicroModel (UK) (BARANYI; PIN, 2001).

Os programas DMFit e Microfit não são preditores, são softwares que auxiliam na criação de modelos preditivos (BARANYI; PIN, 2001). O DMFit está disponível no COMBASE, que é um banco de dados contendo registros de curvas de crescimento bacteriano disponível publicamente (LOPEZ-GOMES, 2009).

O DMFit é um suplemento do Excel e permite ao usuário ver uma representação gráfica do crescimento microbiológico/dados de sobrevivência; plotar um modelo de crescimento/sobrevivência para obter estimativas de parâmetros como o crescimento máximo, tempo de latência, contagem de células inicial e contagem final de células (COMBASE, 2009).

Segundo Roberts (1992), através da microbiologia preditiva é possível desenvolver modelos aplicáveis para uma ampla categoria de alimentos, reduzindo a necessidade do exame microbiológico dos novos produtos, e também realizar rapidamente predições de inocuidade e validade comercial por meio de base de dados, com um benefício econômico considerável a longo prazo. Uma desvantagem é que as predições podem não ser precisas ou podem indicar somente uma tendência, entretanto, são importantes para estabelecer as condições de reformulação e para modificar ou avaliar os parâmetros de armazenamento.

2.7 ANÁLISE SENSORIAL DE CARNES EMBALADAS E IRRADIADAS

A Análise Sensorial é uma ciência que visa, entre outras coisas, avaliar a aceitação de produtos no mercado, pesquisando os gostos e preferências de consumidores (BADDINI, 2009). As principais aplicações dos testes afetivos são a manutenção da qualidade do produto, otimização de produtos e/ou processos e desenvolvimento de novos produtos (BARBOZA et al. 2003).

Com o crescimento da industrialização de alimentos nos anos 1900 e o desenvolvimento de muitos produtos novos, surgiu o questionamento sobre a capacidade dos poucos “experts” disponíveis cobrirem a avaliação de todos os produtos e ainda sobre a significância do julgamento de somente dois a três indivíduos. Percebeu-se que o nível de qualidade definido pelos “experts” não refletia necessariamente as atitudes dos consumidores, os quais passaram a ser focados como os detentores da definição quanto ao fracasso ou sucesso das novas indústrias (FARIA; YOTSUYANAGI, 2002).

A partir de então, o interesse dos cientistas de alimentos em medir a qualidade sensorial dos produtos foi se intensificando, sendo um marco na história da análise sensorial a realização do simpósio “Flavor in foods”, em 1937 (FARIA; YOTSUYANAGI, 2002).

A análise sensorial é realizada em função das respostas transmitidas pelos indivíduos às várias sensações que se originam de reações fisiológicas e são resultantes de certos estímulos, gerando a interpretação das propriedades intrínsecas aos produtos. Para isto, é preciso que haja entre as partes, indivíduos e produtos, contato e interação. O estímulo é medido por processos físicos e químicos e as sensações por efeitos psicológicos (IAL, 2008).

As sensações produzidas podem dimensionar a intensidade, extensão, duração, qualidade, gosto ou desgosto em relação ao produto avaliado. Nesta avaliação, os indivíduos, por meio dos próprios órgãos sensórios, numa percepção somato-sensorial, utilizam os sentidos da visão, olfato, audição, tato e gosto (IAL, 2008).

Essa ferramenta pode ser utilizada para o desenvolvimento de novos produtos, reformulação dos produtos já estabelecidos no mercado, estudo do prazo de validade comercial, determinação das diferenças e similaridades apresentadas entre produtos concorrentes, identificação das preferências dos consumidores por um determinado produto e, finalmente, para a otimização e melhoria da qualidade (BADDINI, 2009).

A irradiação de carne fresca, mesmo em doses baixas, pode resultar em odores e sabores ruins que têm sido descritos como ovo podre, odor de queimado, enxofre, metálicos, álcool ou ácido acético. Os odores variam com o tipo de carne, a temperatura durante a irradiação, a presença ou ausência de oxigênio durante a exposição e/ou após o processo de irradiação, a embalagem e a presença de

substâncias antioxidantes. Métodos para diminuir os efeitos nocivos da irradiação incluem exclusão de oxigênio (embalagens a vácuo), substituição do ar com gases inertes, além da proteção com agentes antioxidantes, e armazenamento pós-irradiação para permitir que o sabor permaneça original (BREWER, 2009).

A coloração da carne também pode ser afetada pelo processo. Nanke et al. (1998) observaram alterações na cor da carne de peru irradiadas nas doses de 1,5 kGy, 3,0 kGy, 4,5 kGy, 7,5 kGy, e 10,5 kGy, as quais apresentaram-se avermelhadas devido à irradiação.

Nam e Ahn (2002) reportaram que a carboximioglobina é responsável pelo surgimento da coloração rósea da carne de frango irradiada devido ao monóxido de carbono produzido pela irradiação. Kim et al. (2002) também sugeriram que o desenvolvimento da cor vermelha em carnes irradiadas é devido à produção de gás, especialmente CO.

Millar et al. (1995) verificaram uma maior vermelhidão nos peitos de frango irradiados a 5,0 kGy quando comparados com os controles não irradiados. Os autores concluíram que a radiação ionizante teve um efeito na coloração da carne de ave o qual é dependente da espécie, do tipo de músculo e da superfície analisada. O efeito comum em todas as espécies foi produzir uma coloração mais avermelhada na superfície de corte.

Miyagusku (2008) verificou que o incremento nas doses de irradiação acima de 3,0 kGy, independentemente do tipo de sistema de embalagem utilizada, ocasionou alteração crescente do odor de queimado no produto, revelando assim este valor como limite recomendável para a garantia de uma maior validade comercial sem alteração sensorial perceptível. Pode-se observar, também, que o “odor de queimado” foi mais intenso quanto maior foi a dose de irradiação.

As alterações no sabor de alimentos irradiados devido à oxidação dos lipídios estão entre as principais preocupações da irradiação de carne. A irradiação produz compostos voláteis responsáveis pelo odor de irradiação (KIM et al., 2002).

Quando usada sozinha, pode causar o desenvolvimento de alterações sensoriais indesejáveis em alguns alimentos, dependendo da dose absorvida e as condições de irradiação. Uma forma de evitar essas mudanças é a utilização da irradiação em combinação com outros métodos de conservação de alimentos, como atmosfera modificada e embalagem a vácuo (THAKUR, SINGH, 1995). Esta tecnologia combinada pode ser particularmente útil quando aplicada em alimentos

que são sensíveis às alterações sensoriais ocasionadas pela irradiação, mesmo em doses relativamente baixas (MOLINS, 2001).

3 DESENVOLVIMENTO

3.1. BACTÉRIAS DETERIORANTES EM FILÉS DE FRANGO EMBALADOS EM AR, VÁCUO E IRRADIADOS: PARÂMETROS BACTERIOLÓGICOS DE CRESCIMENTO E PRAZO COMERCIAL.

BACTÉRIAS DETERIORANTES EM FILÉS DE FRANGO EMBALADOS EM AR,
VÁCUO E IRRADIADOS: PARÂMETROS BACTERIOLÓGICOS DE
DESENVOLVIMENTO E PRAZO COMERCIAL¹.

Samira Pirola Santos Mantilla², Érica Barbosa Santos², Carlos Adam Conte Junior³,
Sérgio Borges Mano², Hélio de Carvalho Vital⁴, Robson Maia Franco²

RESUMO

O objetivo deste experimento foi avaliar o efeito do uso de embalagens em 100% ar e a vácuo combinadas com a radiação gama (2,0 e 3,0 kGy) no aumento do prazo de validade comercial de filé de peito de frango resfriado, analisando os parâmetros de desenvolvimento de bactérias deteriorantes e a variação do pH das amostras. A embalagem a vácuo aumentou o prazo de validade comercial quando comparada a embalagem em 100% ar, tanto nos filés não irradiados, como nos irradiados a 3,0 kGy. A irradiação das amostras nas duas doses utilizadas aumentou consideravelmente a validade comercial deste alimento. As bactérias lácticas foram os microrganismos que mais se desenvolveram nas amostras irradiadas, confirmando, assim, uma maior radioresistência quando comparada com os outros microrganismos estudados, enquanto que as enterobactérias foram mais sensíveis ao tratamento com radiação ionizante. A embalagem a vácuo combinada com a tecnologia de irradiação pode ser utilizada para melhorar a segurança de filés de peito de frango resfriados e para estender seu prazo de validade comercial.

PALAVRAS-CHAVE: deterioração; carne de frango; vácuo; radiação gama

¹ Trabalho recebido em maio/2009 e aceito para publicação em set./2009 (nº registro: PAT 6194) na Revista Pesquisa Agropecuária Tropical.

² Departamento de Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, CEP 24230-340, Niterói – RJ, Brasil. samiramantilla@yahoo.com.br ; ericaebs@hotmail.com ; mtasbm@vm.uff.br ; robsonmf@vm.uff.br

³ Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Av. Brigadeiro Trompowsky s/n. Ilha do Fundão. 21940-900 - Rio de Janeiro, RJ – Brasil. carlosconte@hotmail.com

⁴ Centro Tecnológico do Exército, Rio de Janeiro – RJ, Brasil. vital@ctex.eb.br

BACTERIAL DETERIORANTS IN CHICKEN BREAST FILLET PACKAGING IN AIR, VACUUM AND IRRADIATED: BACTERIOLOGICAL PARAMETERS OF GROWTH AND SHELF-LIFE.

ABSTRACT

The aim of this experiment was to evaluate the effect of packaging in 100% air and vacuum combined with radiation (2,0 and 3,0 kGy) on increasing the shelf life of chicken breast fillet by evaluating the parameters of bacterial deteriorants growth and the variation of pH. The vacuum packaging to increase the shelf-life when compared to commercial packaging in 100% both in air and in non-irradiated fillets irradiated to 3,0 kGy. The irradiation of samples at both doses increased the shelf-life food. The lactic acid bacteria were the organisms that are best developed in samples irradiated with thus greater radioresistance compared with the other microorganisms tested, while the enterobacteria showed greater sensitivity to treatment with ionizing radiation. In the vacuum packaging combined with the technology of irradiation can be used to improve the safety of the chicken breast fillets to extend its shelf-life.

KEYWORDS: deterioration; chicken meat, vacuum, radiation

INTRODUÇÃO

A carne de frango é um alimento de origem animal rico em proteínas de alto valor biológico e financeiramente acessível para as diferentes classes econômicas. Contudo, por ser um alimento bastante perecível, exige métodos de conservação como a utilização do frio na cadeia produtiva. O congelamento de carne de frango é a tecnologia mais utilizada, entretanto, muitos estudos revelam que o mesmo altera as características originais do alimento.

Visando aumentar a validade comercial de produtos cárneos vem sendo utilizada a embalagem a vácuo por conservar as características sensoriais do produto, entretanto, através desta tecnologia não é possível prolongar o prazo comercial destes alimentos por longos períodos. Assim, a utilização da radiação gama, como método combinado à embalagem, pode ser usada para estender ainda mais a validade comercial, e conforme muitos pesquisadores têm demonstrado eficiência na produção de alimentos seguros.

As alterações microbianas na carne de aves dependem da qualidade inicial da mesma e das condições de armazenamento, contudo a microbiota inicial e sua possibilidade de

desenvolvimento dependem de todo um conjunto de fatores que intervêm nas distintas etapas da produção (Bourgeois 1994).

Em relação à microbiota psicrótrófica, os microrganismos encontrados na carne logo após o abate são muito variados como *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp., *Aeromonas* spp., enterobactérias, corynebactérias, micrococos, entre outros. Estes tipos bacterianos podem variar, dentre outros motivos, em função do modo de abate da ave. Quando utilizada a embalagem a vácuo, as *Pseudomonas* spp. não conseguem se desenvolver devido a condição de ausência de oxigênio no meio. Nestas condições, os microrganismos microaeróbios como *Brochothrix thermosphacta* e os lactobacilos são os que predominam. Entretanto, foi demonstrado que durante os tratamentos tecnológicos, como a irradiação, por exemplo, ocorre uma seleção da microbiota, e neste caso há um crescimento preferencialmente de *Acinetobacter* (Bourgeois 1994).

Uma norma do USDA foi publicada em 21 de setembro de 1992 permitindo a irradiação de carne de aves frescas ou congeladas e produtos de frango, incluindo carne mecanicamente separada e carne moída, nas doses entre 1,5 a 3,0 kGy (Lee 1996). Muitos países utilizam o método de maneira limitada, enquanto outros (30 ou mais países) aprovam o processo de irradiação para diversos alimentos. Este método de preservação não é utilizado em maior escala, em parte, devido à suposição de que o consumidor reluta em comprar o produto irradiado (Pelczar et al. 1997).

No Brasil, a irradiação de alimentos ainda é pouco divulgada, sendo praticamente restrita a alguns produtos destinados à exportação. Felizmente, já se observa, por parte de algumas instituições de pesquisa, um crescente esforço na divulgação dos grandes benefícios e no esclarecimento dos aspectos mais fundamentais dessa técnica (Hernandez et al. 2003).

Objetivou-se neste trabalho avaliar o efeito combinado e a eficiência do uso de embalagens em 100% ar e a vácuo com o uso de doses de irradiação gama (2,0 e 3,0 kGy) no aumento do prazo comercial de amostras de filé de peito de frango resfriado, avaliando os parâmetros de desenvolvimento das bactérias deteriorantes e a variação do pH das amostras.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em duas etapas. Na primeira, foram obtidos 2,0 kg de filé de peito de frango resfriado em comércio varejista no município de Niterói, RJ, sendo transportado em caixa de polímero expandido com gelo para o Laboratório de Controle Microbiológico de Produtos de Origem Animal do Departamento de Tecnologia de Alimentos

da Universidade Federal Fluminense, onde foram realizadas as análises bacteriológicas e a aferição de pH, considerando-se o dia zero. Através da técnica de contagem em placas foram determinadas as populações de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (CBHAM), de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Psicotróficas (CBHAP), bactérias pertencentes à família *Enterobacteriaceae* e bactérias ácido lácticas.

A amostra foi dividida assepticamente em 20 unidades amostrais de aproximadamente 18,0 g cada e acondicionadas em embalagens plásticas com estrutura multicamadas de baixa permeabilidade a gases. Foram formados dois grupos: 1) Grupo controle (A) - embalagens preenchidas com ar atmosférico; 2) Grupo vácuo (V) - foi removido o ar contido na embalagem. Cada grupo era composto por dez subamostras com aproximadamente 18 g cada, totalizando 20. As subamostras foram, então, estocadas em geladeira a $1^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante todo o experimento. As análises bacteriológicas assim como a aferição de pH das amostras foram realizadas nos dias 1, 3, 5, 7, 9, 12 e 18 de estocagem.

Utilizou-se a técnica de semeadura em profundidade com Ágar Padrão para Contagem para CBHAM e CBHAP, Ágar Violet Red Bile Glucose (VRBG) para bactérias da família *Enterobacteriaceae* e Ágar “Man, Rogosa and Sharpe” (MRS) para bactérias ácido lácticas.

Para o preparo das amostras foi utilizado 162 mL de Solução Salina Peptonada 0,1% (SSP) para a diluição 10^{-1} e homogeneização em “stomacher. Em seguida foram realizadas as diluições seriadas até 10^{-6} com inóculos de 100 μL em tubos do tipo “ependorf” contendo 900 μL de SSP com auxílio de pipeta automática e ponteiras esterilizadas. Foi transferido 100 μL de inóculo de cada diluição para placas esterilizadas descartáveis e posteriormente foram adicionados em torno de 18 mL dos meios de cultura específicos fundidos e resfriados. As placas foram incubadas em estufa a $35-37^{\circ}\text{C}$ por 24 a 48 h com exceção das placas contendo o meio para contagem de bactérias psicotróficas as quais foram incubadas em geladeira a 4°C por 7 dias.

Na segunda etapa do experimento também foram obtidos 2 Kg de filé de peito de frango sob as mesmas condições e divididos em quatro outros grupos: 1) Grupo embalado com ar e irradiado a 2,0 kGy (A2) ; 2) Grupo embalado a vácuo e irradiado a 2,0 kGy (V2) ; 3) Grupo embalado em ar e irradiado a 3,0 kGy (A3) e 4) Grupo embalado a vácuo e irradiado a 3,0 kGy (V3), sendo, então, termo-soldadas. Foram realizadas as mesmas análises anteriormente citadas.

Como a contagem inicial foi diferente nas duas etapas do experimento, procedeu-se um cálculo matemático para obter a mesma contagem inicial para todos os grupos objetivando-se comparar o crescimento bacteriano dos grupos entre si. Para isto, dividiu-se a

contagem bacteriana inicial de cada tratamento pelo próprio valor obtendo-se o valor 1. As contagens subsequentes também foram divididas pela contagem inicial. O resultado foi transformado em log UFC/g, sendo que, sempre a contagem inicial de todos os tratamentos foi 0, pois o log de 1 é zero.

O crescimento da população bacteriana foi descrito mediante a equação modificada de Gompertz (Gibson et. al. 1987). Utilizou-se para isso, um programa computacional idealizado pelo Dr. József Baranyi do “Institute of Food Research, Reading Laboratory, UK” (Baranyi and Roberts 1994).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste experimento são apresentados nas Figuras 1 e 2 e na Tabela 1 onde, de maneira geral, pode ser observado que quanto maior a dose de irradiação utilizada, maior foi a fase de latência, logo maior foi o prazo comercial do filé de frango resfriado.

Prazo de validade comercial

A embalagem a vácuo aumentou o prazo comercial em relação à embalagem em 100% ar nos filés não irradiados e naqueles irradiados a 3,0 kGy. No entanto, não houve diferença no tempo de validade comercial daqueles filés embalados em ar e a vácuo e irradiados a 2,0 kGy. A irradiação das amostras embaladas em aerobiose na dose de 3,0 kGy aumentou mais do que duas vezes o prazo comercial deste alimento.

Resultados semelhantes foram encontrados por Grandison (1993), em que as amostras não irradiadas de carne moída de frango embaladas em aerobiose deterioraram-se no 2º dia de estocagem, o que foi evidenciado pela presença de odores desagradáveis. Em seu estudo, nas amostras irradiadas a 1,0 kGy, a população de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas reduziu um ciclo logaritmo, sendo inaceitáveis para o consumo após o 5º dia devido à alta contagem bacteriana. Nas amostras irradiadas a 3,1 kGy, estas populações foram reduzidas em torno de dois ciclos logaritmos, demonstrando uma maior validade comercial do que aquelas irradiadas a 1,0 kGy.

Bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas

As populações bacterianas foram reduzidas nas amostras irradiadas quando comparadas com as não irradiadas, contudo, de acordo com os dados observados na Figura 1 (A), as bactérias não foram totalmente eliminadas. Heath et al. (1990) também verificaram que as populações de bactérias presentes nos cortes de coxas e peitos de frango irradiados com 1,0, 2,0 e 3,0 kGy foram reduzidas mas não eliminadas.

Tabela 1- Prazo de validade comercial e parâmetros de desenvolvimento da microbiota de filés de peito de frango embalados em 100% ar e a vácuo, irradiados a 2,0 ou 3,0 kGy ou não irradiados, mantidos a 1°C durante 18 dias.

| Tratamento | PVC | Parâmetros | Me | Psi. | Ent | La |
|-------------------------------|------|------------|-----|------|-----|------|
| | | CI | 1 | 1 | 1 | 1 |
| A- Controle ar | 5 | g | 0,6 | 0,5 | 1,5 | 1,6 |
| | | Lag | 1,9 | 2,2 | 1,2 | - |
| | | CF | 4 | 3,9 | 3 | 2,1 |
| V- Controle vácuo | 7 | g | 0,7 | 1,2 | 0,4 | 5,3 |
| | | Lag | 3,8 | - | 5,1 | 8,7 |
| | | CF | 3,8 | 3,7 | 2 | 0,5 |
| A 2-Ar irradiado a 2,0 kGy | 9 | g | 0,7 | 6,5 | 2,3 | 0,6 |
| | | Lag | 5 | - | 7,8 | 12,4 |
| | | CF | 3,3 | 1,6 | 0,7 | 3,2 |
| A3- Ar irradiado a 3,0 kGy | 10,5 | g | 0,4 | 0,2 | - | 0,7 |
| | | Lag | 5,8 | 9,7 | - | 4,3 |
| | | CF | 1,7 | 2,8 | nd | 4,2 |
| V2- Vácuo irradiado a 2,0 kGy | 9 | g | 1 | 1,7 | 1,7 | 0,9 |
| | | Lag | 4,4 | 1,8 | 3,8 | 2,3 |
| | | CF | 2,7 | 1 | 0,5 | 4,9 |
| V3- Vácuo irradiado a 3,0 kGy | 12 | g | 0,7 | 3,8 | - | 0,2 |
| | | Lag | 5,9 | 4,9 | - | 15 |
| | | CF | 1,6 | 0,9 | nd | 6,9 |

PVC: Prazo de validade comercial (dias necessários para que a contagem de bactérias mesófilas alcance o valor de 10^7 UCF/g); CI: contagem inicial (log UCF/g); g: tempo de geração em dias; Lag: fase de adaptação em dias; CF : contagem final (log UCF/g); nd: contagem não detectada (<10 UFC/g); -: o programa não forneceu o dado; Me: mesófilos; Psi: psicrotróficos; Ent: *Enterobacteriaceae*; La: bactérias lácticas

As bactérias aeróbias mesófilas possuíram maior fase lag nos seguintes tratamentos: V3>A3>A2>V2>V>A, fazendo com que o prazo de validade comercial dos filés irradiados a 3,0 kGy fosse maior do que naqueles irradiados a 2,0 kGy, seguidos pelos filés embalados a

vácuo e por último em 100% ar. Neste estudo, as populações de bactérias aeróbias mesófilas embaladas em 100% ar e irradiadas a 2,0 e 3,0 kGy reduziram dois ciclos logarítmicos na curva de crescimento (Figura 1- A), enquanto que as embaladas a vácuo e irradiadas a 2,0 e 3,0 kGy reduziram somente 0,5 ciclo log. Achados semelhantes foram encontrados por Lescano (1991), que irradiou peito de frango com 2,5 kGy verificando que a população de bactérias totais reduziu aproximadamente dois ciclos log, alcançando o nível de 10^6 UFC/g perto do 19º dia após o abate. Em contrapartida, Thayer et al. (1992) constataram que as bactérias totais de asas de frango irradiadas com uma dose menor que 1,4 kGy foram reduzidas em torno de dois ciclos logarítmicos.

Nesse experimento, em todos os tratamentos, a fase de adaptação foi maior no V3 e menor no A, demonstrando que as bactérias mesófilas apresentaram dificuldade de reiniciar o desenvolvimento no V3, enquanto se desenvolveram com mais facilidade no A. Este achado é corroborado com o resultado da contagem bacteriana no final do período de armazenamento, no qual as amostras embaladas a vácuo apresentaram menor população bacteriana que em 100% ar. Sugere-se que a irradiação das amostras a vácuo foi mais eficiente na redução inicial da carga microbiana, entretanto, não impediu o desenvolvimento bacteriano durante a estocagem. Todavia não é possível afirmar tal fato, pois não foram analisadas amostras repetitivas. O maior desenvolvimento bacteriano em amostras de peito de frango embaladas em aerobiose quando comparado com amostras a vácuo também foi encontrado por Jiménez et al. (1997). No referido estudo, as amostras controle (embaladas em aerobiose) apresentaram um aumento rápido do desenvolvimento de bactérias viáveis, alcançando uma população de 8 log UFC/g, depois de quatro a cinco dias de estocagem a 4°C, enquanto o uso da embalagem a vácuo aumentou o tempo de armazenamento para sete a oito dias.

Entre as classes bacterianas analisadas, observou-se que, em todos os tratamentos, as bactérias mesófilas aeróbias foram predominantes, menos nas embalagens a vácuo irradiadas nas duas doses e nas embaladas em aerobiose irradiadas a 3,0 kGy, onde houve predominância das bactérias crescidas em meio Ágar MRS.

Bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas

As bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas apresentaram a maior fase lag nos filés embalados em vácuo e irradiados a 3,0 kGy, seguido pelos filés embalados em ar e irradiados a 3,0 kGy. Apresentaram maior desenvolvimento nas amostras embaladas em 100% ar e não irradiadas. Quanto maior foi a dose de radiação aplicada, menor foi a capacidade de adaptação deste grupo bacteriano como pode ser visto na Tabela 1. Miyagasku

et al. (2003), também verificaram uma diminuição do desenvolvimento deste grupo bacteriano em carne de frango irradiada. Nas amostras não irradiadas os autores verificaram que o término da vida útil ocorreu entre o 5^o e 8^o dias de armazenamento, enquanto que as amostras irradiadas com doses de 1,5 e 3,0 kGy atingiram níveis próximos somente no 15^o e 22^o dias de armazenamento, respectivamente.

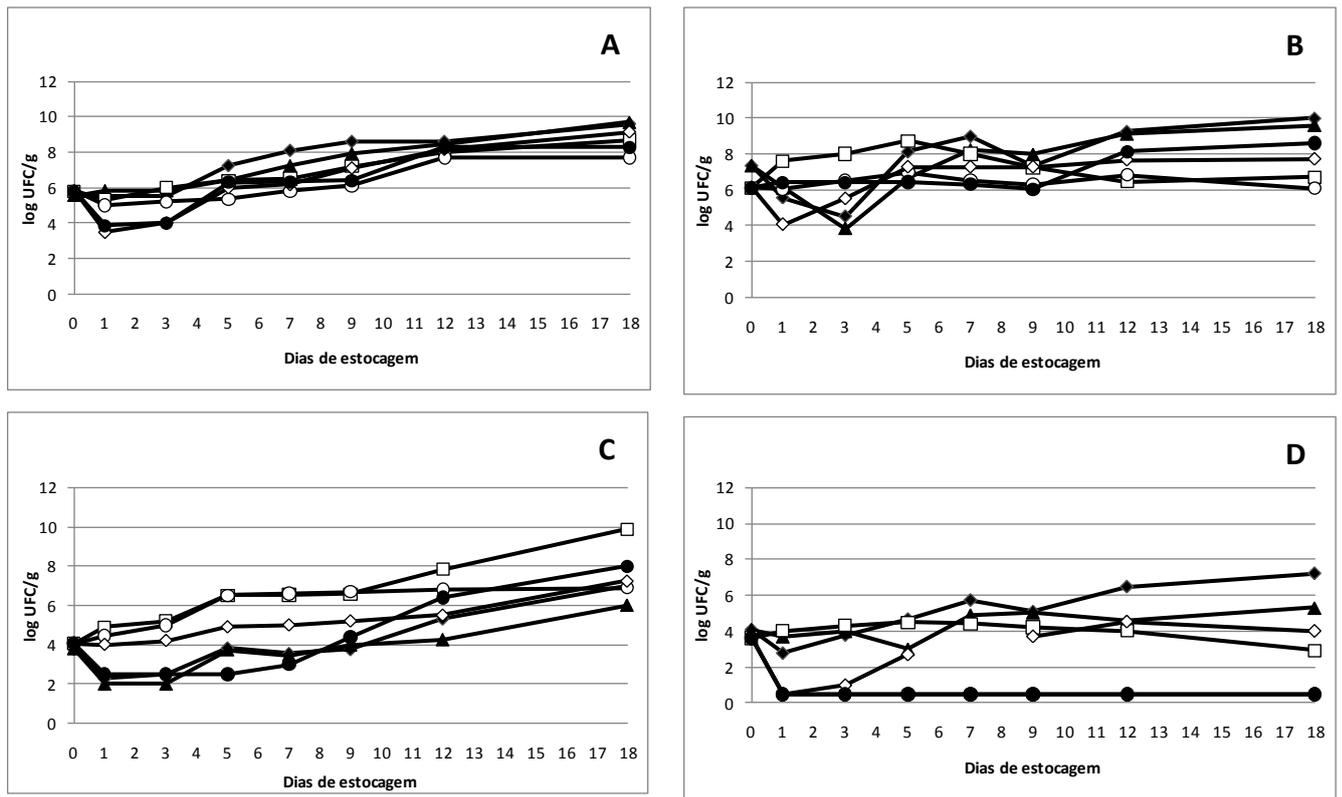


Figura 1- Desenvolvimento das bactérias em todos os tratamentos durante os 18 dias de estocagem a 1°C: A- Bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas; B- Bactérias heterotróficas aeróbias psicrotróficas; C- Bactérias lácticas; D- Enterobactérias; \blacktriangle -A grupo embalado em ar; \blacktriangle -V grupo embalado a vácuo; \square -V2 grupo embalado a vácuo e irradiado a 2,0 kGy; \circ -V3 grupo embalado a vácuo e irradiado a 3,0 kGy; \diamond -A2 grupo embalado em ar e irradiado a 2,0 kGy ; \bullet -A3 grupo embalado em ar e irradiado a 3,0 kGy.

Bactérias Lácticas

Na Figura 1 (C), observa-se que as bactérias lácticas foram os microrganismos que mais se desenvolveram nas amostras irradiadas, possuindo, assim, uma maior radioresistência quando comparada com os outros grupos de microrganismos estudados. Essa diferença é explicada pelo fato das bactérias Gram positivas serem mais resistentes à radiação (Jay, 2005). Nas amostras embaladas a vácuo e irradiadas nas duas doses, e na embalada em ar

irradiada a 3,0 kGy, as bactérias lácticas predominaram. Este achado é corroborado com aqueles dos autores Miyagusku et al. (2003) em que em estudo utilizando carne de frango, os grupos mais resistentes à irradiação foram os das bactérias lácticas. Entretanto, Balamatsia et al. (2006), ao avaliarem o efeito da radiação gama (0,5 kGy, 1,0 kGy e 2,0 kGy) na validade comercial de filé de peito de frango sem pele, armazenado aerobicamente a 4°C, observaram que a irradiação reduziu a população bacteriana de bactérias ácido lácticas, sendo o efeito mais pronunciado na maior dose. Chouliara et al. (2008) reportaram que a radiação foi eficiente na redução de bactérias lácticas ao observarem que as populações nas amostras de peito de frango embaladas em aerobiose alcançou 7 log UFC/g no 9º dia de estocagem a 4°C, sendo que a irradiação das amostras a 2 e a 4 kGy resultou na redução de 2 e 4,6 log UFC/g respectivamente.

Quando as amostras não foram irradiadas, este grupo bacteriano foi o que menos se desenvolveu, tanto em 100% ar como em vácuo. Nas amostras embaladas em aerobiose e irradiadas a 2,0 kGy não houve predominância das bactérias lácticas, sendo este dado acompanhado do alto pH destas amostras no final do experimento (Figura 2).

As bactérias lácticas, mesmo apresentando maior fase lag no V3, conseguiram se desenvolver nessa amostra, demonstrando que houve dificuldade de adaptação inicial destas bactérias, as quais, entretanto, alcançaram contagens finais consideráveis no final do armazenamento. Em amostras peito de frango não irradiadas armazenadas aerobicamente a 4°C, constataram-se resultados semelhantes, visto que o *Lactobacillus* spp. apresentou maior desenvolvimento nas amostras embaladas a vácuo somente no 7º dia de armazenamento (Jiménez et al. 1997).

Em contra partida, Patterson (1988) relatou que o valor da D_{10} para *Lactobacillus* spp. em carne de frango moída embalada em ar foi de 0,593 kGy em meio seletivo, pois esta dose pequena eliminou o gênero bacteriano nas amostras. Isto pode ser devido à menor população inicial deste microrganismo.

Microrganismos crescidos em ágar VRBG

As bactérias pertencentes à família *Enterobacteriaceae* não apresentaram desenvolvimento detectável nas amostras irradiadas a 3,0 kGy. Balamatsia et al. (2006), também demonstraram que as bactérias desta família foram muito sensíveis à radiação gama sendo completamente eliminadas em todas as doses aplicadas (0,5, 1,0 e 2,0 kGy).

Resultados semelhantes foram encontrados por Miyagusku et al. (2003), em amostras de frango irradiadas com 1,5 e 3,0 kGy, em que observaram contagens de enterobactérias

somente no 12^o dia. Também, Badr (2004) ao analisar amostras de carne de coelho armazenadas aerobicamente a 4°C verificou que a dose de 1,5 kGy resultou na redução de enterobactérias em torno de 2 log UFC/g e que a dose de 3,0 kGy foi suficiente para eliminar os microrganismos durante 21 dias de estocagem.

Nesta pesquisa, as enterobactérias apresentaram maior fase lag nas amostras irradiadas a 2,0 kGy (A2>V2), desenvolvendo-se melhor em aerobiose (A) onde atingiram maior população final. Porém, na pesquisa de Jiménez et. al. (1997), as amostras de peito de frango embaladas a vácuo alcançaram maiores populações de *Enterobacteriaceae* do que aquelas embaladas em aerobiose. Estes autores observaram um aumento rápido do desenvolvimento de bactérias viáveis nas amostras embaladas em aerobiose quando comparadas com as embaladas a vácuo, o que pode ter dificultado o desenvolvimento das enterobactérias devido à microbiota acompanhante.

Evolução do pH

As amostras analisadas apresentaram pH no valor inicial de 5,6. Neste trabalho não foram observadas variações de pH no princípio do experimento. Nas amostras do controle ar e vácuo, somente houve mudança considerável no pH a partir do dia 12 de estocagem. Nas amostras embaladas em aerobiose e irradiadas nas duas doses, houve um aumento do pH a partir do 3^o dia de estocagem e nas embaladas a vácuo e irradiadas, este aumento foi detectado a partir do 9^o dia de armazenamento.

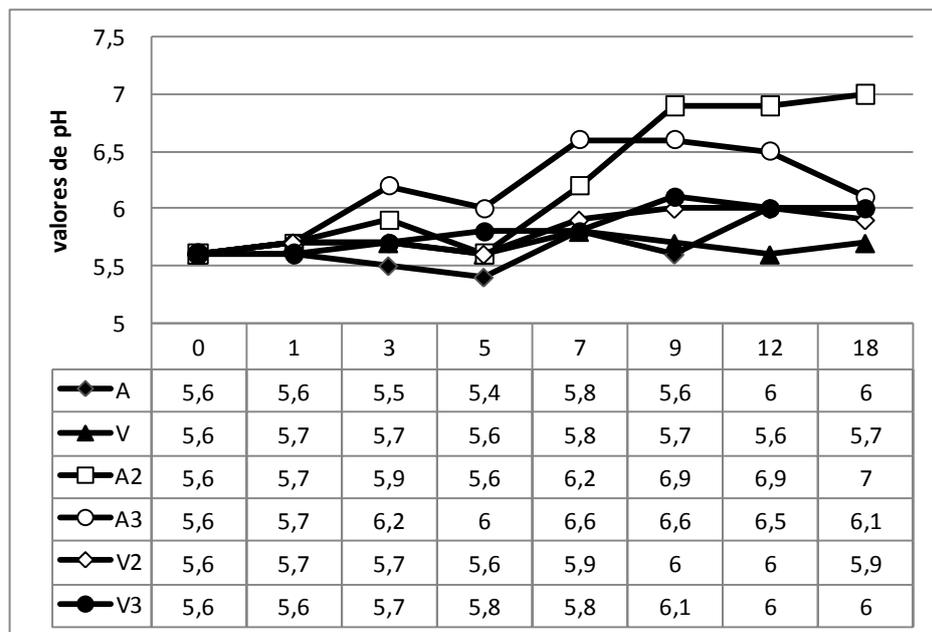


Figura 2- Variação do pH de acordo com os tratamentos e dias de estocagem; ◆—A grupo embalado em ar; ▲—V grupo embalado a vácuo; □—V2 grupo embalado a vácuo e

irradiado a 2,0 kGy;  V3 grupo embalado a vácuo e irradiado a 3,0 kGy;  A2 grupo embalado em ar e irradiado a 2,0 kGy ;  A3 grupo embalado em ar e irradiado a 3,0 kGy.

Conforme os dados apresentados na Figura 2, a amostra que apresentou maior pH no final do experimento foi a embalada em ar e irradiada a 2,0 kGy, seguida pela embalada em ar e irradiada a 3,0 kGy, sendo que a embalada a vácuo e não irradiada foi a que apresentou o pH mais baixo no final de 18 dias de estocagem. Os resultados encontrados no presente trabalho permitiram concluir que, quando o alimento foi mantido em aerobiose, o pH sempre foi maior do que em vácuo. Este aumento se deve, possivelmente, à formação de metabólitos alcalinos oriundos do desenvolvimento de microrganismos neste alimento.

Nesta pesquisa, o valor do pH das amostras embaladas em aerobiose e não irradiadas variou de 5,4 a 6,0 e das embaladas em aerobiose e irradiadas variou de 5,6 a 7,0, corroborando com os dados obtidos por Pinto et al. (2005) que ao analisarem o pH do peito de frango, observaram que as amostras embaladas em aerobiose e não irradiadas tiveram variação de pH entre 5,9 a 6,5 e as amostras irradiadas obtiveram resultados semelhantes, com variação entre 5,9 e 6,8, constatando, também, que a irradiação não proporcionou alterações consideráveis nos valores de pH em relação às amostras controle.

CONCLUSÕES

1- As doses de 2,0 kGy e 3,0 kGy aumentaram a validade comercial da carne de frango embalada em ar para 9,0 e 10,5 dias, respectivamente, quando comparadas com as amostras embaladas em aerobiose, as quais apresentaram-se impróprias para o consumo no 5º dia de estocagem, a $1^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

2- A embalagem a vácuo aumentou o prazo comercial dos filés para sete dias e as embaladas a vácuo irradiadas a 2,0 kGy e 3,0 kGy estenderam esse período para 9,0 e 12,0 dias, respectivamente.

3- As bactérias lácticas apresentaram maior radiorresistência, quando comparadas aos outros grupos bacterianos analisados, e as enterobactérias foram mais sensíveis ao tratamento com radiação ionizante.

4- A irradiação não proporcionou alterações consideráveis nos valores de pH das amostras. Este método de conservação de alimentos pode ser utilizado para melhorar a

segurança de filés de peito de frango resfriados e para estender seu prazo de validade comercial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BALAMATSIA, C. C.; ROGGA, K.; BADEKA, A.; KONTOMINAS, M. G.; SAVVAIDIS, I. N. Effect of Low-Dose Radiation on Microbiological, Chemical, and Sensory Characteristics of Chicken Meat Stored Aerobically at 4°C. *Journal of Food Protection*. v. 69, n. 5, p. 1126–1133, 2006.
- BADR, H. M. Use of irradiation to control foodborne pathogens and extend the refrigerated market life of rabbit meat. *Meat Science*. v. 67, n. 4, p. 541-548, 2004.
- BARANYI, J. e ROBERTS, T.A. A dynamic to predicting bacterial growth in food. *International Journal of Food Microbiology*. V. 23, p. 277-294, 1994.
- BOURGEOIS, C. M. *Microbiologia alimentaria: Aspectos microbiológicos de la seguridad y calidad alimentaria*. v. I, Zaragoza: Acribia, 1994. 460p.
- CHOULIARA, E.; BADEKA, A.; SAVVAIDIS, L.; KONTOMINAS, M. G. Combined effect of irradiation and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of chicken breast meat: microbiological, chemical and sensory changes. *Journal European Food Research and Technology*, v. 226, n. 4, p. 877-888, 2008.
- GIBSON, A.M.; BRATCHELL, N.; ROBERTS, T.A. The effect of sodium chloride and temperature on the rate and extent of growth of *Clostridium botulinum* type A in pasteurized pork slurry. *Journal of Applied Bacteriology*, v.62, p.479-490, 1987.
- GRANDISON, A.; JENNINGS, A. Extension of the shelf life of fresh minced chicken meat by electron beam irradiation combined with modified atmosphere packaging. *Food Control*, v. 4, n. 2, p. 83-88, 1993.
- HEATH, J.L.; OWEN, A. L.; TESCH, S. Effect of high-energy electron irradiation of chicken meat on Salmonella and aerobic plate count. *Poultry Science*, n. 69, p. 150-156, 1990
- HERNANDES, N. K.; VITAL, H. C.; SABAA SRUR, A. U. O. Irradiação de alimentos: vantagens e limitações. *Boletim SBCTA*, v. 37, n. 2, p. 154-159, 2003.
- JAY, J. M. *Microbiologia de alimentos*. 6 ed. 711 p. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- LEE, M.; SEBRANEK, J. G.; OLSON, D. G.; DICKSON, J. S. Irradiation and Packaging of Fresh Meat and Poultry. *Journal of Food Protection*, v. 59, n. 1, p. 62-72, 1996.
- MIYAGUSKU, L. et. al. Avaliação microbiológica e sensorial da vida útil de cortes de peito de frango irradiados. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.23, p.7-16, 2003.

PATTERSON, M Sensitivity of bacteria to irradiation on poultry meat under various atmospheres. *Letters in Applied Microbiology*, v. 7, p. 55-58, 1988.

PELCZAR JR.; MICHAEL J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, NOEL R.; EDWARDS, DIANE D.; PELCZAR; MERNA F. *Microbiologia: conceitos e aplicações*. 2.ed.. São Paulo: Makron Books do Brasil, v.2, 1997.

PINTO, D. C. C.; MANO, S. B.; VITAL, H. C.; OLIVEIRA, L. A. T.; TELLO, M.V. P.; POMBO, C. R. Avaliação da irradiação gama em peitos de frangos refrigerados monitorados pela contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas viáveis e pH. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 12, n. 1/3, p. 37-41, jan./dez. 2005

THAYER, D.W. Use of irradiation to kill enteric pathogens on meat and poultry. *Journal of Food Safety*, v.15, p.181-192, 1995.

3.2 EFEITO COMBINADO DA EMBALAGEM EM ATMOSFERA MODIFICADA E RADIAÇÃO GAMA NA MICROBIOLOGIA E NA ACEITAÇÃO SENSORIAL DE FILÉS DE PEITO DE FRANGO RESFRIADOS.

Efeito combinado da embalagem em atmosfera modificada e radiação gama na microbiologia e na aceitação sensorial de filés de peito de frango resfriados

Samira Pirola Santos Mantilla^{1*}

Érica Barbosa Santos¹

Helio de Carvalho Vital²

Sérgio Borges Mano¹

Mônica Queiroz de Freitas¹

Robson Maia Franco¹

¹Departamento de Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Veterinária
Universidade Federal Fluminense, CEP 24230-340, Niterói – RJ, Brasil

²Centro Tecnológico do Exército, Divisão DDQBN, Rio de Janeiro – RJ, Brasil

*Autor para correspondência

samiramantilla@yahoo.com.br

Submetido em 26/08/2009

Publicado na Revista Biotemas em junho/2010

Resumo

Objetivou-se no presente estudo verificar o efeito combinado da embalagem em atmosfera modificada e irradiação no aumento da validade comercial e na aceitação sensorial de filés de peito de frango resfriados. A combinação da mistura 80%CO₂/20%N₂ e irradiação a 3,0 kGy aumentou o prazo comercial de 5 para 16 dias. As bactérias ácido lácticas e *Aeromonas* spp. foram as mais resistentes à radiação e à alta concentração de CO₂ enquanto as enterobactérias, os coliformes e *Listeria* spp. foram mais sensíveis. A tecnologia combinada proporciona filés de peito de frango com maior prazo de validade comercial e seguros ao consumidor, sem alterar o sabor e odor desse alimento, podendo ser sugerida como alternativa na indústria alimentícia.

Unitermos: aceitação sensorial, atmosfera modificada, radiação gama, validade comercial

Abstract

Combined effect of modified atmosphere packaging and gamma radiation in microbiology and sensory acceptance of refrigerated chicken breast fillets. The aim of this study was to investigate the combined effect of modified atmosphere packaging and irradiation in increasing the shelf-life and sensory acceptance of refrigerated chicken breast fillets. The combination of the mixture 80% CO₂/20% N₂ and the irradiation (3,0 kGy) increased the shelf-life from 5 to 16 days. The lactic acid bacteria and *Aeromonas* spp. were the most resistant to radiation and high concentration of CO₂ as the enterobacteria, coliforms and *Listeria* spp. show sensitivity. The combined technology provides chicken breast fillets with longer shelf-life and insurance to the consumer, without changing the flavor and aroma of food, may be suggested as an alternative in the food industry.

Key words: gamma radiation, modified atmosphere, sensory acceptance, shelf-life

Título abreviado: Atmosfera modificada e irradiação na redução da microbiota de carne de frango

Introdução

Aproximadamente um terço da produção mundial de alimentos deteriora-se antes mesmo de chegar à mesa do consumidor. Além disso, o processo de globalização tem favorecido a propagação de enfermidades transmitidas por alimentos. Logo, tratamentos capazes de estender a validade comercial e garantir a inocuidade de produtos alimentícios podem constituir valiosos recursos, auxiliando a minimizar tais problemas (Vital e Freire-Junior, 2008).

O efeito combinado da irradiação com outras formas de conservação pode ser utilizado para impedir o desenvolvimento de células mais resistentes. Uma tecnologia emergente é a combinação com embalagens em atmosfera modificada, sendo que o processo de irradiação é um tratamento bactericida enquanto o sistema de embalagem representa um tratamento bacteriostático (Worcmann-Barnika e Landgraf, 2006).

A utilização dos métodos combinados pode culminar com a redução da dose necessária para assegurar a estabilidade microbiológica do produto durante a distribuição, comercialização e consumo, sem prejuízo de aspectos nutricionais e/ou sensoriais (Sant'Ana e Araújo, 2007).

Sommers e Fan (2006) relataram que embora a irradiação seja muito eficiente no controle de patógenos de origem alimentar, a adoção da tecnologia de irradiação na indústria de carnes é limitada devido aos conceitos de qualidade e saúde sobre os produtos irradiados.

Alguns pesquisadores têm enfatizado o uso combinado da embalagem com a irradiação em carne de frango como Chouliara et al. (2008) e Miyagusku (2008). Os efeitos da irradiação conjuntamente com a Embalagem em Atmosfera Modificada (EAM) variam de acordo com o tipo de carne analisada e com a composição da atmosfera na embalagem. A irradiação pode resultar em odor de queimado ou descoloração da carne fresca nas embalagens que contêm ar (oxigênio). Consequentemente, considerando a qualidade sensorial e os interesses para a segurança do alimento, os efeitos da irradiação em combinação com o vácuo ou com a EAM da carne bovina e de aves devem ser mais estudados (Lee et al., 1996).

No presente estudo objetivou-se analisar o efeito combinado da embalagem em atmosfera modificada e da radiação gama na aceitação sensorial e no aumento do prazo comercial, acompanhando a microbiota deteriorante e patogênica naturalmente presente em filés de peito de frango resfriados.

Material e Métodos

O experimento foi realizado em duas etapas. Ao total, foram obtidos 4,0 kg de filé de peito de frango resfriado em comércio varejista no município de Niterói, RJ, sendo transportado em caixa de polímero expandido com gelo para o Laboratório de Controle Microbiológico de Produtos de Origem Animal do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal Fluminense, onde foram realizadas as seguintes análises bacteriológicas, considerando-se o dia zero: Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (CBHAM), Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Psicrotólicas (CBHAP), contagem de bactérias pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, contagem de bactérias ácido lácticas, contagem de bactérias dos gêneros *Listeria*, *Aeromonas*, e enumeração de coliformes totais e termotolerantes.

As amostras (18g) foram diluídas em 162 mL de solução salina peptonada 0,1%, homogeneizadas em “stomacher” em velocidade normal por dois minutos e diluídas até 10^{-5} sendo, posteriormente, semeadas em meios específicos para cada microrganismo analisado, através da técnica de semeadura em profundidade. Foram utilizados os seguintes meios de cultura de acordo com as especificações recomendadas pelos fabricantes: meio Agar Padrão para Contagem (APC) para CBHAM e CBHAP (Merck), Agar “Violet Red Bile Glucose” (VRBG) para enterobactérias (Himedia), Agar “Man Rogosa and Sharpe” (MRS) com

sobrecamada para bactérias ácido lácticas (Himedia), “Oxford *Listeria* Base” (Himedia) adicionado com “*Listeria* Selective Supplement (Oxford Formulation)” (SR0140) para *Listeria* spp. (Oxoid) e Agar “Starch-ampicillin” (SA) adicionado com 1% de ampicilina (Himedia) para *Aeromonas* spp. A contagem foi realizada com auxílio de contador de colônias tipo Quebec, observando-se colônias típicas.

Para a enumeração de coliformes totais e termotolerantes foi utilizado o Caldo “Fluorocult” com metodologia miniaturizada segundo Merck (2000), modificada por Franco e Mantilla (2004), onde foram usados pipetadores acoplados com ponteiras esterilizadas para preparo e inoculações de 0,1 mL (100 µL) das diferentes diluições em 1 mL (1000 µL) dos meio caldo seletivo em “ependorf”.

Na primeira etapa do experimento, a amostra (2,0 kg) foi dividida assepticamente em 24 amostras de 18,0 g e acondicionadas em embalagens plásticas de nylon-poli da marca Gabrilina com sete camadas e taxa de permeabilidade ao oxigênio (TPO₂) de 60cm³/m².dia (a 23°C e 1 atm). Foram formados dois grupos: 1) grupo controle, onde as embalagens foram preenchidas com ar atmosférico (Ar/0,0 kGy); 2) grupo embalado em ar e irradiado a 3,0 kGy (Ar/3,0 kGy); sendo, então, termo-soldadas e estocadas sob refrigeração a 1 ± 1°C durante todo o experimento. As análises bacteriológicas foram realizadas nos dias 1, 3, 5, 7, 9, 12 e 18 de estocagem. Após a semeadura, as placas foram incubadas em estufa a 35-37°C por 24 a 48h com exceção das placas contendo o meio para contagem de bactérias psicrótróficas as quais foram incubadas sob refrigeração a 4°C ± 1°C por 7 dias. Os “ependorf” contendo o Caldo “Fluorocult” com os inóculos foram incubados a 35-37°C por 24h.

Na segunda etapa da pesquisa, a amostra (2,0 kg) foi dividida assepticamente em 24 amostras de 18,0 g e acondicionadas em embalagens plásticas, formando outros dois grupos: 3) grupo embalado em atmosfera modificada 80%CO₂/20%N₂ (ATM/0,0 kGy); 4) grupo embalado em atmosfera modificada 80%CO₂/20%N₂ e irradiado a 3,0 kGy (ATM/3,0 kGy); sendo, então, termo-soldadas, estocadas e analisadas conforme citado anteriormente.

Como a contagem inicial foi diferente nas duas etapas do experimento, procedeu-se um cálculo para obter a mesma contagem inicial para todos os grupos objetivando-se comparar o crescimento bacteriano dos grupos entre si. Para isto, dividiu-se a contagem bacteriana inicial de cada tratamento pelo próprio valor obtendo-se o valor 1. As contagens subsequentes também foram divididas pela contagem inicial. O resultado foi transformado em log UFC/g, sendo que, sempre a contagem inicial de todos os tratamentos foi 0, pois o log de 1 é zero.

Em relação à análise estatística dos resultados, foi utilizado um programa computacional (DMfit) baseado em microbiologia preditiva e idealizado pelo Dr. József Baranyi do “Institute of Food Research, Reading Laboratory, UK” (Baranyi e Roberts, 1994), capaz de estimar os parâmetros bacteriológicos de crescimento dos microrganismos estudados mediante a equação modificada de Gompertz (Gibson et al., 1987).

A análise sensorial foi realizada após o processo de radiação e consistiu em testes de aceitação, onde foram observadas as variáveis sabor e odor das amostras cozidas pelos diferentes tratamentos citados, as quais foram oferecidas de forma monódica e em ordem aleatorizada a 33 julgadores não treinados. Os filés de peito de frango foram adicionados de salmoura a 1% e cozidos em forno elétrico por aproximadamente uma hora e trinta minutos. As fichas utilizadas para a análise foram as sugeridas por Stone e Sidel (1998), onde se utilizou uma escala hedônica variando de 1- gostei extremamente até 9- desgostei extremamente. Para a análise estatística dos resultados utilizou-se o programa SAS para calcular a ANOVA com delineamento inteiramente casualizado ao nível de 5% de significância e o teste de Tukey.

Resultados e Discussão

A combinação da EAM com o processo de irradiação aumentou consideravelmente o prazo de validade comercial das amostras de filés de frango resfriado de 5,0 (controle ar) para 16 dias (ATM/3,0 kGy). Esse resultado pode ser observado na Tabela 1. Grandison et al. (1993) também verificaram que a EAM (20% CO₂/80% O₂ e 20% CO₂/10% O₂/70% N₂) de carne de frango moída potencializou o efeito letal da irradiação nos microrganismos proporcionando em aumento do prazo de validade quando comparado ao uso individual de cada tratamento. Do mesmo modo, Chouliara et al. (2008) verificaram que o efeito na redução dos microrganismos e na extensão da validade comercial de peito de frango resfriado foi mais pronunciado no caso da combinação da EAM com a irradiação (70% CO₂/30% N₂ e 4kGy).

Quando comparados isoladamente, observou-se que a radiação gama a 3,0 kGy foi mais eficaz que a EAM no aumento da validade desse alimento visto que o prazo comercial destes alimento foi de 10,5 dias e 7,0 dias respectivamente. Chouliara et al. (2008) ao analisarem carne de frango embalada em duas misturas gasosas (30% CO₂/70% N₂ e 70% CO₂/30% N₂) e irradiada (2,0 e 4,0 kGy) também verificaram que a irradiação teve um maior efeito na extensão da validade comercial em comparação com a EAM.

As curvas de crescimento das bactérias analisadas nesse experimento podem ser visualizadas na Figura 1. As bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas apresentaram a maior

fase lag no tratamento ATM/3,0 kGy evidenciando a dificuldade de adaptação após os tratamentos de conservação. Assim, a contagem final de bactérias mesófilas foi pequena (1,81 log UFC/g).

TABELA 1: Prazo de validade comercial e parâmetros de crescimento da microbiota de filés de peito de frango embalados em ar e em atmosfera modificada 80%CO₂/20%N₂, irradiados a 3,0 kGy ou não irradiados, mantidos a 1 ± 1°C durante 18 dias. g – tempo de geração; Lag- fase de adaptação; CF – contagem final; nd- contagem não detectada; Me- mesófilos; Psi- psicrotróficos; Ent – *Enterobacteriaceae*; CT – coliformes totais; CTer – coliformes termotolerantes; La – bactérias lácticas; Lis- *Listeria* spp.; Aero- *Aeromonas* spp.

| Tratamentos Embalagem e dose | Prazo comercial (dias) Baseado no limite: 10 ⁷ UFC/g | Parâmetros de crescimento | | | | | | | | |
|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|---------------------------|------|-----|-----|------|-----|-----|------|-----|
| | | Me | Psi. | Ent | CT | CTer | La | Lis | Aero | |
| Ar / 0,0 kGy | 5 | g (dias) | 0,6 | 0,5 | 1,5 | 0,4 | 1,1 | 1,6 | 0,5 | - |
| | | Lag (dias) | 1,9 | 2,2 | 1,2 | 2,4 | 8,9 | - | 1,4 | - |
| | | CF (log UFC/g) | 4 | 3,9 | 3,0 | 1,1 | 1,7 | 2,1 | 5 | nd |
| ATM 80CO ₂ /20 N ₂ 0,0 kGy | 7 | g (dias) | 0,5 | 1,5 | 1,4 | 0,4 | - | 0,5 | - | - |
| | | Lag (dias) | 4,8 | 4,2 | 4,7 | 5,3 | - | 6,3 | - | - |
| | | CF (log UFC/g) | 2,3 | 2,6 | 0,8 | 0,9 | nd | 1,4 | nd | nd |
| Ar / 3,0 kGy | 10,5 | g (dias) | 0,4 | 0,2 | - | - | - | 0,7 | - | 0,3 |
| | | Lag (dias) | 5,8 | 9,7 | - | - | - | 4,3 | - | 7,7 |
| | | CF (log UFC/g) | 1,7 | 2,8 | nd | nd | nd | 4,2 | nd | 3,3 |
| ATM 80CO ₂ /20 N ₂ 3,0 kGy | 16 | g (dias) | 0,5 | 1 | - | - | - | 1 | - | 1 |
| | | Lag (dias) | 5,9 | 5,9 | - | - | - | 7,4 | - | 5 |
| | | CF (log UFC/g) | 1,81 | 1,5 | nd | nd | nd | 2,8 | nd | 2,4 |

Apesar das bactérias psicrotróficas apresentarem maior fase de adaptação no tratamento Ar/3,0 kGy do que no ATM/3,0 kGy, o uso da EAM em conjunto com a radiação gama foi mais eficiente na manutenção da baixa contagem desse grupo bacteriano visto que a contagem final para o tratamento ATM/3,0 kGy foi menor.

As bactérias da família *Enterobacteriaceae* não cresceram nas amostras tratadas com radiação gama. Este resultado era esperado pois esses microrganismos são muito sensíveis ao processo de radiação conforme citado pelos autores Miyagusku et al. (2003) e Balamatsia et al. (2006) que, ao analisarem carne de peito de frango irradiada, verificaram que as enterobactérias apresentaram sensibilidade a radiação nas doses de 0,5 a 3,0 kGy.

As enterobactérias apresentaram maior fase lag na ATM/0,0 kGy em comparação à embalagem em ar atmosférico e a EAM reduziu consideravelmente a contagem desse grupo em filés de frango resfriados. Gill et al. (1990) relataram que o crescimento de enterobactérias foi inibido em carcaças de frango embaladas sob CO₂, e a microbiota que prevaleceu foi de lactobacilos. Sawaya et al. (1995) analisaram carcaças de frango embaladas em atmosfera modificada e verificaram que em embalagens com altas concentrações de CO₂ (70% CO₂/30% N₂) o efeito sobre as enterobactérias foi mais pronunciado. A sensibilidade das enterobactérias ao CO₂ também foi descrito por Miyagasku (2008).

Os coliformes termotolerantes somente cresceram nas embalagens em ar não irradiadas. Os coliformes totais somente se desenvolveram nas amostras embaladas em aerobiose e em atmosfera modificada e não irradiadas, sendo que apresentaram maior fase lag na amostras EAM demonstrando uma sensibilidade ao gás carbônico. Outros autores também evidenciaram a sensibilidade do grupo coliformes à irradiação em carne de aves (Lewis et al., 2002; Leonel, 2008) e às altas concentrações de CO₂ (Saucier et al., 2000).

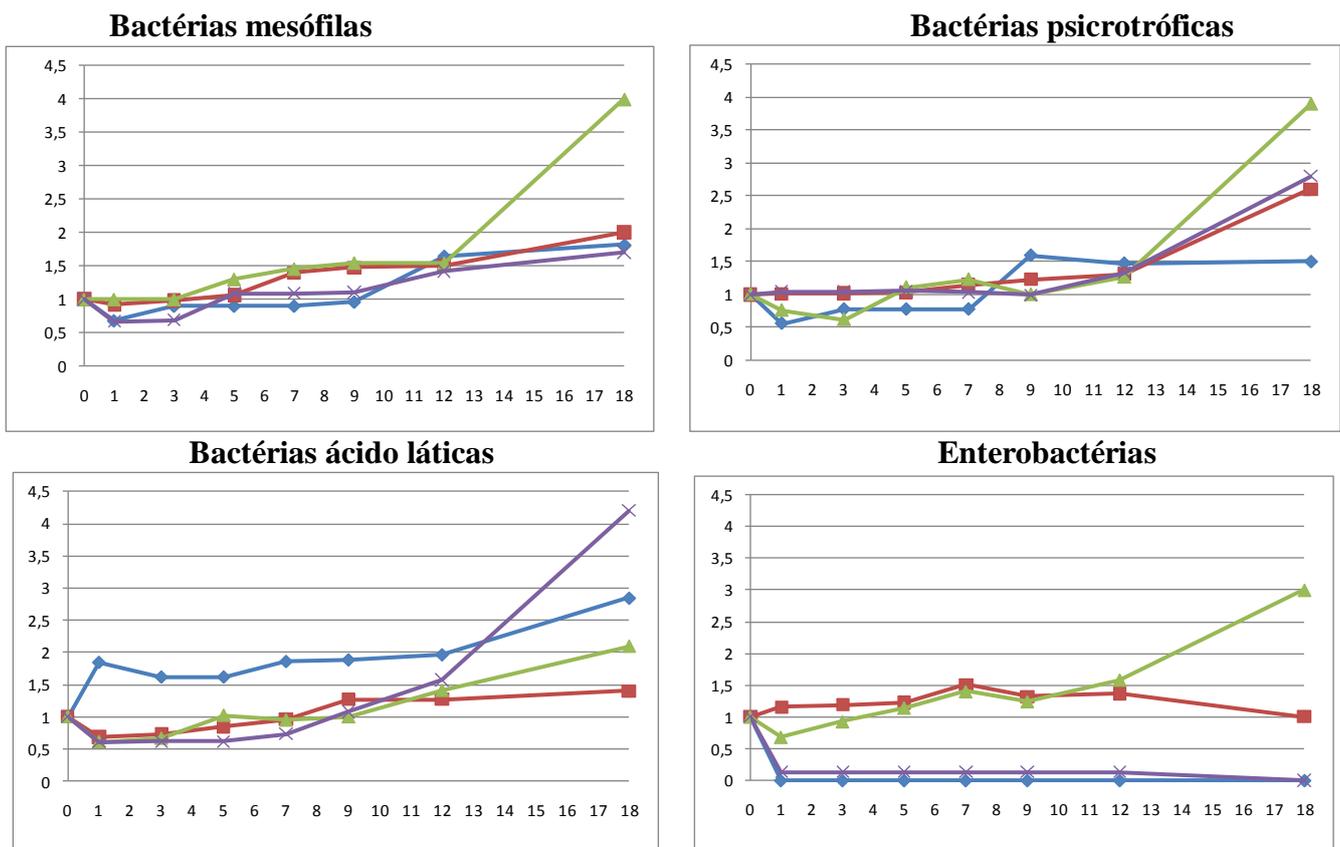


FIGURA 1: Desenvolvimento das bactérias em todos os tratamentos durante os 18 dias de estocagem a $1 \pm 1^\circ\text{C}$. (Log UFC/g x Dias de estocagem)

—●— ATM/3kGy ; —■— ATM/0kGy ; —▲— Air/0kGy ; —×— Air/3kGy

As bactérias ácido lácticas apresentaram maior fase lag no tratamento ATM/3,0 kGy seguido pelo ATM/0,0 kGy e depois pelo Ar/3,0 kGy. Se adaptaram mais rapidamente nas amostras irradiadas devido à sua radioresistência, porém, quando combinou-se com a EAM, os lactobacilos demonstraram maior dificuldade de reprodução. Dhananjayan et al. (2006) também observaram que uma alta concentração de CO₂ (97%) desacelerou o crescimento de bactérias lácticas em patê de peito de peru. A maior eficiência do efeito combinado desses dois processos tecnológicos também foi vista por Miyagusku (2008) em coxa e peito de frango. Observa-se, na Figura 1, que as bactérias lácticas predominaram no tratamento Ar 3,0 kGy, apresentando maior contagem final. Esse fato pode ser explicado pela sua resistência à radiação gama também relatada por Balamatsia et al. (2006) e Chouliara et al. (2008) o que favoreceu o seu desenvolvimento nas amostras irradiadas em detrimento da diminuição da microbiota acompanhante.

As bactérias do gênero *Listeria* somente foram capazes de crescer nas amostras embaladas em aerobiose e não irradiadas. A EAM foi eficaz na diminuição desse gênero assim como também foi evidenciado por Mano et al. (1995) que ao inocularem *L.monocytogenes* em carne de peru e suína e verificaram uma inibição dessa espécie quando as amostras foram embaladas em atmosfera modificada (20/80 e 40/60 CO₂/O₂). A sensibilidade dessa espécie também foi descrita por Zhu et al. (2008) que ao analisarem amostras de peito de peru irradiadas, (1,0 e 2,5kGy) observaram uma diminuição no número de *L. monocytogenes* naturalmente presente nas amostras.

As *Aeromonas* spp. somente se desenvolveram nas amostras Ar/3,0 kGy, e ATM/3,0 kGy, sendo que a EAM potencializou o processo de irradiação na diminuição desse gênero. Este fato pode ter ocorrido pela diminuição da microbiota acompanhante nesses dois tratamentos, o que favoreceu a sua multiplicação. Ozbas et al. (1997) ao inocularem *Aeromonas hydrophila* em peito de frango e em diferentes atmosferas modificadas (100% CO₂; 80% CO₂/20% N₂) a vácuo e em ar verificaram que apesar da EAM retardar o crescimento desse microrganismo, o mesmo também foi capaz de crescer na EAM.

Os resultados da análise sensorial encontram-se nas Tabelas 2 e 3, onde observa-se que todos os tratamentos foram aceitos pelos provadores e não houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos em relação aos dois quesitos analisados (sabor e odor). Abu-Tarboush et al. (1997), Lewis et al. (2002) e Kanatt et al. (2005) também não evidenciaram alterações no sabor, odor aparência e textura de carne de ave irradiadas nas doses variando de 1,0 a 10,0 kGy. Miyagusku (2008) verificou que o

incremento nas doses de irradiação acima de 3,0 kGy, independente do tipo de sistema de embalagem utilizado (ar, vácuo ou EAM), promoveu alteração crescente do odor de queimado no produto revelando assim este valor como limite recomendável para a garantia de uma maior validade comercial sem alteração sensorial perceptível. Entretanto, Toledo et al. (2005) observaram que a irradiação de carne de peito frango nas doses de 2,0, 4,0, 6,0 e 8,0 kGy ocasionou alterações sensoriais tornando-a menos fresca e menos típica.

TABELA 2: Aceitação sensorial em relação ao sabor.

| Tratamentos | Média |
|--------------------|-------------------|
| Atm/3,0 kGy | 3,77 ^a |
| Ar/3,0 kGy | 3,53 ^a |
| Ar/0,0 kGy | 3,53 ^a |
| Atm/0,0 kGy | 2,73 ^a |

*Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si.

TABELA 3: Aceitação sensorial em relação ao odor.

| Tratamentos | Média |
|--------------------|-------------------|
| Ar/3,0 kGy | 4,27 ^a |
| Atm/3,0 kGy | 3,6 ^a |
| Ar/0,0 kGy | 3,37 ^a |
| Atm/0,0 kGy | 3,0 ^a |

*Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si.

De acordo com os resultados encontrados nesta pesquisa, pode-se concluir que:

1. O uso da EAM (80%CO₂/20%N₂) potencializou o processo de irradiação a 3,0 kGy aumentando o prazo de validade comercial das amostras de filés de frango resfriadas de 5,0 (controle ar) para 16,0 dias;
2. Quando comparados isoladamente, observou-se que a radiação gama foi mais eficaz que a EAM no aumento da validade e na diminuição da microbiota;
3. Os coliformes, as enterobactérias e *Listeria* spp. foram mais sensíveis aos tratamentos enquanto que as bactérias ácido lácticas e *Aeromonas* spp. demonstraram maior resistência.
4. A utilização da atmosfera modificada e da radiação gama (3,0 kGy) não alteraram a aceitação sensorial em relação ao sabor e odor dos filés de peito de frango analisados.
5. A tecnologia combinada pode ser usada para aumentar o prazo comercial de filés de frango resfriados com diminuição da microbiota deteriorante e patogênica, sem alteração do sabor e odor desse alimento.

Referências

- Abu-Tarboush, H. M.; Al-Kahtani, H. A.; Atia, M.; Abou-Arab, A. A.; Bajaber, A. S.; El-Mojaddidi, M. A. 1997. Sensory and microbial quality of chicken as affected by irradiation and postirradiation storage at 4°C. **Journal of Food Protection**, **60**: 761-770.
- Balamatsia, C. C.; Rogga, K.; Badeka, A.; Kontominas, M. G.; Savvaidis, I. N. 2006. Effect of low-dose radiation on microbiological, chemical, and sensory characteristics of chicken meat stored aerobically at 4°C. **Journal of Food Protection**, **69** (5): 1126-1133.
- Baranyi, J.; Roberts, T. A. 1994. A dynamic to predicting bacterial growth in food. **International Journal of Food Microbiology**, **23**: 277-294.
- Chouliara, E.; Badeka, A.; Savvaidis, L.; Kontominas, M. G. 2008. Combined effect of irradiation and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of chicken breast meat: microbiological, chemical and sensory changes. **Journal European Food Research and Technology**, **226** (4): 877-888.
- Dhananjayan, R.; Han, I. Y.; Acton, J. C.; Dawson, P. L. 2006. Growth depth effects of bacteria in ground turkey meat patties subjected to high carbon dioxide or high oxygen atmospheres. **Poultry Science**, **8**: 1821-1828.
- Franco, R. M.; Mantilla, S. P. M. 2004. *Escherichia coli* em corte de carne bovina: Avaliação da metodologia aplicada e sensibilidade antimicrobiana dos sorovares predominantes. **Anais do 14º Seminário de Iniciação Científica e Prêmio UFF Vasconcellos Torres de Ciência e Tecnologia**, Niterói, Brasil, p.8-12.
- Gibson, A. M.; Bratchell, N.; Roberts, T. A. 1987. The effect of sodium chloride and temperature on the rate and extent of growth of *Clostridium botulinum* type A in pasteurized pork slurry. **Journal of Applied Bacteriology**, **62**: 479-490.
- Gill, C. O.; Harrison, J. C.; Penney, N. 1990. The storage life of chicken carcasses packaged under carbon dioxide. **International Journal of Food Microbiology**, **11** (2): 151-157.
- Grandison, A. S.; Jennings, A. 1993. Extension of the shelf life of fresh minced chicken meat by electron beam irradiation combined with modified atmosphere packaging. **Food Control**, **4** (2): 83-88.
- Kanatt, S. R.; Paul, P.; D' Souza, S. F; Thomas, P. 1997. Effect of gamma irradiation on the lipid peroxidation in chicken, lamb and buffalo meat during chilled storage. **Journal of Food Safety**, **17**: 283-294.
- Lee, M.; Sebranek, J. G.; Olson, D. G.; Dickson, J. S. 1996. Irradiation and packaging of fresh meat and poultry. **Journal of Food Protection**, **59** (1): 62-72.

- Leonel, F. R. 2008. **Irradiação e qualidade da carne de frango congelada e embalada a vácuo**. Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, Brasil, 74pp.
- Lewis, S. J.; Vela Squez, A.; Cuppett, S. L.; Mckee, S. R. 2002. Effect of electron beam irradiation on poultry meat safety and quality. **Poultry Science**, **81**: 896-903.
- Mano, S. B.; Garcia de Fernando, G. D.; López-Gálvez, D.; Selgas, M. D.; Garcia, M. L.; Cambero, M. I.; Ordóñez, J. A. 1995. Growth/survival of natural flora and *Listeria monocytogenes* on refrigerated uncooked pork and turkey packaged under modified atmospheres. **Journal of Food Safety**, **15**: 305-319.
- Merck. 2000. **Microbiology manual**. Merck, Berlin, Germany, 407pp.
- Miyagusku, L. 2008. **Influência da radiação ionizante (60Co) na manutenção da qualidade físico-química, microbiológica e sensorial de cortes de coxa e file de peito de frango acondicionado em deferentes sistemas de embalagens**. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Brasil, 207pp.
- Miyagusku, L.; Chen, F.; Leitão, M. F. F.; Baffa, O. 2003. Avaliação microbiológica e sensorial da vida útil de cortes de peito de frango irradiados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, **23**: 7-11.
- Ozbas, Z. Y.; Vural, H.; Aytac, S. A. 1997. Effect of modified atmosphere and vacuum packaging on the growth of spoilage and inoculated pathogenic bacteria on fresh poultry. **Fleischwirtschaft**, **77** (12): 1111-1116.
- Sant'Ana, A. S.; Araújo, I. O. 2007. Irradiação e a segurança e qualidade microbiológica dos alimentos. **Higiene Alimentar**, **21** (151): 37-51.
- Saucier, L.; Gendron, C.; Garipey, C. 2000. Shelf life of ground poultry meat stored under modified atmosphere. **Poultry Science**, **79** (12): 1851-1856.
- Sawaya, W. N.; Elnawawy, A. S.; Aburuwaida, A. S.; Khalafawi, S.; Dashti, B. 1995. Influence of modified atmosphere packaging on shelf-life of chicken carcasses under refrigerated storage-conditions. **Journal of Food Safety**, **15** (1): 35-51.
- Sommers, C. H.; Fan, X. 2006. **Food irradiation research and technology**. Blackwell Publishing and Institute of Food Technologists, Ames, USA, 317pp.
- Vital, H. C.; Freire-Junior, M. 2008. A irradiação de alimentos. In: Rosenthal, A. (Ed.). **Tecnologia de alimentos e inovação: Tendências e perspectivas**. 1ª ed. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, Brasil, p.149-164.

Worcman-Barnika, D.; Landgraf, M. 2006. Microbiologia de carne irradiada. In: Shimokomaki, M.; Olivo, R.; Terra, N. N. & Franco, B. D. G. M. (Eds). **Atualidades em ciência e tecnologia de carnes**. Editora Varela, São Paulo, Brasil, p.147-152.

Stone, H.; Sidel, J. L. 1998. Quantitative descriptive analysis: Developments, applications, and the future. **Food Technology**, **5** (8): 48-52.

Toledo, T. C. F.; Canniatti-Brazaca, S. G.; Spoto, M. H. F.; Arthur, V. 2005. Sensory evaluation of chicken breast under gamma irradiation at commercial doses. **Journal of Food Science**, **70** (1): 8-12.

Zhu, M. J.; Mendonca, A.; Ismail, H. A.; Ahn, D. U. 2008. Effects of irradiation on survival and growth of *Listeria monocytogenes* and natural microflora in vacuum-Packaged turkey hams and breast rolls. **Poultry Science**, **87**: 2140-2145.

3.3 REFRIGERATED POULTRY BREAST FILLETS PACKED IN MODIFIED ATMOSPHERE AND IRRADIATED: BACTERIOLOGICAL EVALUATION, SHELF LIFE AND SENSORY ACCEPTANCE.

REFRIGERATED POULTRY BREAST FILLETS PACKED IN MODIFIED ATMOSPHERE AND IRRADIATED: BACTERIOLOGICAL EVALUATION, SHELF LIFE AND SENSORY ACCEPTANCE.

Samira Pirola Santos Mantilla^{1,*}, Érica Barbosa Santos¹, Mônica Queiroz de Freitas¹, Helio de Carvalho Vital², Sérgio Borges Mano¹, Robson Maia Franco¹

¹ Departamento de Tecnologia dos Alimentos, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil; ² Centro Tecnológico do Exército, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

ABSTRACT

In the present study the combined effects of modified atmosphere packaging (80% CO₂/20% N₂) or vacuum packaging and gamma irradiation (2,0 kGy) on shelf life extension and sensory acceptance of poultry breast fillet stored at 1°C ± 1°C was investigated. The study was based on sensory acceptance and microbiological by monitoring bacterial growth parameters. It has been found that lactic acid bacteria were the most resistant to radiation and carbon dioxide. The irradiation used in combination with modified atmosphere packaging can double the shelf life of refrigerated poultry breast fillets by reducing the populations of aerobic mesophilic and psychrotrophic bacteria, enterobacteria, coliforms, *Listeria* spp. and *Aeromonas* spp., without modifying the color and overall impression of food.

Key words: Irradiation, poultry breast, modified atmosphere, sensory acceptance.

INTRODUCTION

As an important source of proteins, poultry meat has a high biological value and it has been frequently recommended for its nutritious low fat content. However, it is also a highly perishable product that has a relatively short shelf life even when it is kept in refrigeration. Thus, developing more appropriate technologies for conservation of poultry meat still remains a goal that the scientific community has been eagerly pursuing.

* **Corresponding author: Mailing Address:** Departamento de Tecnologia dos Alimentos. Universidade Federal Fluminense. Rua Vital Brazil, 64; CEP 24230-340 Niterói, RJ, Brazil. Tel: +55 21 26092769. E-mail: samiramantilla@yahoo.com.br

The modified atmosphere packaging (MAP) is a method that involves the removal of air inside a package and its replacement by a gas or gas mixture, depending on the type of product (23). Three gases are commonly used in food packaging: O₂, N₂ and CO₂. Each has an specific function: O₂ generally stimulates the growth of aerobic bacteria and inhibits the growth of anaerobic; CO₂ is an inhibitor of bacterial growth and fungus; whereas N₂ is used as a filling gas, replacing the O₂ as an alternative to vacuum packaging where the product is fragile, or to limit the collapse of the package caused by the absorption of CO₂ by the product (6, 7).

Researchers in food microbiology have demonstrated that MAP increases the shelf life of various foods, but alone it may not suffice to effectively eliminate the spoilage microorganisms and specially the pathogenic ones. However, the process of gamma irradiation combined with MAP can be used for this purpose, and according to the scientific results (5, 17) has been used in the production of safe food.

Irradiation can reduce the numbers of spoilage pathogenic microorganisms and injure survivors, while MAP suppresses the growth of survivors during storage. Irradiation in MAP could also act synergistically in the killing of bacteria. In addition, since many lactic acid bacteria are known to produce antimicrobial compounds that have inhibitory effect upon the pathogenic microorganisms, their growth in irradiated MAP and vacuum packs during storage could render an additional protection to such products (18, 28).

Gamma radiation is a type of ionizing electromagnetic radiation emitted from radionuclides such as ⁶⁰Co and ¹³⁷Cs, and exposure to it is one of the cheapest ways food preserve foods (9). The effect of ionizing radiation and the efficiency of radiation dose depend on the radioresistance of the microorganisms (10, 31). Combination with other methods without changing the nutritional and/or sensory aspects can lead to the reduction of the dose required to ensure the microbiological stability of the product during distribution, marketing and consumption, (27).

The aim of this research was to evaluate the combined effect of MAP and low dose gamma radiation on the quality of fresh poultry breast fillet using microbiological and sensory analyses.

MATERIALS AND METHODS

Packing and irradiation treatments

The experiments were performed in two phases. In the first phase, during the first day (day zero), 5 kg of refrigerated poultry breast fillets were purchased in a market in Niterói, RJ and transported in insulated polystyrene boxes on ice to the Laboratory of Microbiological Control of Animal Products of the Fluminense Federal University.

Poultry samples were aseptically divided in 40 pieces of 18g each and were individually packed in nylon-poli barrier pouches, having a multilayered structure with low permeability to oxygen ($60 \text{ cm}^3 / \text{m}^2 \cdot \text{day}$). Four groups of samples were formed 1) control (Air/0,0 kGy), 2) vacuum packed (Vacuum/0,0 kGy), 3) air packed and irradiated with 2,0 kGy (Air/2,0 kGy) and 4) vacuum packed and irradiated with 2,0 kGy (Vacuum/2,0 kGy). The irradiation process was realized at Centro Tecnológico do Exército and the samples were irradiated under a ^{137}Cs radiation source at 2,0 kGy.

In the second phase of experiments, fillet samples were obtained in the same conditions as in phase 1 out of 2 kg of fresh poultry breast. The samples were aseptically divided in 20 pieces of 18g and were individually packed in nylon-poli barrier pouches. However different packing atmosphere was tested yielding two sets of samples: 1) modified atmosphere packed (MAP /0,0 kGy) and 2) modified atmosphere packed and irradiated with 2,0 kGy (MAP /2,0 kGy). The gas mixture used was 80% CO_2 and 20% N_2 .

Microbiological analyses

The samples were stored at $1^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ during the experiments and bacterial tests were performed on days 1, 3, 5, 7, 9, 12 and 18 of storage. The following growth media and analytical procedures were included: plate count agar (PCA; Merck) for counting of heterotrophic aerobic mesophilic bacteria (HAMB) and heterotrophic aerobic psychrotrophic bacteria (HAPB), Violet Red Bile Glucose Agar (VRBG; Himedia) for counting of enterobacteria, Man, Rogosa and Sharpe Agar (MRS; Himedia) on double layer for lactic acid bacteria (LAB), Oxford *Listeria* Base (Himedia) with *Listeria* Selective Supplement (Oxford Formulation; Oxoid) (SR0140) for counting of *Listeria* spp., Mac Conkey Agar with *Yersinia* Selective Supplement (SR109; Oxoid) for *Yersinia* spp. and Starch-ampicillin Agar (SA; Himedia) enriched with 1% ampicillin for *Aeromonas* spp..

Besides, Merck's miniaturized methodology (16), as modified by Franco and Mantilla (8), was used for coliform enumeration. It consisted of employing automatic pipetors connected

to sterilized pointers for preparation and inoculation of 0.1 mL (100 μ L) from different dilutions into 1 mL (1000 μ L) of Fluorocult selective broth.

Sample preparation required 162 mL of peptonized saline solution at 0.1% for dilution to 10^{-1} followed by homogenization in a stomacher. Serial dilutions to 10^{-6} were then performed. After pour plate method, the plates were incubated at 35-37°C for 24 to 48 hours, excepting those prepared for counting of PAHB, that were kept in refrigerators at 4° C for 7 to 10 days.

A Quebec-type colony counter provided readings of counts while inspection of morphological and tinctorial characteristics led to the identification of the type of bacteria. Microbiological data were transformed into log CFU/g.

In addition, enumeration readings of coliforms were obtained in ultraviolet light inside a dark room. The presence of thermotolerant coliforms was confirmed by adding the Kovacs reagent for the indol test. The Most Probable Number (MPN) was determined by using Mac Crady's table and multiplying the result by 10 in order to account for the fact that inoculation was 10 times smaller than the standard. Microbiological data were transformed into log units of the Most Probable Number/g (log MPN/g).

Sensory evaluation

The sensory evaluation was to acceptance testing, where samples packaged by different treatments cited, were offered monodic presented in a randomized order for 33 untrained panelists. The sensory attributes evaluated were color and overall impression using a hedonic nine-point scale (29), where, 9 corresponded to “disliked extremely” and 1 “liked extremely”. Scores from 1-5 were considered acceptable.

Statistical analysis

Due to the fact that the bacterial populations in the beginning of the two phases were different, normalization to the initial reading of each phase was applied to all data of the corresponding phase so that the bacterial growth during both phases could be compared and described according to the modified Gompertz's equation (11) by using a special computer program, DMFIT based on predictive microbiology (4). The shelf life of meat was defined as days to counting of heterotrophic aerobic mesophilic bacteria reach 7 log CFU/g.

Regarding the sensory properties, differences between variables were tested for significance by one-way ANOVA with Tukey's post test using SAS program. Differences at $p > 0.05$ were considered to be statistically significant.

RESULTS AND DISCUSSION

The results are summarized in Table 1, 2, and Figure 1. The initial value of HAMB (day 0) was 5.5 log CFU/g (for samples analyzed on first phase) and 5.8 log CFU/g (for samples packed in MAP). Regarding shelf life extension, the poultry fillets packed in modified atmosphere and irradiated were those that had their shelf life doubled to 10 days, followed by those air- and vacuum-packed that were also irradiated (9 days). Then came the unirradiated samples (MAP and vacuum) (7 days) and finally the unirradiated ones packed in atmospheric air, that had a shelf life of 5 days at $1\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Such results indicate that gamma irradiation potentialized the conservation effects of MAP and efficiently extended the shelf life of the product.

Patsias *et al.* (24) also noted that poultry fillets refrigerated at 4°C MAP-packaged (70% N_2 -30% CO_2) reached such limit after 10-12 days. Similarly, Chouliara *et al.* (5) related an increase in the shelf life of irradiated poultry meat packed in modified atmosphere and, with the count of total bacteria in samples packed in air reaching the microbiological limit (7 log CFU /g) on the 5th and 6th days of storage at 4°C , in agreement with the findings in this work. However, the researchers also found a greater shelf life for fillets in MAP ($\text{CO}_2/30\%$ 70% N_2) irradiated to 2,0 kGy, 25 days. A lower initial microbial load (4.3 log CFU/g) could possibly explain the longer shelf life relatively to the findings in this work since it is known that the higher it is, the higher is the dose required to achieve the same final population of bacteria (9). In addition, the greater the amount of microorganisms present is, the higher the concentration of CO_2 required for reduction of microbiota becomes (23).

The treatment including air packing and a 2,0 kGy dose yielded the largest lag phase for mesophilic bacteria and reduced its population by 2.3 log cycles confirming the findings by Lescano (13) and Thayer (30) in similar studies.

Although extending the shelf life, such treatment yielded a high population of mesophilic bacteria at the end of the experiment, perhaps due to the development of radioresistant bacteria

such as lactic acid bacteria that are also more resistant to CO₂ when compared with other bacterial groups.

The two methods used together have considerably affected the lag phase of psychrotrophic bacteria, whereas the treatment MAP/2 kGy yielded the highest lag phase (9.4 days) followed by MAP non-irradiated samples. The final count was higher in the control samples followed by the vacuum-packed ones. The bacterial counts of irradiated samples remained low throughout the storage period when compared with the ones subjected to MAP. Similarly Miyagusku (17) found that samples of poultry meat packed in vacuum and modified atmosphere (30% N₂/70% CO₂), and irradiated with 3.0, 5.0 and 7.0 kGy showed a greater lag phase and lower counts for psychrotrophic bacteria throughout the storage period when compared with air-packed unirradiated samples.

There was no detectable growth of enterobacteria in the samples treated with MAP and irradiated. The greatest lag phase was found in irradiated air-packaged fillets. Such result was expected because the enterobacteria are very sensitive to irradiation according to several authors (2, 17, 5). In addition, the present results are also in agreement with those found by Chouliara et al. (5) that enterobacteria grew more slowly under conditions of MAP (30% CO₂/70% N₂ and 70% CO₂/30% N₂) than in aerobiosis.

As no growth of total coliform bacteria was observed in samples packed in modified atmosphere and irradiated, it can be concluded that the combination of both processes did not allow any growth of this bacterial group. Abu-Tarboush *et al.* (1) also found that poultry meat irradiated with 2.5 kGy and stored at 4°C had no coliforms. Irradiated air- and vacuum-packed samples showed a greatest adaptation phase, so low concentrations were observed at the end of the experiment.

Growth of thermotolerant coliforms was only observed in unirradiated samples packed in air and in low concentrations when compared with other bacteria analyzed. Miyagusku (17) also observed the elimination of *E. coli* have been in the vacuum- and MAP- packed samples of thigh and breast poultry meat treated with irradiation.

LAB prevailed in irradiated samples, while heterotrophic aerobic mesophilic bacteria prevailed in unirradiated samples. However, Ntzimani *et al.* (21) showed that lactic acid bacteria were dominant throughout the storage period, regardless of the packaging of smoked turkey breast stored in air, vacuum and modified atmospheres (30% CO₂/70% N₂) and (50% CO₂/50% N₂) kept at 4 ± 0,5°C for up to 30 days. In this work, a long lag phase was observed for samples

packaged in air and irradiated (12.4 days). In contrast, a short lag phase (4.1 days) was found for the irradiated MAP samples that led to a higher final count of lactic acid bacteria. Such results suggest that the combined treatment did not interfere with bacterial adaptation and was not able to eliminate lactic acid bacteria as effectively as for the other bacteria studied. A possible explanation for that is that Gram positive bacteria are generally much more resistant to inhibition by CO₂ and to irradiation than Gram-negative ones (9). Other authors also reported that MAP had a small effect on population of lactic acid bacteria due to the ability of these facultative anaerobic bacteria to grow under high concentration of CO₂ (24, 3, 5).

A similar result was informed by Miyagusku (17) who found that microaerophilic conditions led to a fast adaptation of lactic acid bacteria due to the vacuum and modified atmosphere packaging that fostered their development. However, Patterson (25) found that the sensitivity of *Lactobacillus* sp. to irradiation was significantly higher when poultry samples were irradiated in CO₂.

Listeria spp. was only detected in unirradiated air- and vacuum-packaged samples. Likewise, Zhu *et al.* (32) showed that irradiation (1.0 to 2.5 kGy) effectively reduced the number of *L. monocytogenes* in vacuum-packaged turkey hams and breast rolls. Samelis *et al.* (26) found that the dose of 4 kGy sufficed to completely eliminate them in frozen beef.

The combination of irradiation and modified atmosphere packaging was effective in the reduction of the population of *Listeria* spp. in refrigerated poultry fillets. Those bacteria showed a greater adaptation phase in samples packed in vacuum that consequently led to a higher number of counts at the end of the experiments when compared with the samples packed in air.

Aeromonas spp. was not detected in air-, vacuum- and modified atmosphere packed samples. Mano *et al.* (15) also failed to detect *Aeromonas* spp in samples of turkey meat, and when this pathogen were inoculated in the samples, they observed that CO₂ has an inhibitory effect in *A. hydrophila* growth in turkey meat. However, in the present study, when the samples were irradiated, this genera was detected, suggesting a resistance to the process of gamma irradiation. Nevertheless, Ozba *et al.* (22) reported that a dose of 0.75 kGy was sufficient to destroy approximately 10⁴ cfu/g of *A. hydrophila* in meatball.

Yersinia spp. also not detected in the samples. According to Jay (5) the pork is the most common source of those pathogens.

Sensory properties (color and overall impression) of raw poultry breast meat are given in Table 2. In relation to the color attribute it was observed that the treatment Air/2,0 kGy was the

one preferred by the judges, but differences were not significant at the 5% level relatively to the MAP/2,0 kGy and Vacuum/ 2,0 kGy treatments. Thus, it can be concluded that packaging in modified atmosphere used in combination with irradiation did not significantly affect the color acceptance. The color of the MAP/0,0 kGy samples was rejected. That was possibly due to the fact that high concentrations of CO₂ can cause poultry meat to become paler as quoted by Parry (23).

Irradiation of samples packaged in modified atmosphere or in air can cause the color of fillets to become more attractive, probably due to the appearance of a reddish coloration, as cited also by Nanke *et al.* (20), Lewis *et al.* (14), Nam and Ahn (19) and Kim *et al.* (12).

Regarding the scores for the overall impression (Table 2), it was found that the Vacuum/0,0 kGy and MAP/0,0 kGy samples were rejected. The use of CO₂ in high concentrations can cause an increase in the drip of fresh meat according to Church (7), which may have contributed to the rejection by the judges. All the other treatments were accepted, with the highest scores being assigned to the Air/2,0 kGy and MAP/2,0 kGy samples which had similar results.

CONCLUSION

This study shows that the process of irradiation produces a more attractive coloration of the poultry fillets. A higher radioresistance was observed for the lactic acid bacteria when compared to other bacterial groups analyzed. In addition, enterobacteria and coliforms were efficiently eliminated by using a combination of packaging in high concentrations of CO₂ (80%) and irradiation. Thus it can be concluded that the combined use of modified atmosphere packaging (80% CO₂ and 20% N₂) and gamma irradiation at a dose of 2,0 kGy can significantly improve the microbiological safety of refrigerated poultry fillet doubling its shelf life without changing the sensory properties. Further studies should be conducted in order to determine the optimum dose, as well as the ideal mixture of gases that would render the poultry fillets an optimized safety as well as the longest shelf life achievable.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors gratefully acknowledge CAPES for financial aid in the development of research and the Section of the Defense Nuclear CTE_x for authorization and viability of the irradiation process.

REFERENCES

1. Abu-Tarboush, H.M; Al-Kahtani, H.A.; Atia, M.; Abou-Arab, A.A.; Bajaber, A.S.; El-Mojaddidi, M.A.. (1997). Sensory and microbial quality of chicken as affected by irradiation and postirradiation storage at 4 °C. *J. Food Prot.* 60, 761–770.
2. Balamatsia, C. C.; Rogga, K.; Badeka, A.; Kontominas, M. G.; Savvaidis, I. N. (2006). Effect of Low-Dose Radiation on Microbiological, Chemical, and Sensory Characteristics of Chicken Meat Stored Aerobically at 4°C. *J. Food Prot.* 69 (5), 1126–1133.
3. Balamatsia, C. C.; Patsias, A.; Kontominas, M. G.; Savvaidis, I. N. (2007). Possible role of volatile amines as quality-indicating metabolites in modified atmosphere-packaged chicken fillets: Correlation with microbiological and sensory attributes. *Food Chem.* 104: 1622–1628.
4. Baranyi, J. & Roberts, T.A. (1994). A dynamic to predicting bacterial growth in food. *Int. J. Food Microbiol.* 23, 277-294.
5. Chouliara, E.; Badeka, A.; Savvaidis, L. & Kontominas, M. G. (2008). Combined effect of irradiation and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of chicken breast meat: microbiological, chemical and sensory changes. *Eur. Food Res. Technol.* 226 (4), 877-888.
6. Church, N. (1994). Developments in modified-atmosphere packaging and related technologies. *Trends Food Sci. Technol.* 5, 345-352.
7. Church, I. J. & Parsons, A. L. (1995). Modified Atmosphere Packaging Tecnology: A Review. *J. Sci. Food. Agric.*, 67, 143-152.
8. Franco, R. M. & Mantilla, S. P. M. (2004). *Escherichia coli* em corte de carne bovina: avaliação da metodologia aplicada e sensibilidade antimicrobiana dos sorovares predominantes. In: 14° Seminário de Iniciação Científica e Prêmio UFF Vasconcellos Torres de Ciência e Tecnologia, Niterói, RJ.
9. Jay, J. M. (2005). *Microbiologia de alimentos*. 6 ed. Artmed, Porto Alegre, 711 p.

10. Landgraf, M. (2008). Controle do Desenvolvimento Microbiano nos Alimentos. Microorganismos Patogênicos de Importância em Alimentos. In: Franco, B. D. G. M. & Landgraf, M. *Microbiologia dos Alimentos*. São Paulo: Atheneu. 182 p., cap. 7, p. 109-148.
11. Gibson, A.M.; Bratchell, N. & Roberts, T.A. (1987). The effect of sodium chloride and temperature on the rate and extent of growth of *Clostridium botulinum* type A in pasteurized pork slurry. *J Appl. Bacteriol.* 62, 479-490.
12. Kim, Y. H.; Nam, K. C. & Ahn, D. U. (2002). Color, Oxidation-Reduction Potential, and Gas Production of Irradiated Meats from Different Animal Species. *J. Food Sci.* 67 (5), 257–265.
13. Lescano G.; Narvaiz P.; Kairiyama E. & Kaupert N. (1991). Effect of chicken breast irradiation on microbiological, chemical and organoleptic quality. *Lebensm-Wiss Technol.* 24 (2),130-134.
14. Lewis, S. J.; Vela´Squez, A.; Cuppett, S. L.& Mckee, S. R. (2002). Effect of Electron Beam Irradiation on Poultry Meat Safety and Quality. *Poultry Sci.* 81, 896–903.
15. Mano, S. B.; Ordoñez, J. A. and Garcia de Fernando, G. D. (2000). Growth/survival of natural flora and *Aeromonas hydrophila* on refrigerated uncooked pork and turkey packaged in modified atmospheres. *Food Microbiol.* 17 (6), 657-669.
16. Merck. (2000). *Microbiology Manual*. Berlin, Germany, 407p.
17. Miyagusku, L. (2008). *Influencia da radiação ionizante (60Co) na manutenção da qualidade físico-química, microbiológica e sensorial de cortes de coxa e file de peito de frango acondicionado em deferentes sistemas de embalagens*. Campinas, Brasil, p. (PhD Thesis. Faculdade de Engenharia de Alimentos Universidade Estadual de Campinas).
18. Molins, R. A. (2001). *Food irradiation: principles and applications*. 1 ed. Wiley-Interscience, New York, 488 p.
19. Nam, K. C. & Ahn, D. U. (2002). Carbon monoxide–heme pigment complexes are responsible for the pink color in irradiated raw Turkey breast meat. *Meat Sci.* 61, 25–33.
20. Nanke, K. E.; Sebranek, J. G. & Olson; D. G. (1998). Color Characteristics of Irradiated Vacuum-Packaged Pork, Beef, and Turkey. *J Food Sci.* 63 (6), 1001-1006.
21. Ntzimani, A. G.; Paleologos, E.K.; Savvaidis, J. N. & Kontominas, M. G. (2008). Formation of biogenic amines and relation to microbial flora and sensory changes in smoked turkey breast fillets stored under various packaging conditions at 4°C. *Food Microbiol.*, 25, 509–517.
22. Ozbaş, Z. Y.; Vural, H.; Aytaç, S. A. (1996) Combined effect of gamma-irradiation and conventional cooking on *Aeromonas hydrophila* in meatball. *Z Lebensm Unters Forsch.* 202, 1, 60-2.

23. Parry, R.T. (1993). *Envasado de los alimentos em atmosfera modificada*. Madrid: A. Madrid Vicente, 331p.
24. Patsias, A.; Badeka, A. V.; Savvaidis, I. N. & Kontominas, M. G. (2008). Combined effect of freeze chilling and MAP on quality parameters of raw chicken fillets. *Food Microbiol.*, 25, 575– 581.
25. Patterson, M. (1988). Sensitivity of bacteria to irradiation on poultry meat under various atmospheres. *Lett Appl Microbiol.* 7, 55-58.
26. Samelis, J.; Kakouri, A.; Savvaidis, I. N.; Riganakos, K. & Kontominas, M. G. (2005). Use of ionizing radiation doses of 2 and 4 kGy to control *Listeria* spp. and *Escherichia coli* O157:H7 on frozen meat trimmings used for dry fermented sausage production. *Meat Sci.* 70, 189-195.
27. Sant'Ana, A. S. & Araújo, I. O. (2007). Irradiação e a segurança e qualidade microbiológica dos alimentos. *Hig. Alimentar*, 21 (151), 37-51.
28. Savadogo, A.; Ouattara, C.A.T.; Bassole, I.H.N; Traore, S.A. (2006). Bacteriocins and lactic acid bacteria - a minireview. *African Journal of Biotechnology* 5 (9), 678-683.
29. Stone, H.; Sidel, J.L.(1998). Quantitative descriptive analysis: developments, applications, and the future. *Food Techno.* 5 (8), 48-52.
30. Thayer, D.W. (1995). Use of irradiation to kill enteric pathogens on meat and poultry. *J Food Safety*, 15, 181-192.
31. Vital, H. C.; Freire Junior, M. (2008). A irradiação de Alimentos. *In: Rosenthal, A. Tecnologia de Alimentos e Inovação:Tendências e Perspectivas*. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, DF, 193 p.
32. Zhu, M. J.; Mendonca, A.; Ismail, H. A. and Ahn, D. U. (2008). Effects of Irradiation on Survival and Growth of *Listeria monocytogenes* and Natural Microflora in Vacuum-Packaged Turkey Hams and Breast Rolls. *Poultry Sci.* 87, 2140-2145.

Table 1. Shelf-life and bacterial growth parameters of poultry breast fillets wrapped in air, vacuum and modified atmosphere and irradiated (2,0 kGy) or not irradiated (0,0 kGy) and kept at $1^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ for 18 days.

| Treatment (Packing/(Dose)) | Shelf Life (days) Based on Limit: 7log CFU/g | Bacterial Growth Parameters | HAMB ^a | HAPB | Ent | CT | CTer | La | Lis | Aero |
|-------------------------------|----------------------------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------------|------|-----|-----|-----------------|------|-----|------|
| | | | Initial count normalized to 1.0 log cycle | | | | | | | |
| Air / 0,0 kGy | 5 | g ^b | 0,6 | 0,5 | - | 0,4 | 1,1 | 1,6 | 0,5 | - |
| | | Lag ^c | 1,9 | 2,2 | 1,2 | 2,4 | 8,9 | - | 1,4 | - |
| | | CF ^d | 4 | 3,9 | 3 | 1,1 | 1,7 | 2,1 | 2,4 | nd |
| Vacuum / 0,0 kGy | 7 | g | 0,7 | 1,2 | 0,4 | 0,7 | - | 5,3 | 0,2 | - |
| | | Lag | 3,8 | - | 5,1 | 2,8 | - | 8,7 | 4,2 | - |
| | | CF | 3,8 | 3,7 | 2 | 1,0 | nd ^e | 1,6 | 1,7 | nd |
| MAP/ 0,0 kGy | 7 | g | 0,5 | 1,5 | 1,4 | 0,4 | - | 0,5 | - | - |
| | | Lag | 4,8 | 4,2 | 4,7 | 5,3 | - | 6,3 | - | - |
| | | CF | 2 | 2,6 | 1,2 | 0,9 | nd | 1,4 | nd | nd |
| Air / 2,0 kGy | 9 | g | 0,7 | 6,5 | 2,3 | 1,7 | - | 0,6 | - | - |
| | | Lag | 5 | - | 7,8 | - | - | 12,4 | - | 7,7 |
| | | CF | 3,3 | 1,6 | 0,7 | 1,1 | nd | 1,8 | nd | 0,8 |
| Vacuum / 2,0 kGy | 9 | g | 1 | 1,7 | 1,7 | 1,7 | - | 0,9 | - | 0,8 |
| | | Lag | 4,4 | 1,8 | 3,8 | 6,9 | - | 2,3 | - | 7,7 |
| | | CF | 2,7 | 1 | 0,5 | 0,7 | nd | 2,4 | nd | 0,7 |
| MAP/ 2,0 kGy | 10 | g | 0,6 | 0,6 | - | - | - | 0,4 | - | - |
| | | Lag | 3,3 | 9,4 | - | - | - | 4,1 | - | - |
| | | CF | 1,7 | 2,6 | nd | nd | nd | 2,6 | nd | nd |

^a HAMB: Mesophilics; HAPB: Psicrotrophic; Ent: *Enterobacteriaceae*; CT: Totals coliforms; CTer: Thermotolerant Coliforms; La: Lactic acid bacteria; Lis: *Listeria* spp.; Aero: *Aeromonas* spp.

^b g : Doubling time (days).

^c Lag: Adaptation phase (days).

^d CF: Final Count (log CFU/g and log MPN/g for coliforms)

^e nd: Not detected count.

Table 2. Results of poultry fillets color and overall impression in the different treatments (Tukey analysis)

| Color | | Overall impression | |
|----------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Treatments | Mean* | Treatments | Mean* |
| MAP/0,0 kGy | 5,24 ^a | Vacuum/0,0 kGy | 5,76 ^a |
| Vacuum/0,0 kGy | 5,0 ^{ab} | MAP/0,0 kGy | 5,24 ^{ab} |
| Air/0,0 kGy | 4,7 ^{abc} | Air/0,0 kGy | 4,81 ^{ab} |
| Vacuum/2,0 kGy | 3,67 ^{cd} | Vacuum/2,0 kGy | 4,57 ^{ab} |
| MAP/2,0 kGy | 3,45 ^d | MAP/2,0 kGy | 3,91 ^b |
| Air/2,0 kGy | 3,36 ^d | Air/2,0 kGy | 3,67 ^b |

*Means followed by same letters do not differ by Tukey test at 5% probability.

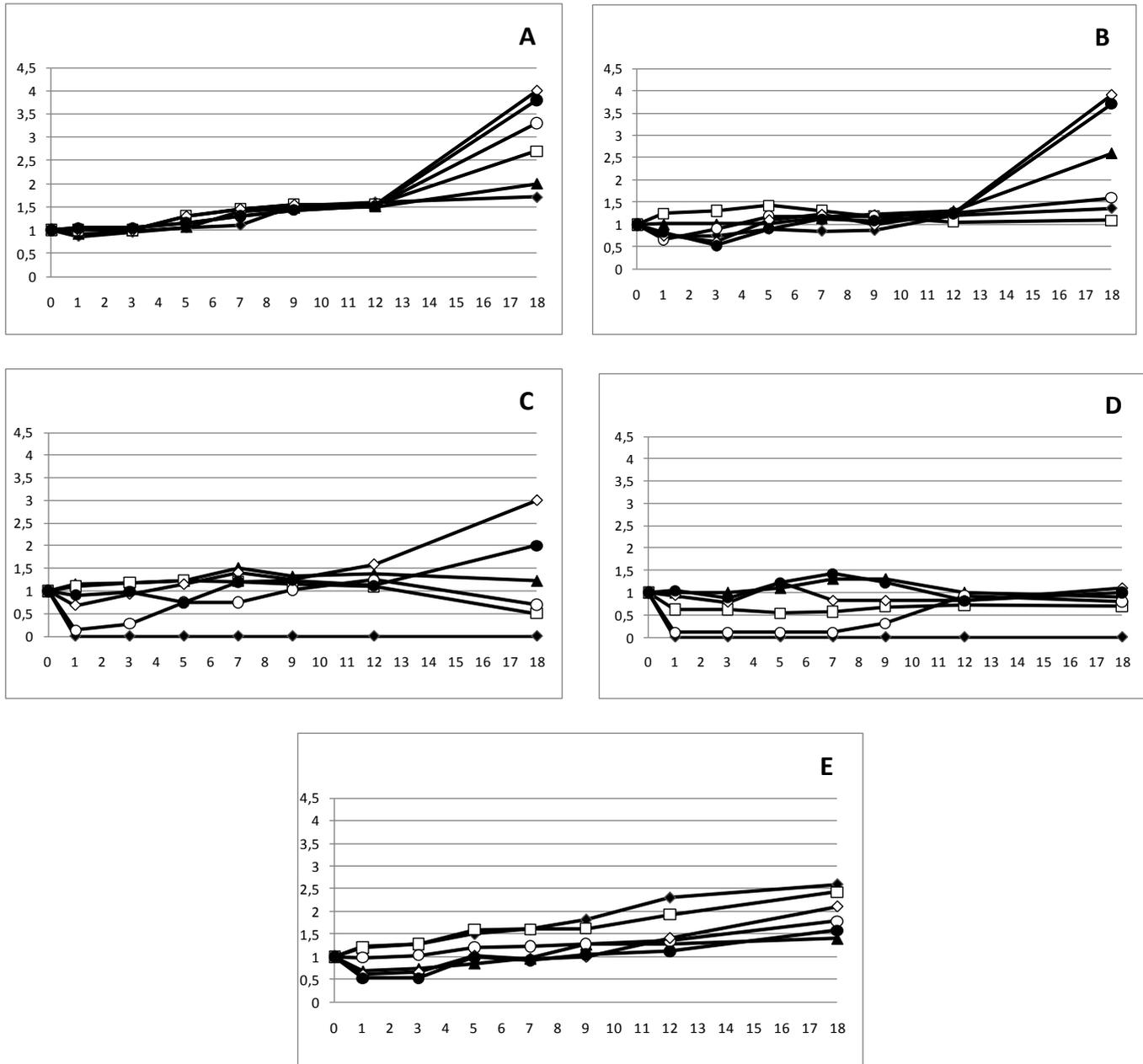


Figure 1. Growth bacterial curves (Log CFU/g X Days of Storage) in samples of refrigerated chicken breast fillets subjected to six different treatments. Development of mesophilic bacteria (A), psychrotrophic bacteria (B), *Enterobacteriaceae* (C), total coliforms (D) and lactic acid bacteria (E) in all treatments during 18 days of storage at $1^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. MAP/2,0 kGy (◆), MAP/0,0 kGy (▲), Vaccum/2,0 kGy (□), Air/2,0 kGy (○), Air/0,0 kGy (◇) and Vaccum/0,0 kGy (●).

3.4 MICROBIOLOGY, SENSORY ACCEPTANCE AND SHELF LIFE OF IRRADIATED CHICKEN BREAST FILLETS STORED IN AIR OR VACUUM.

Microbiology, Sensory Acceptance And Shelf Life Of Irradiated Chicken Breast Fillets Stored In Air Or Vacuum

Samira Pirola Santos Mantilla^{1**}; Érica Barbosa Santos¹; Helio de Carvalho Vital²; Sérgio Borges Mano¹; Mônica Queiroz de Freitas¹; Robson Maia Franco¹

¹Department of Food Technology – University Federal Fluminense – Vital Brazil Street, 64, Niterói - RJ – Brazil

²Centro Tecnológico do Exército (CTEx/DDQBN)- Av. das Américas, 28705, 23020-470, Rio de Janeiro- Brazil

ABSTRACT

*This work investigated the effects of different packaging methods (air and vacuum) combined with irradiation (0.0, 2.0 and 3.0 kGy) on the conservation of chicken breast fillets kept at 1°C for up to 18 days through acceptance sensorial test, the determination of pH and bacterial growth parameters. The findings indicate that the post-irradiation lag phase increased with dose, leading to an extension in shelf-life. Vacuum-packed samples irradiated at 3.0 kGy exhibited the longest shelf life. Among the analyzed bacteria, coliforms and *Listeria* spp. were found to be the most sensitive to gamma radiation. All fillets acquired more attractive coloration and better overall impression with irradiation. The combined use of vacuum packaging and irradiation (3.0 kGy) reduced the microbial populations without causing change in pH and yielded a significant shelf-life extension of chicken refrigerated fillets, besides improves the appearance of this food.*

Key words: Irradiation, chicken fillets, modified atmosphere, microbiology, sensory tests

** Author for correspondence: samiramantilla@yahoo.com.br

INTRODUCTION

Between 2000 and 2008, the most rapid expansion, with an annual growth rate of more than six per cent a year, occurred in South America. In doing so, this region increased its share of the world total from 14 per cent to more than 17 per cent. Over three-quarters of this expansion was attributed to the growth in the industry in Brazil, where poultry meat output escalated by almost 4.6mt (75 %), from 6.1mt to 10.7mt between 2000 and 2008 (The Poultry Site, 2010).

Poultry meat is a nutritious food and it is consumed all over the world because of its relatively low cost and low fat content. However, it is highly perishable with a relatively short shelf life even when it is kept in refrigeration. Thus developing more appropriate technologies for conservation of such product still remains a goal that the scientific community has been eagerly pursuing. In order to increase the shelf life of meat products vacuum-packed has been used. Though, that technology alone has not been able to extend the shelf life of such foods for a long time. Thus, gamma irradiation has been used in combination with packaging in modified atmosphere in order to improve safety and further enhance shelf-life extension of meat. The safety and efficiency of irradiation in food conservation has been thoroughly demonstrated worldwide (Pelczar et. al., 1997). The doses of 1.5 and 3.0 kGy, for treatment of refrigerated and frozen chicken meat, respectively, were authorized in the USA in 1992 (Lee, 1996). The Brazilian legislation for food irradiation has been regarded as one of the most advanced ones in the world, allowing the treatment of any kind of food (Vital & Freire Jr., 2008). However, the use of such technology in Brazil is still mostly limited to the treatment of spices, animal feed and other food products to be exported. Fortunately, there has been an increasing joint effort geared at informing the population on the principles, safety and benefits of treating foods with ionizing radiation (Hernandez et al., 2003). Bacteria tend to be more resistant to radiation during the latency (lag phase), becoming more sensitive as they enter the logarithmic growth phase and reach the lowest resistance at its end (Jay, 2005). Gram-negative (both as pathogenic and spoilage) are generally more sensitive than

the Gram-positive vegetative cells (Franco & Landgraf, 1996).

The combination of different methods of food preservation should be seen as an alternative in the food industry, for example, the use of vacuum-packed, gamma radiation and refrigeration. However, in order to ensure that the combined use of those techniques does not produce changes in the original characteristics of the products testing of sensory acceptance must be performed.

The objective of this study was to determine the effectiveness of the combination treatment of gamma irradiation (0.0, 2.0 and 3.0 kGy) and air or vacuum packaging in the conservation of refrigerated chicken fillets by monitoring microbial growth parameters in order to determine the shelf-life extension, the variation of pH and sensory acceptance.

MATERIALS AND METHODS

The experiments were performed in two phases. During the first day of phase one (day zero), 2 kg of refrigerated chicken breast fillets were purchased in a market in Niterói, RJ and transported in boxes of expanded polystyrene filled with ice to the Laboratory of Microbiological Control of Animal Products of the Fluminense Federal University, where all bacteriological analyses and determination of pH were performed starting from day zero. The following analytical procedures were included: counting of heterotrophic aerobic mesophilic (HAM), counting of bacteria of the genera *Listeria*, *Yersinia* e *Aeromonas*, and enumeration of total and thermotolerant coliforms. Each fillet was aseptically divided in 20 pieces with 18 g and each of those samples was packed in a plastic bag having a multilayered structure with low permeability to gases. Two different packing atmospheres were tested in two sets including 10 samples each: 1) air-packed (control) and 2) vacuum-packed. A sample from each treatment was analyzed individually after 1, 3, 5, 7, 9, 12 or 18 days of storage at $1^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. The following growth media were used: plate count agar (PCA; Merck) for HAMB and PAHB, Oxford *Listeria* Base (Himedia) with *Listeria* Selective Supplement (Oxford Formulation; Oxoid) (SR0140) for *Listeria* spp., Mac Conkey Agar with *Yersinia* Selective Supplement (SR109; Oxoid) for *Yersinia* spp.,

Starch-ampicillin Agar (SA; Himedia) enriched with 1% ampicillin for *Aeromonas* spp., and Fluorocult broth for enumeration of total and thermotolerant coliforms. Merck's miniaturized methodology (2000), as modified by Franco & Mantilla (2004), was used for coliform enumeration. It consisted of employing automatic pipettors connected to sterilized pointers for preparation and inoculation of 0.1 mL (100 μ L) from different dilutions into 1 mL (1000 μ L) of Fluorocult selective broth.

In the second phase of experiments, fillets were obtained in the same conditions as in phase 1, out of 4 kg of fresh chicken breast, however different doses of radiation and packing atmospheres were tested yielding four sets of samples: 1) air-packed, irradiated with 2.0 kGy; 2) vacuum-packed, irradiated with 2.0 kGy; 3) air-packed, irradiated with 3.0 kGy and 4) vacuum-packed, irradiated with 3.0 kGy. The analyses performed were the same as those in phase 1.

Due to the fact that the bacterial populations in the beginning of the two phases were different, normalization to the initial reading of each phase was applied to all data of the corresponding phase so that the bacterial growth during both phases could be compared and described according to the modified Gompertz's equation (Gibson et al., 1987) by using a special computer program (Baranyi & Roberts, 1994).

The sensory evaluation was performed in the form of an acceptance test, where samples from different treatments were randomly subjected to judgment by 33 untrained panelists. Color and overall impression were judged according to a hedonic nine-point scale (Stone & Sidel, 1998), where, 9 corresponded to "disliked extremely" and 1 to "liked extremely". Scores from 1-5 were considered acceptable. Differences between variables were tested for significance by one-way ANOVA with Tukey's post test using SAS program. Differences at $p < 0.05$ were considered to be significant.

RESULTS AND DISCUSSION

The findings indicate that the post-irradiation lag phase increased with dose, leading to an extension in shelf life. Similar results were also found by Spoto et al. (2000), who concluded that irradiation can efficiently be used in the preservation of chicken meat.

Shelf-Life Extension

The samples found to exhibit the longest shelf life were those vacuum-packed and irradiated with 3.0 kGy, followed by the air-packed ones also treated with 3,0 kGy (Tab. 1). Then came the samples exposed to 2.0 kGy (air- and vacuum-packed), followed by the unirradiated ones, first the vacuum-packed and finally the air-packed ones. As expected, a larger decrease in the population of bacteria was found in samples irradiated with 3.0 kGy, consequently leading to a larger extension in shelf life. Vacuum packaging combined with irradiation at 3.0 kGy more than duplicated shelf life, extending it to 12 days in comparison with the unirradiated air-packed samples that remained good for five days only. These findings are consistent with those obtained by Abu-Tarboush et al. (1997) who reported that irradiation of refrigerated chicken meat with 2.5 kGy led to a 12-day shelf life.

Similar results were observed by Grandison & Jennings (1993), who reported that air-packed unirradiated samples of ground chicken meat deteriorated in the 2 days of storage, while treatment with 3.1 kGy significantly increased the shelf life of the samples. Chouliara et al. (2008) also found an extension in shelf life of fresh poultry meat treated with 2.0 and 4.0 kGy. They reported that the total counts of bacteria in the unirradiated air-packed samples reached the microbiological limit on the 5-6th day of storage at 4° C, whereas those irradiated with 2.0 kGy reached such level on the 15th day, and those irradiated with 4.0 kGy only after 22-23 days of storage. Miyagusku et al. (2003) observed that the samples of refrigerated chicken breast vacuum-packed and irradiated at 3.0 kGy not reached 7.0 log CFU /g until the 30th day of storage, remaining with scores of up to 5.0 Log CFU /g.

Heterotrophic Aerobic Mesophilic Bacteria

Irradiation with 3.0 kGy reduced the number of aerobic mesophilic bacteria in the air-packed samples by approximately 2 log cycles (Fig. 1 A), while a much smaller drop (0.81 log cycle) was found for the vacuum-packed fillets treated with the same dose. Lescano (1991) also found that the irradiation of chicken breast with 2.5 kGy reduced the total bacterial count by

approximately 2 log cycles. In addition, Thayer et al. (1995) found that the total bacterial count of chicken wings was reduced by about 2 log cycles with irradiation at 1.4 kGy.

In the present experiment, the doubling time was found to be higher in vacuum-packed than in air-packed samples, hinting that the mesophilic bacteria were not able to start growth in vacuum as they grow more easily in air. That finding is in agreement with the results of bacterial count for the end of storage, when the vacuum-packed samples had lower bacterial count. The highest bacterial growth in chicken breast wrapped in air when compared with the vacuum-

packed ones was also found by Jiménez et al. (1997). They reported that a rapid growth of viable bacteria in air-packed samples, reaching a population of 8 log CFU /g after four to five days of storage at 4° C, while the use of vacuum packaging extended the time required for the total count of bacteria to reach 8 log CFU/g to two or three days of storage.

In this work, shelf-life extension was mostly due to the irradiation-induced prolongation of the lag phase, found to be greater for samples treated with 3.0 kGy.

Table 1- Shelf-life and growth parameters of bacteria found in vacuum- and air-packed chicken breast fillets treated with 0,0, 2,0 and 3,0 kGy and stored for 18 days at 1°C.

| Treatment (Packing/(Dose)) | Shelf Life (days) Based on Limit: 10 ⁷ CFU/g | Bacterial Growth Parameters | Me | CT | CTer | Lis | Aero |
|-------------------------------|------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|-----|------|------|-----|------|
| | | Initial count normalized to 1.0 log cycle | | | | | |
| Air / 0.0 kGy | 5 | g (days) | 0.6 | 0.4 | 1.1 | 0.5 | - |
| | | Lag (days) | 1.9 | 2.4 | 8.9 | 1.4 | - |
| | | CF (log CFU/g) | 4 | 2.2 | 1.7 | 5 | nd |
| Vacuum / 0.0 kGy | 7 | g (days) | 0.7 | 0.7 | - | 0.2 | - |
| | | Lag (days) | 3.8 | 2.8 | - | 4.2 | - |
| | | CF (log CFU/g) | 3.8 | 3 | nd | 4.5 | nd |
| Air / 2.0 kGy | 9 | g (days) | 0.7 | 18.7 | - | - | - |
| | | Lag (days) | 5 | - | - | - | 7.7 |
| | | CF (log CFU/g) | 3.3 | 0.6 | nd | nd | 0.8 |
| Vacuum / 2.0 kGy | 9 | g (days) | 1 | 1.7 | - | - | 0.8 |
| | | Lag (days) | 4.4 | 6.9 | - | - | 7.7 |
| | | CF (log CFU/g) | 2.7 | 0.5 | nd | nd | 0.7 |
| Air / 3.0 kGy | 10.5 | g (days) | 0.4 | - | - | - | 0.3 |
| | | Lag (days) | 5.8 | - | - | - | 7.7 |
| | | CF (log CFU/g) | 1.7 | nd | nd | nd | 3.3 |
| Vacuum / 3.0 kGy | 12 | g (days) | 0.7 | - | - | - | 1.7 |
| | | Lag (days) | 5.9 | - | - | - | 12 |
| | | CF (log CFU/g) | 1.6 | nd | nd | nd | 0.7 |

g – Breeding time; Lag- Adaptation phase; CF – Final Relative Count; nd- No detected count; Me- mesophilics; CT – totals coliforms; CTer – Thermotolerant Coliforms; Lis- *Listeria* spp.; Aero- *Aeromonas* spp.

Coliforms

The thermotolerant coliforms were unable to grow in samples packed in vacuum and in

irradiated ones, having only been detected in the unirradiated fillets packed in air. Similarly, Miyagasku et. al (2003) detected *E. coli* in the

control samples only and no significant counts were found during storage in the irradiated samples.

The total coliform group did not show detectable growth in the samples irradiated at 3.0 kGy (Fig. 1 C) and showed a longer lag phase in the vacuum-packaged samples treated with 2,0 kGy. According to the data that group was eliminated from the chicken fillets irradiated to 3.0 kGy,

and had difficulty to start growth after irradiation with 2.0 kGy. Researchers Abu-Tarboush et. al (1997) also found that irradiation with 2.5 kGy and storage at 4°C for 21 days was sufficient to eliminate total coliforms in chicken meat. In another experiment, gamma irradiation of chicken with 1 and 1.8 kGy was sufficient to eliminate total coliforms (Lewis et al. 2002).

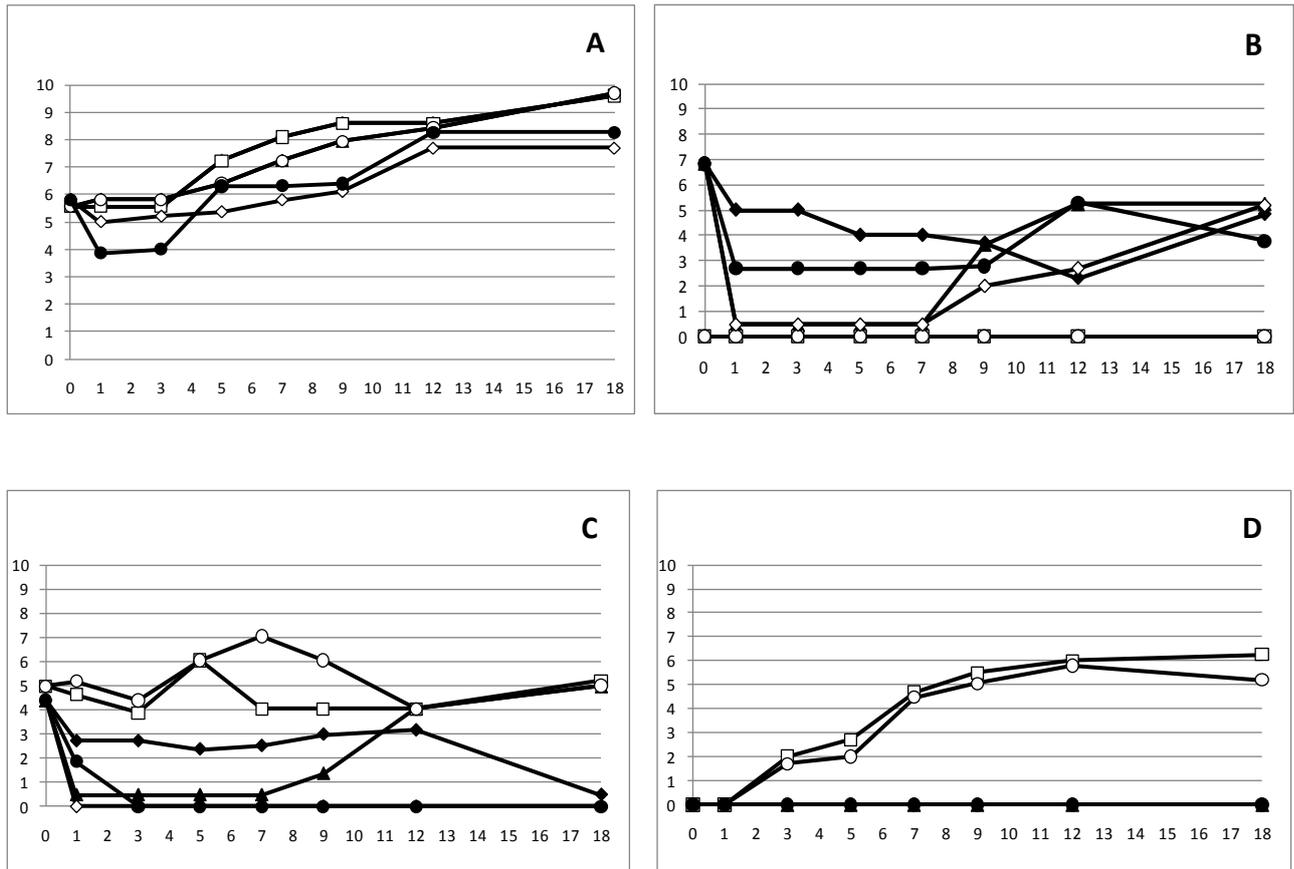


Figure 1- Growth bacterial curves (Log CFU/g X Days of Storage) in samples of refrigerated chicken breast fillets subjected to six different treatments. (A)- Heterotrophic aerobic mesophilic bacteria; (B)- *Aeromonas* spp. ; (C)- Total coliforms and (D)- *Listeria* spp.

◆ Vacuum/2kGy ▲ Air/2kGy □ Air/0kGy
 ○ Vacuum/0kGy ◇ Vacuum/3kGy ● Air/3kGy

Other bacteria

Listeria spp. was only detected in control samples packed in air and vacuum, being eliminated with irradiation at 2.0 and 3.0 kGy (Fig. 1 D). Roberts & Weese (1995) reported

that irradiation of meat with a dose up to 3.0 kGy effectively eliminated over 99% of bacteria of the species *L. monocytogenes*. Samelis et al. (2005) reported that 4.0 kGy completely eliminated *Listeria* spp. frozen meat. Trivedi et

al. (2007) also observed that irradiation with 3.0 kGy was effective in eliminating 10^2 CFU/g of *L. monocytogenes* inoculated on diced chicken meat and turkey frankfurters.

Aeromonas spp. was not detected in control samples. Kumar et al. (2000) only isolated *Aeromonas* spp. in 33 (13.41%) of 246 food samples of animal origin. In the present study, this genera was only detected in air- and vacuum-packed samples irradiated with 2 and 3.0 kGy (Fig 1 B). A possible explanation for that finding is that such bacterium hardly grows in media where there it has to face competition with other microorganisms, as it was the case at the beginning of the experiment. Thus, when the microbiota was reduced by irradiation, *Aeromonas* spp. was able to develop. However, Thayer (1995) observed that doses below 3.0 kGy were sufficient to eliminate *Aeromonas hydrophila* in chicken meat.

Yersinia spp. was not detected in any sample from the beginning. According to Jay (2005), the pig is the most common source of this pathogen. Likewise, Trajković-Pavlović et al. (2007) related that a pilot investigation, performed in Novi Sad, indicated that *Yersinia enterocolitica* was not detected in any of the tested samples (90 of fresh meat and 167 of ready-to-eat food). Bucher et al. (2008) to examine the prevalence of pathogenic *Y. enterocolitica* in animals and

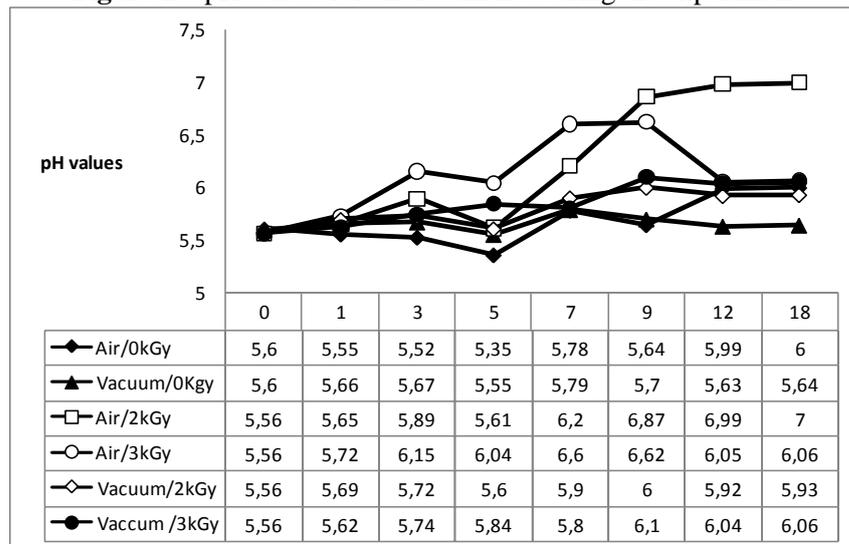
foodstuffs in Bavaria, found that this pathogen was isolated only from raw pork, especially from edible offal. Additionally, some raw pork sausages and only one poultry sample were PCR positive.

pH values

There were no changes in pH at the beginning of the experiment. As expected the vacuum-packed samples consistently showed a lower pH value, due to the predominance of acid-producing bacteria. Samples packaged in air showed an increase in pH during storage in the same way as reported by Miyagusku (2008), which could be attributed to the faster growth of spoilage bacteria.

The pH of air-packed irradiated and unirradiated samples ranged from 5.4 to 6 and 5.6 to 7, respectively (Fig. 2), confirming the data obtained by Pinto et al. (2005) who found that the samples of unirradiated chicken breast wrapped in air had a change in pH from 5.9 to 6.5 and the irradiated samples had results, ranging between 5.9 and 6.8, also informing that irradiation provided no changes in pH values compared in comparison with the control samples.

Figure 2- pH values for all treatments during the experiment



Sensory acceptance

Regarding the acceptance of color samples (Tab. 2), the judges preferred the air-packed samples irradiated with 2.0 kGy and vacuum-packed irradiated with 3.0 kGy, although no significant difference was determined relatively to the vacuum-packed samples irradiated with 3.0 kGy. In addition, it was observed that all irradiated fillets showed a color more attractive than non-irradiated. Similarly, Lewis et al. (2002) concluded that irradiation at 1.0 kGy improved the color of chicken breast fillets. Nanke et al. (1998) also observed changes in the color of pork and turkey irradiated at doses of 1.5 kGy, 3.0 kGy, 4.5 kGy, 7.5 kGy and 10.5 kGy, which showed up red due to irradiation. Nam & Ahn (2002) reported that COmyoglobin is responsible for the pink color of chicken meat caused by interaction with carbon monoxide during irradiation. Kim et al. (2002) also suggest that the development of red color in irradiated meat is due to the production of gas, especially

CO. Similar results were found by Millar et al. (1995), who found a greater redness in the chicken breast irradiated at 5.0 kGy compared with unirradiated controls. Those authors concluded that ionizing radiation is able to change the coloration of poultry meat depending on the kind of muscle type and properties of the skin.

However, Kanatt et al. (1997) did not find any change in sensory attributes such as appearance, color and odor after irradiating chicken with 2.5 kGy. Similar reports were discussed by Souza et al. (2007) who investigated the influence of radiation on the levels of iron and color of pigments of thighs and chicken breast meat irradiated at doses 0.0, 1.0 and 2.0 kGy and found that the color was not influenced by those doses. The lack of changes in sensory properties of the chicken meat was probably due to the low doses (below 3.0 kGy) used by those researchers.

Table 2- Results from Tukey`s Test for the color of chicken fillets subjected to different treatments.

| Treatment | Mean |
|----------------|--------------------|
| Vacuum/0.0 kGy | 5.0 ^a |
| Air/0.0 kGy | 4.7 ^{ab} |
| Air/ 3.0 kGy | 3.97 ^b |
| Vacuum/2.0 kGy | 3.67 ^{bc} |
| Vacuum/3.0 kGy | 3.42 ^c |
| Air/2.0 kGy | 3.36 ^c |

In relation of sensory acceptability of the chicken fillets to the overall impression (Tab. 3), it was found that only the vacuum-packed ones were rejected by the judges, probably due to the change from the original meat format. The treatment that received the highest scores in that attribute was air packaging combined with irradiation with 2.0 kGy. It was followed by vacuum packaging treated with 3.0 kGy, then with 2.0 kGy, followed by air packaging irradiated with 3.0 kGy and finally the unirradiated sample packed in air. In this work, irradiation with 2.0 and 3.0 kGy was found to improve the overall appearance of the samples. Hashim et al. (1995) also reported that irradiation did not affect the appearance (humidity and brightness) of breast and thigh chicken refrigerated raw chicken.

Likewise, Abu-Tarboush et al. (1997) observed that irradiation of chicken meat (2.5, 5.0, 5.7 and 10.0 kGy) caused minor changes in product acceptance in relation to appearance, aroma, texture and flavor. And Taylor et al. (2005) found that the use of 6.0 kGy did not significantly alter the sensorial properties of chicken breast.

Table 3- Results from Tukey`s Test for the overall impression of chicken fillets subjected to different treatments.

| Treatment | Mean |
|------------------|---------------------|
| Vaccum/0.0 kGy | 5.76 ^a |
| Air/0.0 kGy | 4.81 ^{ab} |
| Air/3.0 kGy | 4.63 ^{abc} |
| Vacuum/2.0 kGy | 4.57 ^{abc} |
| Vacuum/3.0 kGy | 4.51 ^{abc} |
| Air/2.0 kGy | 3.67 ^c |

CONCLUSION

Based on the results obtained in this work, it can be concluded that irradiation at doses of 2.0 and 3.0 kGy significantly increased the shelf life of refrigerated chicken meat in comparison with the unirradiated air-packed samples. Irradiation of the samples under vacuum was more efficient in extending the shelf life and gave chicken fillets with color and overall more desirable to consumers. Thermotolerant coliforms and *Listeria* spp. were eliminated with irradiation, whereas *Aeromonas* spp. was able to develop in the irradiated samples. The pH of the samples did not show large variations during the storage period. Irradiation improved the color of the fillets and maintained a good overall impression of the product. This study demonstrated that the combined technology of vacuum-packed and irradiation (3.0 kGy) is able to extend the shelf life of refrigerated chicken fillets and control deteriorating and pathogenic microbiota, making them safer and more attractive to the consumer.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors gratefully acknowledge CAPES for financial aid in the development of research and the Nuclear Defense Section of CTEEx for performing all irradiations.

RESUMO

O objetivo desse estudo foi investigar a eficiência de diferentes métodos de embalagem (ar e vácuo) combinados com a irradiação (0,0, 2,0 e 3,0 kGy) na conservação de filés de peito de frango resfriados, mantidos a 1°C por 18 dias, através de teste de aceitação sensorial, da determinação dos valores de pH e dos parâmetros bacteriológicos de crescimento. De acordo com os resultados, verificou-se que a fase de latência aumentou com a dose de radiação, promovendo uma extensão do prazo comercial. A irradiação a 3,0 kGy sob vácuo foi mais eficiente na extensão da validade comercial. Dentre as bactérias analisadas, os coliformes e *Listeria* spp. foram as mais sensíveis à radiação gama. Todos os filés irradiados apresentaram uma coloração mais atraente e melhor impressão global. O uso combinado de embalagem a vácuo e irradiação (3,0 kGy) reduziu a população microbiana, sem alterar os valores de pH e resultou numa significativa extensão da validade comercial de filés de frango refrigerados, além de melhorar a aparência desse alimento.

REFERENCES

Abu-Tarboush, H.M, Al-Kahtani, H. A., Atia, M., Abou-Arab, A.A., Bajaber, A.S. & El-Mojaddidi, M.A. (1997), Sensory and microbial quality of chicken as affected by irradiation and postirradiation storage at 4 °C. *J. Food Prot* , **60**, 761–770.

- Baranyi, J. & Roberts, T.A. (1994), A dynamic to predicting bacterial growth in food. *Int J Food Microbiol.*, **23**, 277-294.
- Bucher, M.; Meyer, C.; Grötzbach, B.; Wacheck, S.; Stolle, A.; Fredriksson-Ahomaa, M. (2008), Foodborne Pathogens and Disease. *Foodborne Pathogens and Disease*, **5** (3): 273-280.
- Chouliara, E., Badeka, A., Savvaidis, L. & Kontominas, M. G. (2008), Combined effect of irradiation and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of chicken breast meat: microbiological, chemical and sensory changes. *Journal European Food Research and Technology*, **226** (4), 877-888.
- Franco, B. D. G. M. & Landgraf, M. (1996), Microrganismos Patogênicos de Importância em Alimentos. In: *Microbiologia dos Alimentos*. ed. Atheneu, São Paulo, pp. 33-82.
- Franco, R. M. & Mantilla, S. P. M. (2004), *Escherichia coli* em corte de carne bovina: avaliação da metodologia aplicada e sensibilidade antimicrobiana dos sorovares predominantes. Paper presented at 14th Seminário de Iniciação Científica e Prêmio UFF Vasconcellos Torres de Ciência e Tecnologia, Niterói-RJ, Brazil.
- Gibson, A.M., Bratchell, N. & Roberts, T.A. (1987), The effect of sodium chloride and temperature on the rate and extent of growth of *Clostridium botulinum* type A in pasteurized pork slurry. *J Appl. Bacteriol*, **62**, 479-490.
- Grandison, A. & Jennings, A. (1993), Extension of the shelf life of fresh minced chicken meat by electron beam irradiation combined with modified atmosphere packaging. *Food Control*, **4**, (2), 83-88.
- Hashim, I. B. ; Resurreccion A, V. A. ; Mcwatters, K. H. (1995), Descriptive sensory analysis of irradiated frozen or refrigerated chicken. *Journal of Food Science* **60** (4), 664-666.
- Hernandes, N. K.; Vital, H. C.; Sabaa Srur, A. U. O. (2003), Irradiação de alimentos: vantagens e limitações. *Boletim SBCTA*, **37** (2), 154-159.
- Jay, J. M. (2005), *Microbiologia de alimentos*. 6 ed. 711 pp. ed. Artmed, Porto Alegre.
- Jiménez, S.M.; Salsi, M.S.; Tiburzi, M.C.; Rafaghelli, R.C.; Tessi M.A; Coutaz, V.R. (1997), Spoilage microflora in fresh chicken breast stored at 4 °C : influence of packaging methods. *Journal of Applied Microbiology*, **83** (5), 613 – 618.
- Kanatt, S. R.; Paul, P.; D' Souza, S. F; Thomas, P. (1997), Effect of gamma irradiation on the lipid peroxidation in chicken, lamb and buffalo meat during chilled storage. *Journal of Food Safety*, **17**, 283-294.
- Kim, Y. H.; Nam, K. C.; Ahn, D. U. (2002), Color, Oxidation-Reduction Potential, and Gas Production of Irradiated Meats from Different Animal Species. *Journal of Food Science*, **67** (5), 257–265.
- Kumar, A.; Bachhil, V. N.; Bhilegaonakar, K. N.; Agarwal, R. K.. (2000), Occurrence of enterotoxigenic *Aeromonas* species in foods. *Journal of Communicable Diseases*, **32** (3), 169-174.
- Lee, M., Sebranek, J. G., Olson, D. G. & Dickson, J. S. (1996), Irradiation and Packaging of Fresh Meat and Poultry. *J Food Prot*, **59** (1), 62-72.
- Lescano G., Narvaiz P., Kairiyama E. & Kaupert N. (1991), Effect of chicken breast irradiation on microbiological, chemical and organoleptic quality. *Lebensmittel - Wissenschaft Technologie*, **24** (2), 130-134.
- Lewis, S. J., Vela'Squez, A., Cuppett, S. L. & Mckee, S. R. (2002), Effect of Electron Beam Irradiation on Poultry Meat Safety and Quality. *Poult Sci*, **81**, 896–903.
- Merck. (2000), *Microbiology Manual*. 407 pp. Berlin. Germany.
- Millar, S. J.; Moss, B. W.; Macdougall, D. B.; Stevenson, M. H. (1995), The effect of ionizing radiation on the CIELAB color coordinates of chicken breast meat as measured by different instruments. *International Journal of Food Science and Technology*, **30**, 663–674.

- Miyagusku, L. Chen, F., Leitão, M. F. De F. & Baffa, O. (2003), Avaliação microbiológica e sensorial da vida útil de cortes de peito de frango irradiados. *Cienc Tecnol Alimentos*, **23**, 7-16.
- Miyagusku, L. (2008), *Influência da radiação ionizante (^{60}Co) na manutenção da qualidade físico-química, microbiológica e sensorial de cortes de coxa e filé de peito de frango acondicionado em diferentes sistemas de embalagens*. PhD Thesis, Food Engineering Faculty, UNICAMP, Campinas, SP.
- Nam, K. C. & Ahn, D. U. (2002), Carbon monoxide-heme pigment complexes are responsible for the pink color in irradiated raw Turkey breast meat. *Meat Science*, **61**, 25-33.
- Nanke, K. E.; Sebranek, J. G.; Olson; D. G. (1998), Color Characteristics of Irradiated Vacuum-Packaged Pork, Beef, and Turkey. *Journal of Food Science*, **63** (6), 1001-1006.
- Pelczar Jr., Michael J., Chan, E. C. S., Krieg, Noel R., Edwards, Diane D., Pelczar & Merna F. (1997), *Microbiologia: conceitos e aplicações*. 2.ed. v. 2, Makron Books, São Paulo.
- Pinto, D. C. C.; Mano, S. B.; Vital, H. C.; Oliveira, L. A. T.; Tello, M.V. P.; Pombo, C. R.(2005), Avaliação da irradiação gama em peitos de frangos refrigerados monitorados pela contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas viáveis e pH. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, **12**, (1/3), 37-41.
- Roberts, T. & Weese, J. (2006), *Food Irradiation*. 1995. Available at: <http://www.aces.edu/pubs/docs/H/HE-0727/>. Accessed 10 jun 2006
- Samelis, J., Kakouri, A., Savva, I. N., Riganakos, K. & Kontominas, M. G. (2005), Use of ionizing radiation doses of 2 and 4 kGy to control *Listeria* spp. and *Escherichia coli* O157:H7 on frozen meat trimmings used for dry fermented sausage production. *Meat Sci*, **70**, 189-195.
- Spoto, M. H., Gallo, C. R., Alcarde, A. R., Gurgel, M, S, A., Blumer, L., Walder, J. M. M. & Domarco, R. E. (2000), Gamma irradiation in the control of pathogenic bacteria in refrigerated ground chicken meat. *Sci Agricola*, **57** (3), 389-394.
- Souza, A. R. M.; Arthur, V.; Canniatti-Brazaca, S. G. (2007), Alterações provocadas pela irradiação e armazenamento nos teores de ferro heme em carne de frango. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, **27** (2), 303-306.
- Stone, H. & Sidel, J.L. (1998), Quantitative descriptive analysis: developments, applications, and the future. *Food Technology*, **5** (8), 48-52.
- Toledo, T. C. F.; Canniatti-Brazaca, S. G.; Spoto, M. H. F.; Arthur, V. (2005), Sensory Evaluation of Chicken Breast Under Gamma Irradiation at Commercial Doses. *Journal of Food Science*, **70** (1), 8-12.
- Thayer, D.W. (1995), Use of irradiation to kill enteric pathogens on meat and poultry. *J Food Safety*, **15**, 181-192.
- Trivedi, S.; Reynolds, A. E.; Resurreccion, A. V. A and Chen, J. (2007), Effect of electron beam irradiation on the safety of diced chicken meat and turkey frankfurters. *Food Protection Trends*, **27** (10), 749-753.
- The poultry Site. (2010). Chicken Meat to Top 81MT This Year. Disponível em <http://www.thepoultrysite.com/articles/1605/chicken-meat-to-top-81mt-this-year> Acesso em jan 2010.
- Trajković-Pavlović, L. B.; Popović, M.B.; Novaković, B. D.; Gusman-Pasterko, V. P.; Jevtić, M. R.; Mirilov, J. M. (2007), Occurrence of *Campylobacter*, *Salmonella*, *Yersinia Enterocolitica* and *Listeria Monocytogenes* in some retail food products in Novi Sad. *Cent Eur J Public Health*, **15** (4): 167-171.
- Vital, H. C. & Freire Júnior, M. (2008), A irradiação de alimentos In: Rosenthal, A. *Tecnologia de Alimentos e Inovação: Tendências e Perspectivas*. 1 ed. cap. 11. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, DF, pp.1-193.

3.5 *Listeria monocytogenes* INOCULATED INTO REFRIGERATED CHICKEN BREAST FILLETS PACKED IN MODIFIED ATMOSPHERE AND IRRADIATED: SHELF LIFE, NATURAL MICROBIOTA AND BACTERIAL GROWTH PARAMETERS.

***Listeria monocytogenes* INOCULADA EM FILÉS DE PEITO DE FRANGO
REFRIGERADOS EMBALADOS EM ATMOSFERA MODIFICADA E IRRADIADOS:
VALIDADE COMERCIAL, MICROBIOTA NATURAL E PARÂMETROS
BACTERIOLÓGICOS DE CRESCIMENTO.**

(Listeria monocytogenes inoculated into refrigerated chicken breast fillets packed in modified atmosphere and irradiated: shelf life, natural microbiota and bacterial growth parameters.)

S. P. S. Mantilla^a, E. B. Santos^a, H. C. Vital^b, S. B. Mano^a, R. M. Franco^a

^aDepartment of Food Technology, Fluminense Federal University, Vital Brazil, 64, 24230-340, Niterói, RJ, Brazil. samiramantilla@yahoo.com.br

^b Army Technological Center, Av. das Américas, 28705, Guaratiba 23020-470, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

RESUMO

A capacidade de *Listeria monocytogenes* e outras bactérias de se multiplicarem em filés de peito de frango resfriados embalados em ar, vácuo e em atmosfera modificada (80% CO₂/20% N₂) e irradiados (2,0 e 3,0 kGy) mantidos a 1°C ± 1°C por até 34 dias foi avaliada. As alterações microbiológicas e a determinação do pH das amostras foram monitoradas. As análises bacteriológicas indicaram que tanto a fase lag como a validade comercial aumentaram com a dose de irradiação. O maior prazo comercial (34 dias) foi alcançado pelas amostras embaladas em atmosfera modificada e irradiadas a 3,0 kGy, enquanto que as amostras embaladas em aerobiose e não irradiadas deterioraram-se no 9º dia de estocagem. As bactérias ácido lácticas foram os microrganismos mais resistentes à radiação gama e à alta concentração de CO₂, enquanto que os coliformes e as enterobactérias foram os mais sensíveis. *L. monocytogenes* e *Aeromonas* spp. foram capazes de se desenvolver em todas as amostras. A irradiação aumentou o efeito bacteriostático da embalagem em atmosfera modificada e aumentou a validade comercial de filés de peito de frango, melhorando a sua qualidade microbiológica, porém não impediu o desenvolvimento de *L. monocytogenes* quando essa foi inoculada na concentração de 10⁵ UFC / mL.

Palavras-chave: carne de aves; fase de latência; irradiação; patógenos psicotróficos; tempo de duplicação

ABSTRACT

The ability of *Listeria monocytogenes* and other bacteria to multiply on chicken breast fillets packaged in air, vacuum and modified atmosphere (80%CO₂/20%N₂), irradiated (2.0 and 3.0 kGy), and kept at 1°C ± 1°C for up to 34 days was evaluated. Microbiological changes and pH occurring in samples were monitored. Bacteriological analyses indicated that both lag phase and shelf life increased with radiation dose. The samples packed in modified atmosphere and exposed to 3.0 kGy exceeded the initial 9-day shelf life of air-packaged fillets in 34 days. Lactic acid bacteria were the most resistant to gamma radiation and high CO₂ concentrations while coliforms and enterobacteria were the most sensitive. *L. monocytogenes* and *Aeromonas* spp. were able to grow in all samples. Irradiation increased the bacteriostatic effect of modified atmosphere packaging and can be used to improve microbiological quality and increase the shelf life of chicken breast fillets.

Key words: doubling time; irradiation; lag phase; poultry meat; psychrotrophic pathogens

INTRODUCTION

Poultry meat is a nutritiously rich, highly perishable food subject to various types of spoilage depending on handling and storage conditions. Because of the globalization of food supply and the increasing demand by consumers the control of poultry meat spoilage is more essential today than ever (Cervený et al., 2009). Furthermore, one of the most important psychrotrophic food pathogens related to meat products is *Listeria monocytogenes* (Devlieghere et al., 2001). It is a Gram-positive, non-sporeforming, highly mobile, rod-type, facultative anaerobic bacterium and it can grow under a wide range of temperature conditions (0°C to 42°C), its pH growth range being found between 4.5 and 9.6 (Farber and Peterkin, 1991; Seelinger and Jones, 1996). It is considered an emergent pathogen capable of provoking listeriosis in humans through the ingestion of contaminated food. Listeriosis is a zoonosis of great importance in public health, considering it may cause abortion,

sepsis and meningitis, especially in pregnant women, children, old and immunodeficient patients (Mantilla et al. 2007). As *L. monocytogenes* is present in the soil, silage, and human and animal feces, contamination of the carcass during meat processing is easier (Farber and Peterkin, 1991; Zhu et al., 2005). Therefore adequate preservation technologies must be applied in order to preserve food safety and quality.

In the last decades alternative non-thermal preservation technologies such as irradiation together with active packaging have been proposed and further investigated. These techniques are efficient for rendering vegetative microorganisms inactive. Such organisms are most commonly related to food-borne diseases (Aymerich et al., 2008)

Modified atmosphere packaging (MAP) is commonly used to prolong the shelf-life of meat products. In the past, the major concerns regarding the use of this technology were anaerobic pathogens, especially psychrotrophic, nonproteolytic clostridia. However, due to the emergence of psychrotrophic pathogens such as *Listeria monocytogenes*, *Aeromonas hydrophila*, and *Yersinia enterocolitica*, new food safety issues have been raised. This stems mainly from the fact that the extended shelf life of many MAP products may allow extra time for these pathogens to reach dangerously high levels in food (Farber, 1991)

Decontamination of food by ionizing radiation is a safe, efficient, environmentally clean, and energy efficient process. Irradiation is particularly valuable as an end product decontamination procedure. Radiation treatment at 2–7 kGy doses can effectively eliminate potentially pathogenic nonsporeforming bacteria including long-time recognized pathogens such as *Listeria monocytogenes* (Farkas, 1998). The Brazilian legislation for food irradiation has been regarded as one of the most advanced in the world, allowing the treatment of any kind of food (Vital and Freire Júnior, 2008).

The resistance of *L. monocytogenes* to radiation is widely dependent on the method employed, the physiological state of the strain used, and, obviously, the substrate in which the organism finds itself (Augustin, 1996). The presence of oxygen affects the efficiency of irradiation. Published reports indicate that the effects of irradiation and packaging together vary depending upon the kind of meat and the atmosphere composition in the package. One concern about using modified atmosphere packaging in irradiated meat or poultry, however, is that pathogens may

grow and/or produce toxins due to a decrease in the number of competing organisms. This is of even greater concern if spoilage is suppressed and does not provide the usual warning signals. Further information is needed to ensure the appropriate use of vacuum or modified atmosphere packaging combined with irradiation in order to guarantee fresh meat and poultry harmlessness (Lee et al., 1996).

In the present study, resistance to gamma radiation (0.0, 2.0 and 3.0 kGy) and the ability of *L. monocytogenes* and other bacteria to multiply on chicken breast fillets packed in air, vacuum and modified atmosphere and kept at $1^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ for up to 34 days were assessed. The determination of pH values, shelf life extension and bacterial growth parameters of *L. monocytogenes* and natural microbiota of fresh chicken breast fillets inoculated with *Listeria monocytogenes* 4 b was carried out.

MATERIAL AND METHODS

Inoculum preparation

The strain *Listeria monocytogenes* 4 b was isolated from ground beef (Mantilla, 2006). Once unfrozen, the strain was revitalized by culturing at $35\text{-}37^{\circ}\text{C}$ for 24 h in tryptic soy broth enriched with 0.6% yeast extract. The suspension was made by mixing an aliquot of *L. monocytogenes* culture with 2 liters of sterile saline solution (0.85% NaCl). Serial dilutions and in-depth sowing were then carried out in Oxford *Listeria* Agar Base. After the incubation period ($35\text{-}37^{\circ}\text{C}$ for 24h), bacterial counting was performed in order to determine bacterial concentration (in duplicate).

Sample Treatment

On the first day (day zero), 10.0 kg of fresh refrigerated chicken breast fillets were purchased in a market in the city of Niterói, Rio de Janeiro, Brazil and transported in ice-filled expanded polystyrene boxes to the Laboratory of Microbiological Control of Animal Products, where all bacteriological analyses and pH determination were carried out. The samples were aseptically divided in 108 pieces with 18.0 g each and were immersed in a suspension of *L. monocytogenes* 4b containing approximately 10^5 CFU/mL.

Samples were individually packed in seven-layered poly nylon bags with low permeability to oxygen ($60\text{cm}^3/\text{m}^2/\text{day}$). Nine groups were formed: 1) control group,

where the packages were filled with room air (Air/0.0 kGy); 2) vacuum-packed group (Vacuum/0.0 kGy); 3) MAP group (MAP/0.0 kGy); 4) air packed group irradiated with 2.0 kGy (Air/2.0 kGy), 5) vacuum-packed group irradiated with 2.0 kGy (Vacuum/2.0 kGy) 6) MAP group irradiated with 2.0 kGy (MAP/2.0 kGy), 7) air packed group irradiated with 3.0 kGy (Air/3.0 kGy), 8) vacuum-packed group irradiated with 3.0 kGy (Vacuum/3.0 kGy), and 9) MAP group irradiated with 3.0 kGy (MAP/3.0 kGy).

For packaging and thermosealing of samples a 450 AP TEQMAC vacuum sealer was used with an 80%CO₂ / 20% N₂ gas mixture. The irradiation process was carried out in the Research Irradiator of the Army Technological Center which currently generates a maximum dose rate of 2.0 kGy/h of gamma radiation, emitted by its ¹³⁷Cs source at 2.0 and 3.0 kGy doses. Samples were stored at 1°C ± 1°C during the whole experiment.

Bacteriological and pH analyses

Bacteriological tests and pH determination were performed on storage days 1, 3, 5, 7, 9, 12, 15, 17, 21, 28, 31 and 34.

The following growth media were used for bacteriological analyses: Plate Count Agar, for aerobic mesophilic bacteria and aerobic psychrotrophic bacteria; Violet Red Bile Glucose Agar, for enterobacteria counting; double layer Man, Rogosa and Sharpe Agar, for lactic acid bacteria; Oxford *Listeria* Base with *Listeria* Selective Supplement (SR0140), for *Listeria* spp. ; Starch-ampicillin Agar added with 1% of ampicillin, for *Aeromonas* spp.; and Mac Conkey Agar with *Yersinia* Selective Supplement (SR109), for *Yersinia* spp. For enumeration of total and thermotolerant coliforms Fluorocult Broth was used according to the methodology described by Merck (2000), modified by Franco and Mantilla (2004), where the process was miniaturized. Pipettors attached to sterilized pointers were used for the preparation of 0.1mL (100 µL) inoculation of the different dilutions in 1mL (1000 µL) selective broth medium in Eppendorf.

Samples (18 g) were diluted in 162mL of peptonized saline solution (PSS) at 0.1% and homogenized in a stomacher at normal speed for two minutes. Serial dilutions up to 10⁻⁶ were then performed. After pour plate, the plates were incubated at 35-37°C for 24 to 48 hours, excepting those prepared for counting of psychrotrophic bacteria which were kept under refrigeration at 4°C for 7 days.

After taking the inoculum for microbiological analysis, the homogenized sample was used for pH measurement by introduction an electrode of a pHmeter. Measurement of pH was done through the potentiometric method which is based on instrumental pH determination (Brasil, 1981).

Modeling of data

A special computer program (DMFit) designed by Dr. József Baranyi, of the Institute of Food Research, Reading Laboratory, UK (Baranyi and Roberts, 1994), based on Gompertz's equation (Gibson et al., 1987) was used to modeling data. The shelf-life of meat was defined when the counting of mesophilic aerobic heterotrophic bacteria reached $7 \log \text{CFU g}^{-1}$.

RESULTS AND DISCUSSION

The results obtained in this work are listed in Table 1 and Fig. 1 and 2, where shelf life and bacterial growth parameters of each bacterial group studied in different treatments are represented. The findings indicate that the post-irradiation lag phase increased with gamma radiation dose, leading to an extension of chicken breast fillet shelf life. Similar results were also found by Spoto et al. (2000), who concluded that irradiation can efficiently be used in the preservation of chicken meat. MAP also increased the lag phase and consequently the shelf life when compared with air and vacuum packaging. The combined effect of MAP and irradiation was even greater. Grant and Patterson (1991) also concluded that the microbiological safety of irradiated, modified atmosphere-packaged pork is better than that of nonirradiated MAP pork.

Shelf-Life Extension

The samples found to exhibit the longest shelf life were those irradiated with 3.0 kGy (air-packed and MAP), followed by the MAP irradiated with 2.0 kGy and vacuum-packaged samples irradiated with 3,0 kGy. Then came the samples exposed to 2.0 kGy (air and vacuum-packed), followed by the nonirradiated MAP and vacuum-packed, and finally the nonirradiated air-packed. MAP results in a 3 day extension of shelf life. However, Patsias et al. (2006) observed a greater shelf-life extension in

MAP packed chicken meat (60% CO₂ / 40% N₂) of more than 6 days. This probably happened because samples were precooked.

Shelf life extension occurred mainly due to increase in the lag phase induced by the irradiation process and by CO₂-rich atmosphere. MAP combined with irradiation at 3.0 kGy almost more than quadrupled shelf life, extending it to 34 days in comparison with the nonirradiated air-packed samples which remained good for only nine days. Likewise, Chouliara et al. (2008) observed that the effect of gamma irradiation and MAP in chicken meat was more pronounced in the case of the combination of MAP (70% CO₂/30% N₂) and a higher irradiation dose of 4.0 kGy.

Natural microbiota

Irradiation with 3 kGy reduced the number of aerobic mesophilic bacteria in the air and vacuum-packaged samples by 1 log cycle, while a further reduction (1.3 log cycles) was found in MAP combined with irradiation. However, Zhu et al. (2008) observed a greater reduction in aerobic plate count, where the log₁₀ reductions after 1.0 and 2.0 kGy irradiation were 2.9 and 5.2 respectively. This difference in results may have occurred because the researchers used electron beam irradiation and not gamma irradiation and the samples were oven-roasted turkey breast rolls. The increase in doubling time of aerobic mesophilic and aerobic psychrotrophic bacteria was proportional to the use of CO₂ and to radiation doses (the higher CO₂ concentration and radiation dose were the longer bacterial generation time was).

Gram positive bacteria are known to be more resistant to radiation than gram-negative bacteria (Jay, 2005). That feature accounts for the fact that lactic acid bacteria (LAB) exhibited the most robust post-irradiation growth among all the groups studied. They outnumbered all the other groups in irradiated vacuum-packed samples as well as in air-packed ones treated with both doses, showing that the combined process did not prevent their multiplication. In vacuum and MAP packaged samples, Miyagusku (2008) also found that lactic acid bacteria were identified as the most resistant to radiation. According to the results of the present trial, this bacterial group presented a shorter doubling time in samples irradiated at 3.0 kGy, indicating that LAB grew faster in irradiated than in non-irradiated substrates, probably due to decreased microbiota competition, favoring the prevalence of LAB.

The dominance of LAB in CO₂ rich atmosphere has been repeatedly reported in the literature for meat and meat products (Samelis et al. 2000; Nychas et al. 2008;

Patsias et al. 2008; Soldatou et al. 2009; Vaikousi et al. 2009). Barakat and Harris (1999) also observed that the predominant spoilage microbiota in MAP cooked poultry cuts are lactic acid bacteria. Similar results were found by Mantilla et al. (2009a), who concluded that LAB was the organism that developed most in irradiated chicken meat samples, showing greater radioresistance when compared to other microorganisms studied.

The total coliform group exhibited growth in all samples, but the irradiation with 2 and 3 kGy in air, vacuum and modified atmosphere packaging reduced the initial number by 3, 2.3 and 3.2 log cycles, respectively. Its growth occurred mostly in nonirradiated air packed samples, followed by nonirradiated vacuum-packed ones. Oliveira et al. (2009) also verified that irradiation (1.5 and 30 kGy) reduced coliform population in chicken breast meat, keeping total coliform countings low.

Thermotolerant coliforms were able to develop only in nonirradiated samples and in air-packed ones irradiated with 2.0 kGy and 3.0 kGy. Similarly, Lescano et al. (1991) did not detect *Escherichia coli* in chicken meat irradiated with 2.5 kGy and Spoto et al. (2000) observed the number of *Escherichia coli* colonies inoculated in ground chicken meat decreased with the increase in radiation dose. Mantilla et al. (2009b) also stated that thermotolerant coliforms were unable to grow in raw chicken meat packed in vacuum and irradiated at 2.0 and 3.0 kGy.

Aeromonas spp. bacteria were found in all samples, which indicates their resistance to high concentrations of CO₂ and gamma radiation up to 3.0 kGy, but carbon dioxide and irradiation were effective in reducing this bacterium genus. Irradiation at 3.0 kGy of vacuum-packed and MAP samples reduced 0.5 log cycles, resulting in lower final counting of this bacterial group. Several authors (Doherty et al., 1996; McMahon, 2000; Mano et al., 2000) stated that CO₂ has an inhibitory effect on *A. hydrophila* growth. The data of the present study confirm these results, since *Aeromonas* showed adaptation problems in samples with high CO₂ concentration. The best environment for *Aeromonas* growth was the aerobic atmosphere, as also quoted by Mano et al. (2000).

Table 1- Shelf life and growth parameters of bacteria found in vacuum-packed, air-packed and MAP chicken breast fillets treated with 0.0, 2.0 and 3.0 kGy and stored for 34 days at 1°C ± 1°C.

| Treatment (Packing) (Dose) | SL ¹ | BGP | Groups of Bacteria | | | | | | | | |
|-----------------------------------------------------------|-----------------|-----------------|--------------------|----------------|-----|-----|-----|------|------|------|------|
| | | | AMB ² | APB | Ent | TC | ThC | LAB | Lis | Aero | Yers |
| | | IC ³ | 2.3 | 4.4 | 3 | 3.6 | 1.5 | 3.3 | 5 | 2 | 0.4 |
| Air / 0.0 kGy | 9 | DT ⁴ | 2 | 1.7 | 0.8 | 1.4 | 1.7 | 3.6 | 4.6 | 3.6 | 7.2 |
| | | LP ⁵ | 1 | - ⁷ | - | 4 | 12 | - | 9.7 | 8 | - |
| | | FC ⁶ | 9.5 | 11.2 | 7.2 | 4.3 | 3 | 11.2 | 5.8 | 7.7 | 6.2 |
| Vacuum/ 0.0 kGy | 12 | DT | 1.2 | 2.4 | 0.9 | 1.4 | 1.2 | 7.2 | 7.2 | 3.6 | 0.9 |
| | | LP | 3.3 | - | - | 4.1 | - | 5.8 | 2.6 | 8 | - |
| | | FC | 9 | 10 | 6 | 4 | 2.8 | 9.8 | 5.2 | 6.2 | 5.5 |
| ATM 80CO ₂ /20 N ₂ 0.0 kGy | 12 | DT | 3.6 | 2.4 | 1.7 | 1.7 | 3.6 | 1.4 | 1.0 | 7.2 | 1.2 |
| | | LP | 4 | 2.2 | - | 5 | - | 2.8 | - | 24 | - |
| | | FC | 9.2 | 11 | 2.4 | 3 | 2 | 9.5 | 5.1 | 4.5 | 5 |
| Air / 2.0 kGy | 28 | DT | 3.6 | 2.4 | 7.2 | 7.2 | 1.7 | 1.2 | 7.2 | 8 | 1.7 |
| | | LP | 2 | 2.4 | 3.7 | 6 | 20 | 2.8 | 8.2 | 14 | - |
| | | FC | 7.5 | 9.6 | 1.6 | 2.1 | 1.4 | 9.2 | 3.5 | 5.4 | 2.1 |
| Vacuum/ 2.0 kGy | 28 | DT | 3.6 | 3.6 | - | 3.6 | - | 7.2 | 3.6 | 7.2 | - |
| | | LP | 3.7 | 2.9 | - | - | - | - | 10 | 12.4 | - |
| | | FC | 8.2 | 9 | - | 3.3 | - | 8.6 | 5 | 4.4 | - |
| ATM 80CO ₂ /20 N ₂ 2.0 kGy | 31 | DT | 3.6 | 7.2 | - | 3.6 | - | 7.2 | 2.4 | 1.0 | - |
| | | LP | 15.5 | - | - | - | - | 3.4 | 19 | - | - |
| | | FC | 7.4 | 8 | - | 2.9 | - | 8.2 | 3.2 | 4 | - |
| Vacuum/ 3.0 kGy | 31 | DT | 4.4 | 7.2 | - | 7.2 | - | 0.8 | 3.6 | 7.2 | - |
| | | LP | 13.7 | - | - | - | - | 4 | 11.9 | 19 | - |
| | | FC | 7.8 | 8.7 | - | 2.4 | - | 8.1 | 3 | 2.3 | - |
| Air / 3.0 kGy | 34 | DT | 3.6 | 3.6 | 0.8 | 7.2 | 1.7 | 1.2 | 3.6 | 7.2 | 3.6 |
| | | LP | 16 | 3.54 | 6.2 | 6.7 | 20 | - | - | 17 | - |
| | | FC | 7 | 9 | 1.5 | 1.5 | 1.4 | 9 | 3.1 | 4.2 | 2.5 |
| ATM 80CO ₂ /20 N ₂ 3.0 kGy | 34 | DT | 3.6 | 7.2 | - | 7.2 | - | 1.44 | 2.4 | 7.2 | - |
| | | LP | 16.1 | - | - | 12 | - | 4.2 | 23.5 | 27.2 | - |
| | | FC | 7 | 6.9 | - | 2.3 | - | 8 | 3 | 2.1 | - |

¹SL=Shelf Life in days (Based on Limit: 10⁷ CFU g⁻¹); BGP=Bacterial Growth Parameters;

²AMB= aerobic mesophilic bacteria; APB= aerobic psychrotrophic bacteria; Ent= *Enterobacteriaceae*; TC= Total coliform ; ThC= thermotolerant coliforms; LAB= lactic acid bacteria; Lis= *Listeria monocytogenes*; Aero= *Aeromonas* spp.; Yers= *Yersinia* spp.;

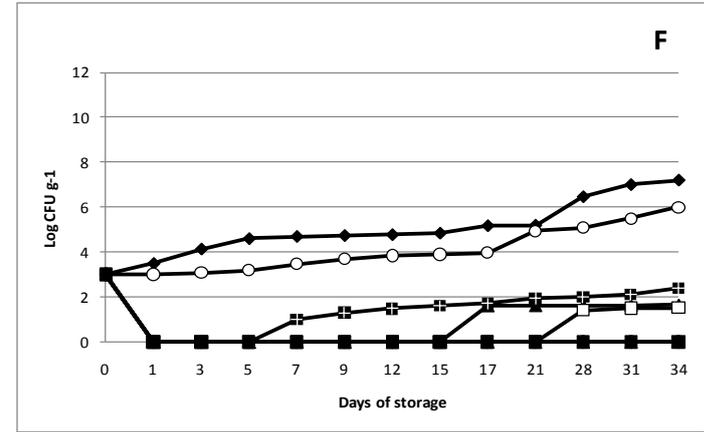
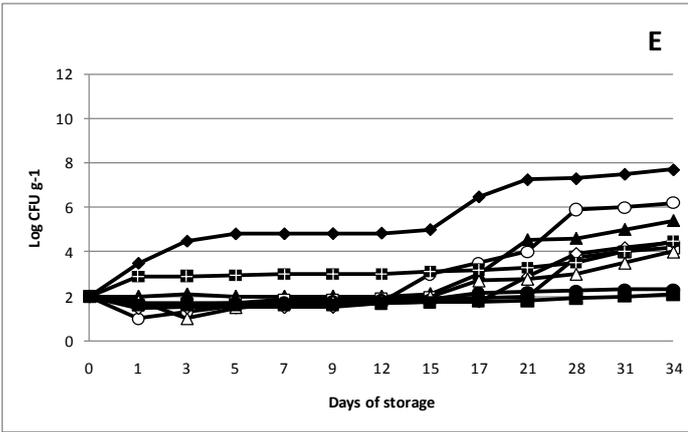
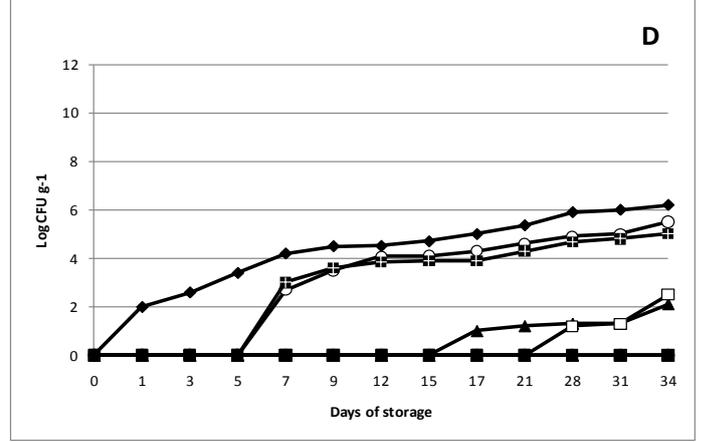
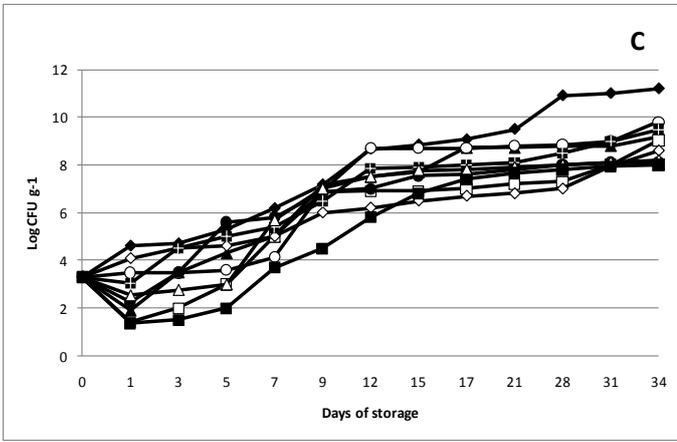
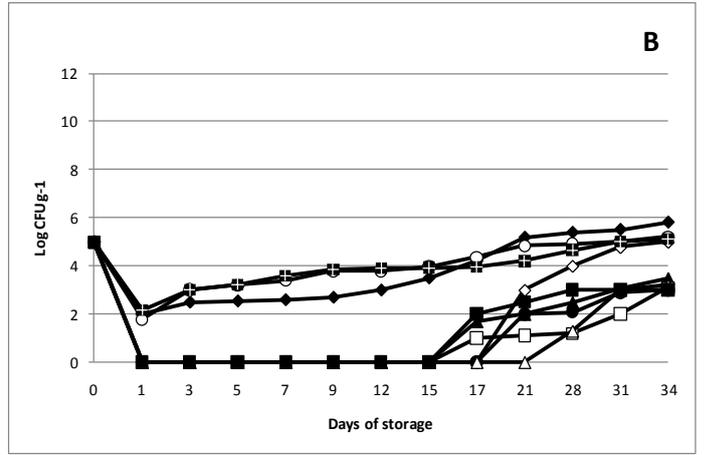
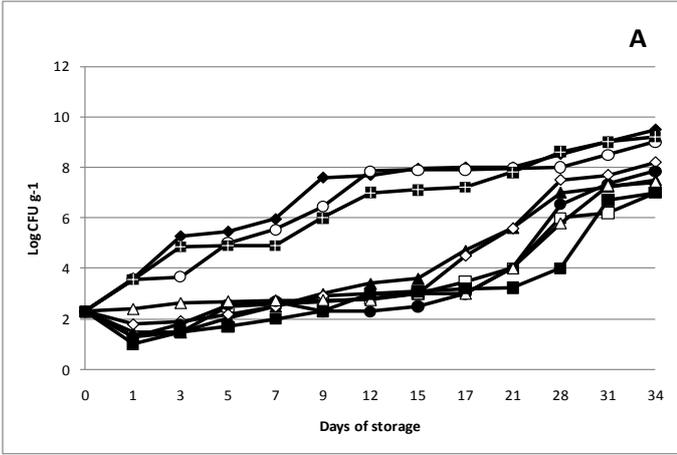
³IC= Initial count (log CFUg⁻¹);

⁴DT= Doubling time (days);

⁵LP = Lag phase (days);

⁶FC= Final Count (log CFUg⁻¹)

⁷- = Not detected



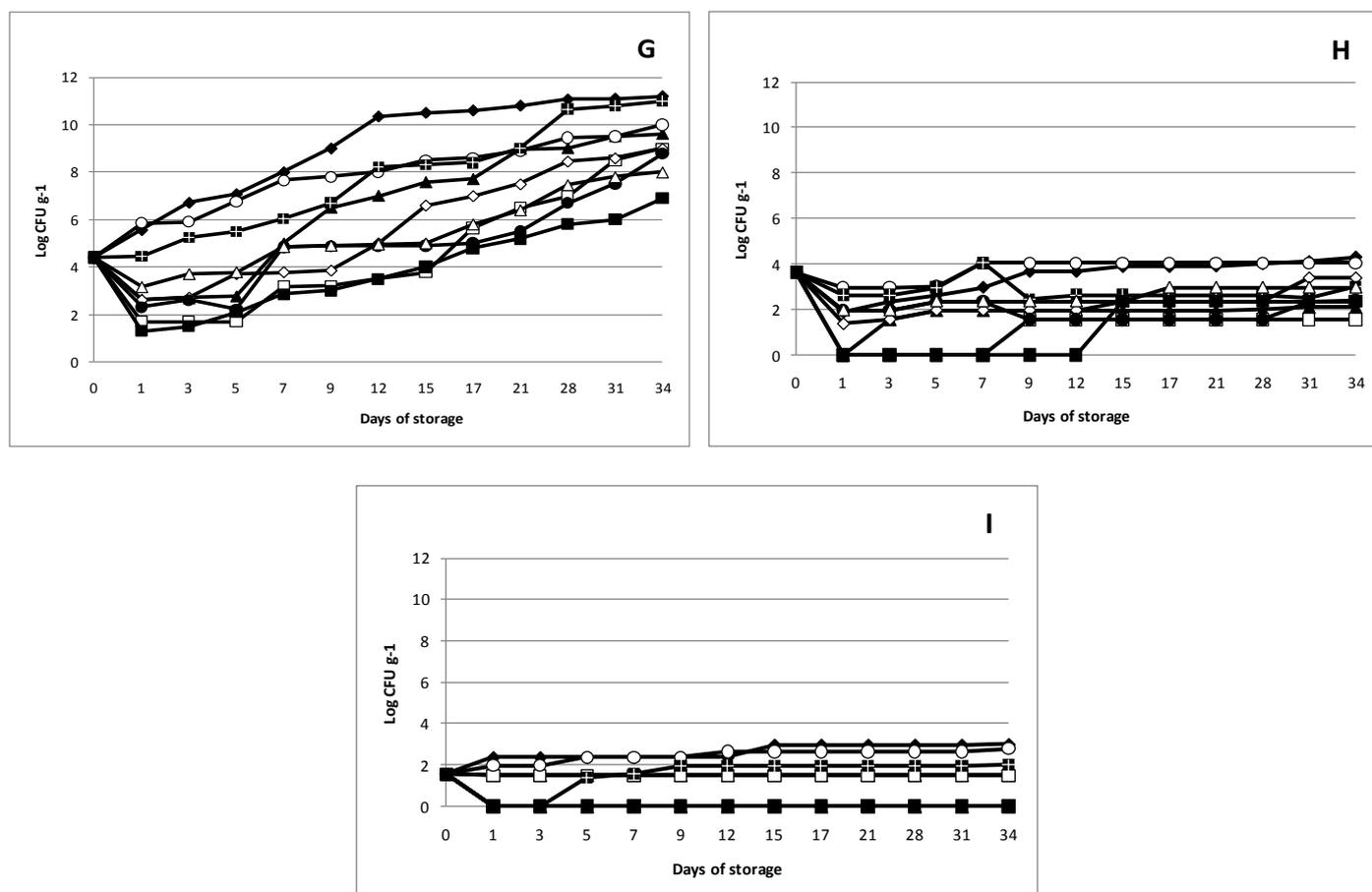


Figure 1- Bacterial growth curves in samples of refrigerated chicken breast fillets exposed to nine different treatments referring to: A- heterotrophic aerobic mesophilic bacteria; B- *Listeria monocytogenes*; C- lactic acid bacteria; D- *Yersinia* spp. ; E- *Aeromonas* spp. ; F- *Enterobacteriaceae* ; G- psychrotrophic aerobic heterotrophic bacteria; H- total coliforms; I- thermotolerant coliform. (Air/0.0 kGy(◆); Air/2.0 kGy (▲); Air/3.0 kGy (□); Vaccum/0.0 kGy (○); Vaccum/2.0 kGy(◇); Vaccum/3.0 kGy (●); MAP/0.0 kGy (▣). MAP/2.0 kGy (△); MAP/3.0 kGy (■)).

Among the bacteria analyzed, *Yersinia* spp. and enterobacteria were only able to develop in nonirradiated samples and in air-packed samples irradiated with both doses. Among nonirradiated samples, this genus showed better growth in air-packed ones, followed by samples packed in vacuum and modified atmosphere, respectively. The resistance of *Yersinia* spp. to carbon dioxide was also evidenced by authors Doherty et al. (1995) who observed that an atmosphere containing high CO₂ concentration was inhibitory to the growth of *Y. enterocolitica* on lamb pieces and

lamb mince. Nissen et al. (2000) also confirmed this resistance in ground beef inoculated with *Y. enterocolitica*.

Regarding enterobacteria, the treatment with high CO₂ concentrations, as well as irradiation in both doses, reduced 3 log cycles, displaying high sensitivity to CO₂. Balamatsia et al. (2006) found that *Enterobacteriaceae* were highly sensitive to gamma radiation and were completely eliminated at all doses (0.5, 1.0 and 2.0 kGy) on fresh skinless chicken breast fillets stored aerobically at 4°C. Likewise, Mantilla et al. (2009a) verified that enterobacteria showed great sensitivity to treatment with ionizing radiation (2.0 and 3.0 kGy). Sensitivity to CO₂ in chicken meat was also found by Sawaya et al. (1995) and Miyagusku (2008).

Listeria monocytogenes

L. monocytogenes was able to develop under all treatments, including high concentrations of carbon dioxide (80%). Other authors have also reported that high CO₂ concentrations were not able to prevent the growth of *L. monocytogenes* in chicken nuggets (Marshall et al., 1992).

In this research, even being inoculated into the chicken fillet samples, *L. monocytogenes* did not prevail in any sample, probably due to bacterial competition and the treatment used in the research. Zhu et al. (2008), who evaluated the effect of radiation on the survival of *L. monocytogenes* in oven-roasted turkey breast, also observed that this pathogen presented slow growth or stopped growing during storage due to competitive microbiota inhibition.

According to Farber and Peterkin (1991) and FDA (2009) the infecting dose of *L. monocytogenes* capable of causing illness is not known and it is believed it may vary according to factors such as bacterial strain and consumer's susceptibility. Among cases of contamination from raw and pasteurized milk it is safe to conclude that, in susceptible people, less than 3.0 log CFU g⁻¹ may result in illness (FDA, 2009). In the present study, when air-packed samples reached their microbiological limit (9th storage day), the counting of *L. monocytogenes* was lower than 3 log CFU g⁻¹ (Fig. 1B). However, when unirradiated vacuum-packed and MAP samples reached the shelf life (12 days), this pathogen had reached 4 log CFU g⁻¹. According to these results, the risk of infection through consumption of chicken meat contaminated by *L. monocytogenes* may not be reduced by the use of vacuum and MAP packaging, once these treatments reduced growth but did not eliminate the pathogen. Similarly,

Wimpfheimer et al. (1990) reported that chicken meat packaging in modified atmosphere (75% CO₂ / 25% N₂) significantly inhibited deteriorating aerobic microbiota, whilst allowing the multiplication of the pathogenic bacterium *L. monocytogenes*.

However, Mano et al. (1995), who studied the growth of this pathogen inoculated in turkey meat packed in MAP (20% CO₂/ 80% O₂ and 40% CO₂/60% O₂) and stored at 1°C verified that *L. monocytogenes* was only able to grow in air-packed samples. This same author deemed that there is little conclusive evidence to suggest MAP represents a greater danger than air-packaging.

The treatment with 2.0 and 3.0 kGy in all packages reduced bacterial counting to non-detected levels. However, despite this reduction, *L. monocytogenes* was not totally eliminated by the irradiation process inasmuch as it resumed growth on the 15th storage day. Nevertheless, a study performed by Huhtanen et al. (1989) indicated that a 2.0 kGy dose was enough to destroy 10⁴ cells of *L. monocytogenes* inoculated on mechanically deboned chicken meat. And Thayer et al. (1998) assured that a moderate inoculum (10³ CFU g⁻¹) did not survive a 3.0 kGy radiation dose.

The radiation treatment was more effective in the reduction of *L. monocytogenes* when associated with MAP or vacuum. However, Thayer and Boyd (1999), when analyzing antilisterial effects of gas mixtures containing 17.2, 40.5 and 64% of CO₂ and of irradiation (0.0 to 2.5 kGy) on turkey meat inoculated with *L. monocytogenes*, observed that irradiation was significantly more lethal in the presence of air than in MAP or vacuum packaging. Moreover, Sommers and Boyd (2006) observed that the application of sublethal doses of ionizing radiation resulted in increased mortality of *L. monocytogenes* during the storage period, regardless of the packaging used.

The combined use of vacuum and MAP with radiation was efficient in the maintenance of low *L. monocytogenes* countings (< 4.0 log CFU g⁻¹) in the samples during the trial. *L. monocytogenes* presented lower final counting in MAP/3kGy and Vacuum/3kGy treatments, probably because LAB presented lower lag phase, multiplying faster, making the development of *L. monocytogenes* more difficult in these samples.

pH changes

Values of pH obtained in this research can be seen in Graph 1, where we can see that pH varied between 5.81 (day 0) and 7.5 (day 34). Similarly, Allen et al. (1997) and Yang and Chen (1993) verified that chicken breast meat pH increased with storage time. Costa (2006) also reported that the pH of turkey meat samples increased during storage, independently of the treatment used (unirradiated vacuum-packed or 1 and 3 kGy irradiated vacuum-packed).

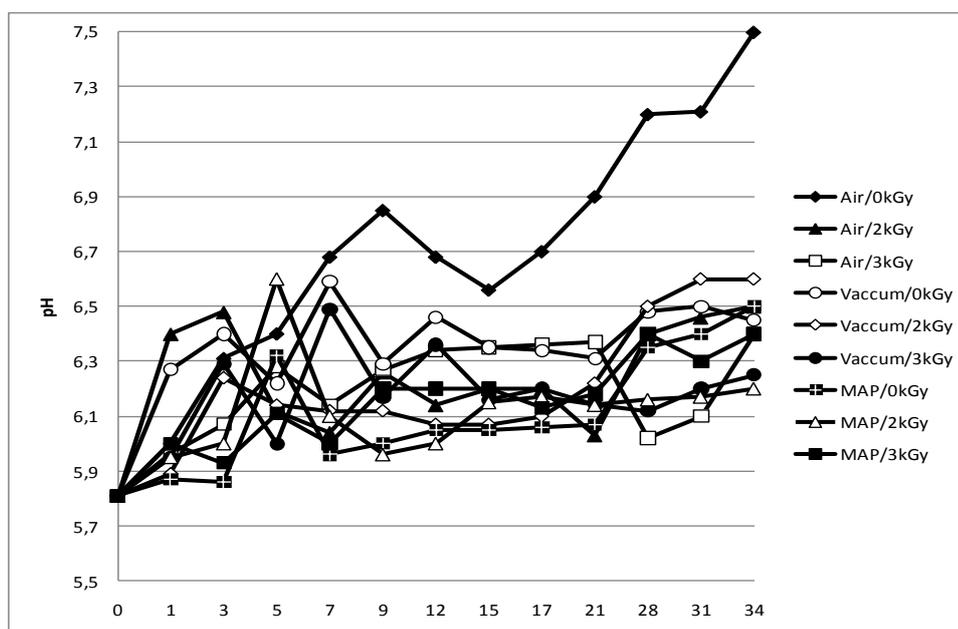


Fig 2. Change in pH of refrigerated chicken breast fillets exposed to nine different treatments during the 34 days of storage at $1^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

A remarkable increase in pH was observed only in air-packed samples, coinciding with food spoilage. In the other treatments, pH remained stable throughout the whole experiment. However, to Miyagusku (2008), the pH values of chicken breast samples packaged in air, vacuum and MAP did not exhibit any significant differences throughout the storage period investigated.

The pH of irradiated MAP fillets varied from 5.81 to 6.4. These results indicate that both MAP and irradiation of samples were efficient in the maintenance of low pH during the 34 days of storage under refrigeration. McMullen and Stiles (1991) have studied the effect of CO_2 enriched atmosphere on food pH and observed pH decreases as a consequence of CO_2 solubility in foods.

In all treatments, final pH was always higher than the initial one. However, Chouliara et al. (2008) observed that pH values of chicken meat packed in modified

atmosphere (30% N₂ /70% CO₂ and 70% N₂ /30% CO₂) and irradiated (2 and 4 kGy), varied between 6.4 (day 0) and 5.9 (day 25). And Patsias (2008) reported that the pH of chicken meat refrigerated at 4°C and packed in MAP (30% CO₂/70% N₂) varied from 6.1 to 5.6 in the final experiment.

CONCLUSION

Irradiation with 2.0 and 3.0 kGy used in combination with modified atmosphere packaging efficiently improved the quality and extended the shelf life of refrigerated chicken breast fillets from 9 days (nonirradiated air-packaged samples) to 31 and 34 days accordingly. *L. monocytogenes* 4b inoculated on chicken fillets was able to grow in all samples, though it did not prevail in any of them. Regarding resistance to gamma radiation and high concentration of carbon dioxide, lactic bacteria were found to be the most resistant, while coliforms and enterobacteria were the most sensitive. The pH tended to increase during meat storage mainly in air packed samples. The combined use of radiation and MAP was efficient in reducing the number of *L. monocytogenes* and in maintaining low countings of this pathogen in cold chicken breast fillet, though it was not able to completely eliminate it. Further studies should be conducted to determine the best mixture of gases and the ideal radiation dose for the elimination of this pathogen.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors gratefully acknowledge Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior for the financial aid in the development of the research and the Section of the Defense Nuclear (Centro Tecnológico do Exército) for authorization and viability of the irradiation process.

REFERENCES

- ALLEN, C.D.; RUSSELL, S.M.; FLETCHER, D.L. The relationship of broiler breast meat color and pH to shelf-life and odor development. **Poultry Science**, v.76, p.1042-1046, 1997.
- AUGUSTIN, J.C. Resistance of *Listeria monocytogenes* to physical exposure. **Pathologie Biologie**, v.44, p.790–807, 1996.

AYMERICH, T.; PICOUET, P.A.; MONFORT, J.M. Decontamination technologies for meat products. **Meat Science**, v.78, p.114–129, 2008.

BALAMATSIA, C.C.; ROGGA, K.; BADEKA, A.; KONTOMINAS, M.G.; SAVVAIDIS, I.N. Effect of Low-Dose Radiation on Microbiological, Chemical, and Sensory Characteristics of Chicken Meat Stored Aerobically at 4°C. **Journal of Food Protection**, v.69, n.5, p.1126-1133, 2006.

BARAKAT, R.K.; HARRIS, L.J. Growth of *Listeria monocytogenes* and *Yersinia enterocolitica* on Cooked Modified-Atmosphere-Packaged Poultry in the Presence and Absence of a Naturally Occurring Microbiota. **Applied and Environmental Microbiology**, v.65, n.1, p.342–345, 1999.

BARANYI, J.; ROBERTS, T.A. A dynamic to predicting bacterial growth in food. **International Journal of Food Microbiology**, v.23, p.277-294, 1994.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal (LANARA). **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. II Métodos Físico-Químicos**. MAPA, Brasília, DF, 1981.

CHOULIARA, E.; BADEKA, A.; SAVVAIDIS, L.; KONTOMINAS, M.G. Combined effect of irradiation and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of chicken breast meat: microbiological, chemical and sensory changes. **European Food Research and Technology**, v.226, n.4, p.877-888, 2008.

CERVENY, J.; MEYER, J.D.; HALL, P.A. Microbiological Spoilage of Meat and Poultry Products. In: SPERBER, W.H.; DOYLE, M.P. **Food Microbiology And Food Safety Series. Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages**. 1 ed. New York: Springer, 2009, p. 69-86.

COSTA, F. **Caracterização do processo de rigor mortis e da macies dos músculos Gastrocnemius e Pectoralis e efeito da radiação gama na vida comercial da carne de peru (Meleagris gallopavo)**. 2006. Niterói, 145 f. Thesis (Doctorate in Veterinary Medicine). Universidade Federal Fluminense.

DEVLIEGHIERE, F.; GEERAERD, A.H.; VERSYCK, K.J.; VANDERWAETERE, B.; VAN IMPE, J.; DEBEVERE, J. Growth of *Listeria monocytogenes* in modified atmosphere packed cooked meat products: a predictive model. **Food Microbiology**, v.18, p.53–66, 2001.

DOHERTY, A.; SHERIDAN, J.J.; ALLEN, P.; MCDOWELL, D.A.; BLAIR, I.S.; HARRINGTON, D. Growth of *Yersinia enterocolitica* O: 3 on modified atmosphere packaged lamb. **Food Microbiology**, v.12, p. 251-257, 1995.

DOHERTY, A.; SHERIDAN, J.J.; MCDOWELL, D.A.; BLAIR, I.S. Survival and growth of *Aeromonas hydrophila* on modified atmosphere packaged normal and high pH lamb. **International Journal of Food Microbiology**, v.28, p.379-392, 1996.

FARBER, J.M. Microbiological aspects of modified-atmosphere packaging technology: a review. *J Food Prot* 54(1):58-70, 1991.

FARBER, J.M.; PETERKIN, P.I. *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. **Microbiological Reviews**, v.55, p.476–511, 1991.

FARKAS, J. Irradiation as a method for decontaminating food: A review. **International Journal of Food Microbiology**, v.44, n.3, p.189-204, 1998.

FDA (2009) Food and Drug Administration. **Bad Bug Book: Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook. *Listeria monocytogenes***. Available in: <<http://www.fda.gov/food/foodsafety/foodborneillness/foodborneillnessfoodbornepathogensnaturaltoxins/badbugbook/ucm070064.htm>>. Accessed in: 02/02/2010.

FRANCO, R.M.; MANTILLA, S.P.M. *Escherichia coli* em corte de carne bovina: avaliação da metodologia aplicada e sensibilidade antimicrobiana dos sorovares predominantes. In: 14° SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E PRÊMIO UFF VASCONCELLOS TORRES DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA, **Anais...** Niterói:UFF, 2004.

GIBSON, A.M.; BRATCHELL, N.; ROBERTS, T.A. The effect of sodium chloride and temperature on the rate and extent of growth of *Clostridium botulinum* type A in pasteurized pork slurry. **Journal of Applied Bacteriology**, v.62, p.479-490, 1987.

GRANT, I.R.; PATTERSON, M.F. Effect of irradiation and modified atmosphere packaging on the microbiological safety of minced pork stored under temperature abuse conditions. **International Journal of Food Science Technology**, v.26, n.5, p.521- 533, 1991.

HUHTANEN, C.N.; JENKINS, R.K.; THAYER, D.W. Gamma radiation sensitivity of *Listeria monocytogenes*. **Journal of Food Protection**, v.52, n.9, p.610-613, 1989.

JAY, J.M. **Microbiologia de alimentos**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711 p.

LEE, M.; SEBRANEK, J.G.; OLSON, D.G.; DICKSON, J.S. Irradiation and packaging of fresh meat and poultry. **Journal of Food Protection**, v.59, p.62–72, 1996.

LESCANO, G.; NARVAIZ, P.; KAIRIYAMA, E.; KAUPERT, N. Effect of chicken breast irradiation on microbiological, chemical and organoleptic quality. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v.24, n.2, p.130-134, 1991.

MCMAHON, M.A.S. The expression of proteinases and haemolysins by *Aeromonas hydrophila* under modified atmospheres. **Journal of Applied Microbiology**, v.89, p.415-422, 2000.

MCMULLEN, L.M.; STILES, M.E. Changes in microbial parameters and gas composition during modified atmosphere storage of fresh pork loin chops. **Journal of Food Protection**, v.54, p.778-783, 1991.

MANO, S.B.; GARCIA DE FERNANDO, G.D.; LOPEZ-GALVEZ, D.; SELGAS, M.D.; GARCIA, M.L.; CAMBERO, M.I.; ORDOÑEZ, J.A. Growth/Survival of Natural Flora and *Listeria Monocytogenes* on Refrigerated Uncooked Pork and Turkey Packaged Under Modified Atmospheres. **Journal of Food Safety**, v.15, n.4, p.305 – 319, 1995.

MANO, S.B.; ORDOÑEZ, J.A.; GARCIA DE FERNANDO, G.D. Growth/survival of natural flora and *Aeromonas hydrophila* on refrigerated uncooked pork and turkey packaged in modified atmospheres. **Food Microbiology**, v.17, p.657-669, 2000.

MANTILLA SPS. **Listeria spp. em carne pré-moída bovina: isolamento, sorologia, sensibilidade das cepas aos antimicrobianos e relação com a presença de sulfito de sódio.** 2006. Niterói, 115 f. Dissertation (Master's degree in Veterinary Medicine), Universidade Federal Fluminense.

MANTILLA, S.P.S.; FRANCO, R.M.; OLIVEIRA, L.A.T.; SANTOS, E.B.; GOUVÊA, R. Importância da *Listeria monocytogenes* em alimentos de origem animal. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, v.14, n.1, p.180-192, 2007.

MANTILLA, S.P.S.; SANTOS, E.B.; CONTE JUNIOR, C.A.; MANO, S.B.; VITAL, H.C.; FRANCO, R.M. Bactérias deteriorantes em filés de frango embalados em ar, vácuo e irradiados: parâmetros bacteriológicos de crescimento e prazo comercial. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.39, p.1 – 7, 2009a.

MANTILLA, S.P.S.; SANTOS, E.B.; MANO, S.B.; VITAL, H.C.; FRANCO, R.M. Bactérias Aeróbias Mesófilas, Coliformes e Enterobactérias em Filé de Frango Embalado e Irradiado. In: V CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE CARNES, **Anais...**, Campinas, SP, Brazil, p.1 – 3, 2009b.

MARSHALL, D.L.; ANDREWS, L.S.; WELLS, J.H.; FARR, A.J. Influence of modified atmosphere packaging on the competitive growth of *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonas fluorescens* on precooked chicken. **Food Microbiology**, v.9, p.303-309, 1992.

MERCK. **Microbiology Manual**. Berlin, Germany, 2000, 407 p.

MIYAGUSKU, L. **Influencia da radiação ionizante (60Co) na manutenção da qualidade físico-química, microbiológica e sensorial de cortes de coxa e file de peito de frango acondicionado em diferentes sistemas de embalagens.** 2008. Campinas, 181 f. Thesis (Doctorate in Food Technology), Universidade Estadual de Campinas.

NISSEN, H.; ALVSEIKEB, O.; BREDHOLTA, S.; HOLCKA, A.; NESBAKKENC, T. Comparison between the growth of *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. in ground beef packed by three commercially used packaging techniques. **International Journal of Food Microbiology**, v.59, p.211–220, 2000.

NYCHAS, G.E.; SKANDAMIS, P.N.; TASSOU, C.C.; KOUTSOUMANIS, K.P. Meat spoilage during distribution. **Meat Science**, v.78,p.77–89, 2008.

OLIVEIRA, A.L.; PEREIRA, M.T.; BUENO, P.H.S.; OLIVEIRA, R.B.P.; PINTO, F.C.; CORREIA, R.F.; MACHADO, M.M. Qualidade microbiologica da carne de frango irradiada em embalagem convencional e a vácuo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.5, p.1210-1217, 2009.

PATSIAS, A.; CHOULIARA, I.; BADEKA, A.; SAVVAIDIS, I.N.; KONTOMINAS, M.G. Shelf-life of a chilled precooked chicken product stored in air and under modified atmospheres: microbiological, chemical, sensory attributes. **Food Microbiology**, v.23, p.423–429, 2006.

PATSIAS, A.; BADEKA, A.V.; SAVVAIDIS, I.N.; KONTOMINAS, M.G. Combined effect of freeze chilling and MAP on quality parameters of raw chicken fillets. **Food Microbiology**, v.25, p.575–581, 2008.

SAMELIS, J.; KAKOURI, A., REMENTZIS, J. Selective effect of the product type and the packaging conditions on the species of lactic acid bacteria dominating the spoilage microbial association of cooked meats at 4 °C. **Food Microbiology**, v.17, p.329–340, 2000.

SAWAYA, W.N.; ELNAWAWY, A.S.; ABURUWAIDA, A.S.; KHALAFAWI, S.; DASHTI, B. Influence of modified atmosphere packaging on shelf-life of chicken carcasses under refrigerated storage-conditions. **Journal of Food Safety**, v.15, n.1, p.35-51, 1995.

SEELINGER, H.P.R.; JONES, D. Genus *Listeria*. In: SNEATH, P.H.A. et al. **Bergey's Manual of Sistematic Bacteriology**. 9 ed. Baltimore: Willians e Wilkins, 1996, p. 1235-1245.

SOLDATOU, N.; NERANTZAKI, A.; KONTOMINAS, M.G.; SAVVAIDIS, I.N. Physicochemical and microbiological changes of "Souvlaki"- a Greek delicacy lamb meat product: evaluation of shelf-life using microbial, colour and lipid oxidation parameters. **Food Chemistry**, v.113, p.36–42, 2009.

SOMMERS, C.H.; BOYD, G. Radiation Sensitivity and Postirradiation Growth of Foodborne Pathogens on a Ready-to-Eat Frankfurter on a Roll Product in the Presence of Modified Atmosphere and Antimicrobials. **Journal of Food Protection**, v.69, n.10, p. 2436-2440, 2006.

SPOTO, M.H.F.; GALLO, C.R.; ALCARDE, A.R.; GURGEL, M.S.A.; BLUMER, L.; WALDER, J.M.M.; DOMARCO, R.E. Gamma irradiation in the control of pathogenic bacteria in refrigerated ground chicken meat. **Science Agricola**, v.57, n.3, p.389-394, 2000.

THAYER, D.W.; BOYD, G.; KIM, A.; FOX, J.B.; FARRELL, H.M. Fate of Gamma-Irradiated *Listeria monocytogenes* during Refrigerated Storage on Raw or Cooked Turkey Breast Meat. **Journal of Food Protection**, v.61, n.8, p.979-987, 1998.

THAYER, D.W.; BOYD, G. Irradiation and modified atmosphere packaging for the control of *Listeria monocytogenes* on turkey meat. **Journal of Food Protection**, v.62, p.1136–42, 1999.

VAIKOUSI, H.; BILIADERIS, C.G.; KOUTSOUMANIS, K.P. Applicability of a microbial Time Temperature Indicator (TTI) for monitoring spoilage of modified atmosphere packed minced meat. **International Journal of Food Microbiology**, v.133, p.272–278, 2009.

VITAL, H.C.; FREIRE JÚNIOR, M. A irradiação de alimentos In: ROSENTHAL, A. **Tecnologia de Alimentos e Inovação: Tendências e Perspectivas**. 1 ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008, p. 1-193.

WIMPFHEIMER, L.; ALTMAN, N.S.; HOTCHKISS, J.H. Growth of *Listeria monocytogenes* Scott A, serotype 4 and competitive spoilage organisms in raw chicken packaged under modified atmospheres and in air. **International Journal of Food Microbiology**, v.11, n.3-4, p.205-214, 1990.

YANG, C.C.; CHEN, T.C. Effects of refrigerated storage, pH adjustment, and marinade on color raw and microwave cooked chicken meat. **Poultry Science**, v.72, p.355-362, 1993.

ZHU, M.J.; MENDONCA, A.; ISMAIL, H.A.; AHN, D.U. Effects of Irradiation on Survival and Growth of *Listeria monocytogenes* and Natural Microflora in vacuum-Packaged Turkey Hams and Breast Rolls. **Poultry Science**, v.87, p.2140-2145, 2008.

ZHU, M.; CORDRAY, J.M.D.; AHN, D.U. Control of *Listeria monocytogenes* Contamination in Ready-to-Eat Meat Products. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.4, p.34-42, 2005.

3.6 ACEITAÇÃO SENSORIAL DE FILÉS DE FRANGO RESFRIADOS EMBALADOS EM ATMOSFERA MODIFICADA E IRRADIADOS.

ACEITAÇÃO SENSORIAL DE FILÉS DE FRANGO RESFRIADOS EMBALADOS EM ATMOSFERA MODIFICADA E IRRADIADOS.

Samira Pirola Santos Mantilla^{1*}
Érica Barbosa Santos²
Mônica Queiroz de Freitas³
Sérgio Borges Mano³
Helio de Carvalho Vital⁴
Robson Maia Franco³

RESUMO

O uso combinado da embalagem em atmosfera modificada e do processo de irradiação pode aumentar a validade comercial de filés de frango resfriados, entretanto, não devem alterar as características sensoriais do alimento. Nesse estudo verificou-se a aceitação sensorial em relação aos atributos cor, impressão global, sabor e odor de filés de frango resfriados embalados em ar, a vácuo ou em atmosfera modificada (80% CO₂/ 20% N₂) e irradiados (0,0, 2,0 e 3,0 kGy) antes e após a embalagem em atmosfera modificada. O teste de aceitação foi verificado logo após o processo de irradiação e no último dia da validade comercial. Para a análise estatística dos resultados utilizou-se o programa SAS para calcular a ANOVA com delineamento inteiramente casualizado ao nível de 5% de significância e o teste de Tukey. Após a irradiação a amostra embalada em atmosfera modificada e não irradiada foi rejeitada em relação à cor e impressão global e a amostra embalada a vácuo e não irradiada não apresentou impressão global desejável. As amostras não irradiadas foram menos aceitas pelos julgadores, enquanto as irradiadas apresentaram uma coloração rósea mais desejável. As amostras irradiadas a 3,0 kGy antes da embalagem em atmosfera modificada e as embaladas em aerobiose e irradiadas a 2,0 kGy foram rejeitadas para o atributo sabor logo após o processo de irradiação. Quanto ao odor das amostras cozidas, após a radiação, somente as amostras irradiadas a 2,0 e 3,0 kGy antes da embalagem em atmosfera modificada foram rejeitadas pelos julgadores, logo, a irradiação antes da embalagem alterou o odor da carne de frango. A utilização da embalagem em atmosfera modificada e irradiada a 3,0 kGy ou da

¹¹ Doutoranda em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, CEP 24230-340, Niterói – RJ, Brasil * Autor para correspondência. E-mail: samiramantilla@yahoo.com.br

² Mestranda em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, CEP 24230-340, Niterói – RJ, Brasil

³ Professor (a) Doutor (a) do Departamento de Tecnologia de Alimentos. Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, CEP 24230-340, Niterói – RJ, Brasil

⁴ Pesquisador do Centro Tecnológico do Exército, Divisão DDQBN, Guaratiba, Rio de Janeiro-RJ

embalagem a vácuo e irradiada a 3,0 kGy pode ser utilizada para aumentar a validade comercial de filés de frango resfriados, sem alterar as características de sabor e odor, tornando-os mais atraente em relação à cor e impressão global.

Palavras-chave: peito de frango, embalagem, gás carbônico, radiação gama, sensorial

SENSORY ACCEPTANCE OF REFRIGERATED CHICKEN FILLETS PACKED IN MODIFIED ATMOSPHERE AND IRRADIATED.

ABSTRACT

The combined technology of packaging and irradiation can provides an increase in its shelf life, however, the sensory attributes shouldn't be changed as a result of technological treatments. The aim of this study was to evaluate the sensory acceptance in relation to color, overall impression, flavour and aroma of refrigerated chicken fillets air-, vacuum- or modified atmosphere-packed (80% CO₂ / 20% N₂) and irradiated (0,0, 2.0 and 3.0 kGy) before and after the modified atmosphere packaging. The acceptance test was observed after the irradiation process and the last day of shelf life and for the statistical analysis was used the SAS program to calculate the ANOVA and Tukey's test. After irradiation the nonirradiated modified atmosphere-packed sample was rejected of the color and overall impression and the nonirradiated vaccum-packed sample showed no overall impression desirable. The nonirradiated samples were less accepted by the judges, while the irradiated showed a more desirable pink color. The samples irradiated at 3.0 kGy prior to modified atmosphere packaging and the air-packed samples and irradiated at 2.0 kGy were rejected for the attribute flavour after the irradiation process. As for the odor of cooked samples after radiation, only samples irradiated at 2.0 and 3.0 kGy prior to modified atmosphere packaging were rejected by the judges, so the irradiation before the package alters the odor of chicken meat. The use of modified atmosphere packaging and irradiated at 3.0 kGy or vacuum packaging and irradiated at 3.0 kGy can be used to increase the shelf life of refrigerated chicken fillets without changing the characteristics of taste and odor, making them more attractive in relation to color and overall impression.

Keywords: chicken breast, packaging, carbon dioxide, gamma radiation, sensory

INTRODUÇÃO

O consumo de carne de frango vem crescendo continuamente devido às suas características nutricionais e preço relativamente acessível para a população, quando comparada com outras fontes de proteína animal. O Brasil é um grande produtor e exportador de carne de frangos, sendo, portanto, a avicultura de grande relevância financeira e social para o país, pela geração de capital e empregos no setor agroindustrial.

A combinação de tecnologias de embalagem e irradiação pode aumentar o prazo comercial de carne de frango resfriada, resultando em maior rentabilidade para a indústria alimentícia. Porém, esses processos não podem alterar as características sensoriais originais do produto, sendo necessária a realização de testes de aceitação sensorial.

A Análise Sensorial é uma ciência que visa, entre outras, avaliar a aceitação de produtos no mercado, pesquisando os gostos e as preferências dos consumidores (1). As principais aplicações dos testes afetivos são a manutenção da qualidade do produto, otimização de produtos e/ou processos e o desenvolvimento de novos produtos (2).

O desenvolvimento de novos processos de conservação dos alimentos tem sido impulsionado pela necessidade de estender a validade comercial dos alimentos, mantendo a sua segurança microbiológica. Vários métodos de conservação que têm sido aceitos pelos consumidores, tais como o tratamento térmico e congelamento, entretanto, são freqüentemente associados a alterações nas características sensoriais do produto (3). Assim, novas tecnologias têm sido investigadas, incluindo a Embalagem em Atmosfera Modificada (EAM), embalagem a vácuo isoladamente ou em combinação com outros procedimentos como a irradiação (4).

Tanto a atmosfera modificada como o processo de irradiação podem ocasionar alterações nas características sensoriais dos alimentos quando utilizadas isoladamente. A primeira devido às altas concentrações de gás carbônico que podem tornar o alimento mais pálido e com mais exudato e o segundo devido ao desenvolvimento de uma coloração avermelhada do frango e de odor e sabor alterados. A combinação dessas duas tecnologias pode minimizar essas alterações auxiliando na elaboração de alimentos seguros ao consumidor e com suas características originais mantidas.

O CO₂ é um gás solúvel em água e em gorduras e é o principal responsável pelo efeito bacteriostático em EAM. Todavia, embalagens contendo altas concentrações de CO₂ podem ocasionar o aumento do exudato da carne fresca (5) e podem provocar a descoloração em

carnes vermelhas e de aves, embora desapareça rapidamente depois da abertura da embalagem (6).

A irradiação é um método efetivo para a redução microbiana, no entanto, alguns pesquisadores relataram efeitos indesejáveis na qualidade de carnes frescas devido à alteração da cor, variando de acordo com a dose de irradiação empregada, com as espécies animais, e com a composição da embalagem utilizada (7,8). Essas alterações sensoriais aumentam com a dose de irradiação e, normalmente, definem o limite de dose de irradiação empregado (3).

As alterações no sabor de alimentos irradiados devido à oxidação dos lipídios estão entre as principais preocupações da irradiação de carne. A irradiação produz compostos voláteis responsáveis pelo odor de irradiação (9). Quando usada sozinha, pode causar o desenvolvimento de alterações sensoriais indesejáveis em alguns alimentos, dependendo da dose absorvida e as condições de irradiação. Uma forma de evitar essas mudanças é a utilização da irradiação em combinação com outros métodos de conservação de alimentos, como atmosfera modificada e embalagem a vácuo. (10). Esta tecnologia combinada pode ser particularmente útil quando aplicada em alimentos que são sensíveis às alterações sensoriais ocasionadas pela irradiação, mesmo em doses relativamente baixas (11).

Outros métodos para diminuir os efeitos prejudiciais da radiação incluem a adição de agentes de proteção (antioxidantes) e armazenamento aeróbico pós-irradiação para permitir que o sabor volte a ser original (re-acondicionamento ou dupla embalagem em película permeável ao oxigênio) (12).

Tendo em vista as vantagens do uso combinado de embalagem em atmosfera modificada com a irradiação no aumento da validade comercial e inocuidade de carnes de aves (13-15) objetivou-se verificar a aceitação sensorial de filés de peito de frango resfriados embalados em ar, vácuo e atmosfera modificada e irradiados, logo após o processo de irradiação e no último dia da validade comercial. Além disso, analisar se a EAM antes e após o processo de irradiação influencia na aceitação sensorial de filés de frango resfriados.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi dividido em duas etapas. Na primeira, foram obtidos 10,0 Kg de filés de peito de frango resfriados em comércio varejista no município de Niterói, RJ, sendo transportados em caixa de polímero expandido com gelo para o Laboratório de Controle Microbiológico de Produtos de Origem Animal do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal Fluminense, onde foram divididos assepticamente em bifés e

acondicionados em embalagens de nylon-poli da marca Gabrilina com estrutura multicamadas de baixa permeabilidade ao oxigênio (TPO₂ 60 cm³/m².dia). A mistura de gases utilizada foi 80% CO₂/ 20% N₂. Foram formados onze grupos: 1) grupo controle, onde as embalagens foram preenchidas com ar atmosférico (Ar/0,0 kGy); 2) grupo vácuo, onde foi removido o ar contido na embalagem (Vácuo/0,0 kGy); 3) grupo embalado em ar e irradiado a 2,0 kGy (Ar/2,0 kGy); 4) grupo embalado a vácuo e irradiado a 2,0 kGy (Vácuo/2,0 kGy); 5) grupo embalado em ar e irradiado a 3,0 kGy (Ar/3,0 kGy) e 6) grupo embalado a vácuo e irradiado a 3,0 kGy (Vácuo/3,0 kGy); 7) grupo embalado em atmosfera modificada (ATM/0,0 kGy); 8) grupo embalado em atmosfera modificada e irradiado a 2,0 kGy (ATM/2,0 kGy); 9) grupo embalado em atmosfera modificada e irradiado a 3,0 kGy (ATM/3,0 kGy); 10) grupo embalado a vácuo, irradiado a 2,0 kGy e embalado em atmosfera modificada (2,0 kGy/ATM) e 11) grupo embalado a vácuo, irradiado a 3,0 kGy e embalado em atmosfera modificada (3,0 kGy/ATM); sendo termo-soldadas. As amostras foram, então, estocadas em geladeira a 1°C ± 1°C durante todo o experimento.

Para verificar o limite microbiológico (7,0 log UFC/g) foi realizada a contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas de acordo com a metodologia descrita por Brasil (16) utilizando-se o meio de plaqueamento Ágar Padrão para Contagem (APC) através da técnica de semeadura em profundidade. As placas foram incubadas em estufa a 35-37°C por 24 a 48 h. A contagem foi realizada com auxílio de um contador de colônias tipo “Quebec”.

A análise sensorial foi realizada com as amostras cruas e embaladas e foi feita logo após o processo de irradiação e no último dia de validade comercial (contagem bacteriana de 7 log UFC/g). As amostras tratadas Ar/0,0 kGy, Vácuo/0,0 kGy, ATM/0,0 kGy, Ar/2,0 kGy, Vácuo/2,0 kGy, ATM/2,0 kGy, Ar/3,0 kGy, Vácuo/3,0 kGy, 2,0 kGy/ATM, 3,0 kGy/ATM e ATM/3,0 kGy, atingiram o limite microbiológico nos dias: 5, 7, 7, 9, 9, 10, 10/11, 12, 12, 12 e 16 respectivamente.

A análise sensorial consistiu em testes de aceitação, onde observaram-se as variáveis cor e impressão global das amostras cruas embaladas pelos diferentes tratamentos citados, as quais foram oferecidas apresentadas de forma monódica e em ordem aleatorizada a 33 julgadores não treinados. As fichas utilizadas para a análise foram as sugeridas por Stone e Sidel (16), onde utilizou-se uma escala hedônica variando de 1- gostei extremamente até 9- desgostei extremamente. Para a análise estatística dos resultados utilizou-se o programa SAS para calcular a ANOVA com delineamento inteiramente casualizado ao nível de 5% de significância e o teste de Tukey.

A segunda etapa do experimento foi semelhante à primeira. Porém, foram adquiridos 25,0 Kg de filés de peito de frango resfriados em mercado varejista e a análise sensorial foi realizada com as amostras cozidas em forno elétrico, submersas em salmoura a 1% de sal e também consistiu em testes de aceitação, sendo que as variáveis observadas foram sabor e odor das amostras cozidas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Cor

Em relação à aceitação sensorial, no atributo cor, logo após à irradiação, através da Tabela 1, observa-se que todos os filés irradiados apresentaram uma coloração mais atraente. Do mesmo modo, Lewis et al. (17) concluíram que a irradiação na dose de 1,0 kGy melhorou a cor dos filés de peito de frango. A amostra que apresentou maior aceitação pelos julgadores foi a 2,0 kGy/ATM, porém, entre essa e as outras amostras irradiadas não houve diferença significativa ao nível de significância 5%.

As amostras Vácuo/2,0 kGy, ATM/3,0 kGy e Ar/3,0 kGy não diferiram das amostras controle embalada em ar, o que demonstra que a irradiação na dose de 3,0 kGy sob atmosfera modificada, ou sob ar não alterou a cor do alimento. Do mesmo modo, Kanatt et al. (18) após irradiar carne de frango na dose de 2,5 kGy não verificaram alterações nos atributos sensoriais como aparência, coloração e odor. Relatos semelhantes foram comentados por Souza et al. (19) que ao estudarem a influência da radiação nos teores de ferro heme, cor e pigmentos totais de coxa e filé de peito de frango irradiados nas doses 0,0, 1,0 e 2,0 kGy, verificaram que a cor não foi influenciada pelas doses estudadas, somente pela estocagem, e os pigmentos totais foram afetados tanto pela irradiação quanto pelo tempo, diminuindo seus valores com o aumento do tempo de armazenamento.

Não houve diferença significativa ao nível de significância 5% entre as amostras 2,0 kGy/ATM e ATM/2,0 kGy e nem entre as amostras 3,0 kGy/ATM e ATM/3,0 kGy. Portanto, a irradiação, aplicada antes ou depois da embalagem em atmosfera modificada não influenciou na cor das amostras.

Somente a amostra ATM/0,0 kGy foi rejeitada em relação à cor e a amostra Vácuo/0,0 kGy foi indiferente. Esta rejeição pode ser explicada pela alta concentração de CO₂ (80%) utilizada na embalagem, o que ocasiona uma palidez na carne de frango conforme relatado por Parry (6). Quando as amostras embaladas em atmosfera modificada foram irradiadas, a coloração melhorou, provavelmente pela aparência mais avermelhada dos filés irradiados,

conforme citado também por Nanke et al. (8) que observaram alterações na cor da carne suína e de peru irradiadas nas doses de 1,5 kGy, 3,0 kGy, 4,5 kGy, 7,5 kGy, e 10,5 kGy, as quais apresentaram-se avermelhadas devido a irradiação. Nam e Ahn (20) reportaram que o pigmento formado pela mioglobina com o monóxido de carbono (COmioglobina) é responsável pela cor rosa da carne de frango irradiada através do monóxido de carbono produzido pela irradiação. Kim et al. (9) também sugeriram que o desenvolvimento da cor vermelha em carnes irradiadas é devido a produção de gás, especialmente CO. Resultados semelhantes foram encontrados por Millar et al. (21), que verificaram uma maior vermelhidão nos peitos de frango irradiados a 5,0 kGy quando comparados com os controles não irradiados. Estes autores concluíram que a radiação ionizante ocasiona alteração na coloração da carne de ave o qual é dependente da espécie, do tipo de músculo e da superfície analisada. O efeito comum em todas as espécies foi produzir uma coloração mais avermelhada na superfície de corte. Toledo et al. (22) ao analisarem peito de frango irradiados em relação à coloração, nas doses de 2,0, 4,0, 6,0 e 8,0 kGy, também observaram diferenças entre as amostras, sendo que a dose de 6,0 kGy não diferiu significativamente da não irradiada e da irradiada a 8,0 kGy.

No último dia da validade comercial, as amostras 3,0 kGy/ATM, ATM/0,0 kGy, Ar/2,0 kGy e Ar/3,0 kGy foram rejeitadas pelos julgadores. A amostra ATM/3,0 kGy foi indiferente. A amostra embalada em Vácuo/3,0 kGy apresentou maior aceitação pelos julgadores, porém, não foi diferente significativamente das outras amostras aceitas, inclusive da amostra controle não irradiada. A irradiação das amostras embaladas em aerobiose diminuiu a aceitação dos julgadores quando comparada com a não irradiada. Logo, a irradiação sob atmosfera modificada ou a vácuo foi mais eficaz na manutenção de uma coloração da carne de frango mais desejável.

Entretanto, Miyagusku (14) observou que após a radiação de amostras de peito de frango, as diferenças na coloração rósea mais intensa, ao longo do armazenamento, foram atenuadas. E verificaram que a cor rósea do tratamento controle (ar não irradiado) permaneceu estável por um tempo mais prolongado e foi dose dependente, ou seja, quanto maior a dose maior foi a estabilidade da cor.

A irradiação das amostras EAM melhorou a coloração dos filés de frango, pois a amostra ATM/0,0 kGy apresentava-se pálida. Miyagusku (14) também verificou uma interação do sistema de embalagem (30% N₂ e 70% CO₂) com a irradiação (1,5; 3,0; 5,0; 7,0 kGy) na manutenção da estabilidade da cor rósea.

A amostra ATM/3,0 kGy apresentou diferença significativa entre o 3,0 kGy/ATM, comprovando que a embalagem antes da radiação na dose de 3,0 kGy favoreceu a coloração da amostra. Entretanto, não houve diferença entre os tratamentos ATM/2,0 kGy e 2,0 kGy/ATM.

Impressão global

Observando os resultados da impressão global dos filés embalados, logo após o processo de irradiação (Tabela 2), verifica-se que as amostras Vácuo/0,0 kGy e ATM/0,0 kGy foram rejeitadas pelos consumidores. A utilização de CO₂ em altas concentrações pode ocasionar o aumento do “drip” da carne fresca segundo Church e Parsons (5), o que pode ter auxiliado na rejeição por parte dos julgadores. Todas as amostras irradiadas foram aceitas, sendo que a amostra 2,0 kGy/ATM foi considerada a mais atraente em relação à impressão global, porém não diferiu das outras amostra irradiadas. As amostras irradiada stambém não diferiram da amostra controle (Ar/0,0 kGy), com exceção do tratamento 2,0 kGy/ATM. Do mesmo modo Hashim et al. (23), ao investigarem os efeitos da irradiação de peito e coxa de frango refrigerados sobre as propriedades sensoriais, verificaram que a irradiação não afetou a aparência (umidade e brilho) do frango cru.

A irradiação melhorou a aparência dos filés de frango resfriados independente do tipo de embalagem utilizada. Entretanto, Abu-Tarboush et al. (24) constaram que a irradiação de carne de frango nas doses de 2,5, 5,0, 5,7 e 10,0 kGy provocou pequenas alterações na aceitação do produto em relação à aparência, odor, textura e sabor.

No último dia do prazo comercial, somente as amostras Vácuo/2,0 kGy, ATM/2,0 kGy e Vácuo/3kGy foram aceitas e não diferiram entre si. Esse resultado deve ter ocorrido pela característica indesejável de limosidade superficial dos filés embalados em ar e a vácuo não irradiados. A amostra ATM/0,0 kGy foi indiferente, logo, a irradiação a 2,0 kGy auxiliou na melhor aparência do produto embalado em atmosfera e a irradiação nas duas doses melhorou a aceitação das amostras embaladas a vácuo.

Em relação à impressão global, logo após a irradiação, também não houve diferença significativa entre as amostras irradiadas a 2,0 kGy e a 3,0 kGy antes ou depois da embalagem em atmosfera modificada, Entretanto, no último dia da validade comercial, houve diferença significativa entre as amostras embaladas antes ou após o processo de irradiação nas duas doses estudadas, sendo que a embalagem antes da radiação favoreceu a aparência global do alimento analisado.

Sabor

Observa-se na Tabela 3, que somente os tratamentos 3,0 kGy/ATM e Ar/2,0 kGy foram rejeitados pelos consumidores, logo após a irradiação das amostras. O tratamento ATM/0,0 kGy recebeu a melhor pontuação, mas não foi estatisticamente diferente das amostras aceitas, o que demonstra que a irradiação pode ser usada em conjunto com a embalagem de atmosfera modificada sem alterar o sabor do filé de frango refrigerado. A maior aceitação das amostras embaladas em atmosfera modificada pode ser explicada pelo fato de que altas concentrações de CO₂ podem provocar um aumento no “drip” da carne (5), tornando o produto mais suculento e macio.

Abu-Tarboush et. al. (24) também relataram que todas as doses de irradiação (2,5-10,0 kGy) tiveram pouco efeito sobre a aceitabilidade sensorial (aparência, odor, textura, sabor) de carne de frango crua (peito e coxa). Kanatt, et. al. (25) observaram que a aparência, o sabor e a textura de carne de frango irradiada (1,0-3,0 kGy) não foram diferentes do seu controle não irradiado e todas as amostras foram aceitas pelos julgadores. Lewis et. al. (17) também não encontraram diferenças, no dia 0, entre os tratamentos (carne de frango embalados em ar, e irradiado com 1,0 e 1,8 kGy) para a aparência, textura, sabor e aceitação global. Entretanto, Toledo et. al. (22) verificaram que o tratamento por irradiação (2,0, 4,0, 6,0 e 8,0 kGy) promoveu alterações na qualidade sensorial de peitos de frango embalados em ar e irradiados com 8 kGy, o que fez quebradiços, bem como a menos típico. Essa diferença se explica pela maior dose de radiação utilizada por Toledo e colaboradores.

Conforme os resultados obtidos no teste de aceitação, no último dia do prazo comercial, apenas a amostra 2,0 kGy/ATM foi rejeitada no atributo sabor. As amostras Vácuo/3,0 kGy e 3,0 kGy/ATM foram as menos preferidas e a amostra Ar/3,0 kGy foi a mais preferida, porém não foi estatisticamente diferente dos demais tratamentos, inclusive da amostra controle. A irradiação das amostras embaladas em aerobiose na dose de 3,0 kGy proporcionou a aceitação do produto pelos julgadores, porém, quando os filés foram embalados a vácuo ou ATM, a irradiação reduziu a aceitação sensorial desse alimento. Estes resultados corroboram os encontrados por Kanatt et. al. (25) os quais observaram que, ao final do período de armazenamento da carne de frango embalada em ar e irradiadas com 3,0 kGy, a amostra foi aceita pelos degustadores. No entanto, Lewis et. al. (17) verificaram que no 28º dia de armazenamento, as amostras de carne frango irradiadas foram menos aceitas em relação à textura, sabor e aceitação global. Eles concluíram que a suculência das amostras e o sabor diminuíram com o aumento da dose de irradiação.

No presente estudo, verificou-se que a irradiação nas doses de 2,0 e 3,0 kGy, aplicada antes ou após a embalagem em atmosfera modificada influenciou na aceitação dos filés de frango em relação ao atributo sabor. Houve diferenças entre as amostras irradiadas embaladas antes ou após a irradiação, pois as amostras 2,0 kGy/ATM e 3,0 kGy/ATM não foram aceitas pelos consumidores. A manutenção do vácuo após o processo de irradiação favoreceu o sabor do filé de frango quando comparado com a EAM, pois a amostra Vácuo/3,0 kGy foi aceita e a 3,0 kGy/ATM não.

Odor

Em relação ao odor das carnes de frango cozidas, observa-se na Tabela 4, que as amostras 2,0 kGy/ATM e 3,0 kGy/ATM foram rejeitadas imediatamente após a irradiação. O tratamento que recebeu maior pontuação foi ATM/0,0 kGy que não diferiu do controle. Entre as amostras aceitas, as menos preferidas foram as Ar/2,0 kGy e Vácuo/2,0 kGy, porém, também não diferiram da amostra controle. Do mesmo modo, Kim et. al. (9) reportaram que apesar de treinados, a maioria dos provadores não diferenciou as carnes de frango irradiadas das não irradiadas.

Du et. al. (26) observaram que o armazenamento aeróbio antes da irradiação eliminou grande parte do efeito da irradiação sobre o odor de filés de peito cozido. Este fato não corrobora com os achados no presente estudo visto que tanto as amostras embaladas em aerobiose e irradiadas a 2,0 kGy quanto as embaladas em vácuo e irradiadas a 2,0 kGy foram menos aceitas pelos degustadores. No entanto, Hanis et. al. (27) relataram que o tratamento térmico removeu o odor de irradiação da carne de frango.

Neste estudo, a dose de 3,0 kGy não alterou o odor de filés de frango analisados. Da mesma forma, Miyagusku (14) verificou que o aumento das doses de radiação acima 3,0 kGy, independentemente do tipo de sistema de embalagem empregado, promoveu uma alteração do odor de queimado de carne de frango resfriada, sendo essa dose considerada como limite na garantia de uma validade mais longa, sem alteração sensorial perceptível. Além disso, essa pesquisadora relatou que o “odor de queimado” foi mais intenso quanto maior a dose de irradiação empregada.

No último dia do prazo comercial, somente a amostra 2,0 kGy/ATM foi rejeitada. Entre as amostras aceitas, as menos preferidas foram as Vácuo/3,0 kGy e 3,0 kGy/ATM. O tratamento Ar/2,0 kGy recebeu a melhor pontuação, mas não foi estatisticamente diferente das outras amostras.

A irradiação com doses de 2,0 e 3,0 kGy, aplicado antes ou depois da embalagem em atmosfera modificada influenciou o odor dos filés de frango, visto que as amostras irradiadas antes da embalagem em atmosfera modificada foram rejeitadas. A irradiação das amostras antes da embalagem em atmosfera modificada diminuiu a aceitação dos filés de frango em relação ao odor, sendo proporcional à dose utilizada.

CONCLUSÕES

Neste estudo observou-se que as amostras não irradiadas foram as menos aceitas pelos julgadores nos atributos cor e impressão global logo após a irradiação. Todos os filés irradiados apresentaram uma coloração mais atraente, com exceção das amostras embaladas em aerobiose no último dia da validade comercial. A irradiação com doses de 2,0 e 3,0 kGy aplicada antes da embalagem em atmosfera modificada alterou o sabor e odor de filés de frango cozidos. A embalagem em atmosfera modificada aplicada antes do processo de irradiação gama pode ser usada como uma alternativa na indústria avícola à medida que fornece carnes de aves mais seguras ao consumidor, sem alterar as suas características sensoriais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Baddini, S. Análise Sensorial. [acesso em 2 de maio de 2009]. Disponível em < <http://www.br.sgs.com>>.
2. Barboza LMV, Freitas RJS, Waszczyński N. Desenvolvimento de produtos e análise sensorial. *Brasil Alimentos*. 2003; 18: 34-35.
3. Kilcast, D. Food Irradiation: Current Problems and Future Potential. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 1995; 36 (3): 279-296.
4. Economou T, Pournis N, Ntzimani A, Savvaidis IN. Nisin–EDTA treatments and modified atmosphere packaging to increase fresh chicken meat shelf-life. *Food Chemistry*. 2009; 114 (4): 1470–1476.
5. Church IJ, Parsons AL. Modified Atmosphere Packaging Technology: A Review. *Sci. Food. Agric*. 1995; 67: 143-152.
6. Parry RT. *Envasado de los alimentos em atmosfera modificada*. Madrid: A. Madrid Vicente; 1993.

7. Lee M, Sebranek JG, Olson DG, Dickson JS. Irradiation and Packaging of Fresh Meat and Poultry. *Journal of Food Protection*. 1996; 59 (1): 62-72.
8. Nanke KE, Sebranek JG, Olson DG. Color Characteristics of Irradiated Vacuum-Packaged Pork, Beef, and Turkey. *Journal of Food Science*. 1998; 63 (6): 1001-1006.
9. Kim YH, Nam KC, Ahn DU. Color, Oxidation-Reduction Potential, and Gas Production of Irradiated Meats from Different Animal Species. *Journal of Food Science*. 2002; 67 (5): 257–265.
10. Thakur BR, Singh RK. Combination processes in food irradiation *Trends in Food Science & Technology*. 1995; 6 (1): 7-11.
11. Molins RA. *Food irradiation: principles and applications*. 1 ed. New York: Wiley-Interscience; 2001.
12. Brewer MS. Irradiation effects on meat flavor: A review. *Meat Science*. 2009; 81: 1–14
13. Chouliara E, Badeka A, Savvaidis L, Kontominas MG. Combined effect of irradiation and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of chicken breast meat: microbiological, chemical and sensory changes. *Journal European Food Research and Technology*. 2008; 226 (4): 877-888.
14. Miyagusku L. Influencia da radiação ionizante (^{60}Co) na manutenção da qualidade físico-química, microbiológica e sensorial de cortes de coxa e file de peito de frango acondicionado em diferentes sistemas de embalagens [tese]. Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas; 2008.
15. Mantilla SPS, Santos EB, Junior Conte CA, Mano SB, Vital HC, Franco RM. Bactérias deteriorantes em filés de frango embalados em ar, vácuo e irradiados: parâmetros bacteriológicos de desenvolvimento e prazo comercial. *Pesq. Agropec. Trop.* 2009; 39 (4): 271-277.
16. Brasil. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. [acesso em 2 de maio de 2009]. Disponível em <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2851>.
16. Stone H, Sidel JL. Quantitative descriptive analysis: developments, applications, and the future. *Food Technology*. 1998; 5 (8): 48-52.
17. Lewis SJ, Vela´Squez A, Cuppett SL, Mckee SR. Effect of Electron Beam Irradiation on Poultry Meat Safety and Quality. *Poultry Science*. 2002; 81: 896–903.

18. Kanatt SR, Paul P, D' Souza SF, Thomas P. Effect of gamma irradiation on the lipid peroxidation in chicken, lamb and buffalo meat during chilled storage. *Journal of Food Safety*. 1997; 17: 283-294.
19. Souza ARM, Arthur V, Canniatti-Brazaca SG. Alterações provocadas pela irradiação e armazenamento nos teores de ferro heme em carne de frango *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 2007; 27(2): 303-306.
20. Nam KC, Ahn DU. Carbon monoxide–heme pigment complexes are responsible for the pink color in irradiated raw Turkey breast meat. *Meat Science*. 2002; 61: 25–33.
21. Millar SJ, Moss BW, Macdougall DB, Stevenson MH. The effect of ionizing radiation on the CIELAB color coordinates of chicken breast meat as measured by different instruments. *International Journal of Food Science and Technology*. 1995; 30: 663–674.
22. Toledo TCF, Canniatti-Brazaca SG, Spoto MHF, Arthur V. Sensory and Nutritive Qualities of Food. 2005; 70 (1): 8-12.
23. Hashim IB, Resurreccion AVA, MacWatters KH. Descriptive sensory analysis of irradiated frozen or refrigerated chicken. *Journal of Food Science*. 1995; 60:664–666.
24. Abu-Tarboush HM, Al-Kahtani HA, Atia M, Abou-Arab AA, Bajaber AS, El-Mojaddidi MA. *Journal of Food Protection*. 1997; 60: 761–770.
25. Kanatt SR, Chander R, Sharma A. Effect of radiation processing on the quality of chilled meat products. *Meat Science*. 2005; 69: 269–275.
26. Du M, Hur SJ, Ahn DU. Raw-meat packaging and storage affect the color and odor of irradiated broiler breast fillets after cooking. *Meat Science*. 2002; 61: 49–54.
27. Hanis T, Jelen P, Klir P, Mnukova J, Perez B, Pesek M, *Journal of Food Protection*. 1989; 52: 26–32.

Agradecimentos

Os autores agradecem à CAPES pelo auxílio financeiro para a realização da pesquisa e à Seção de Defesa Nuclear do CTEEx pela autorização e viabilização do processo de irradiação.

Tabela 1. Escores de aceitação obtidos a partir do teste de aceitação realizado por 33 julgadores, onde avaliou-se o atributo cor dos filés de peito de frango crus nos diferentes tratamentos, logo após a radiação e no último dia da validade comercial.

| Logo após a radiação | | Último dia da microbiologia | |
|----------------------|---------------------|-----------------------------|---------------------|
| Tratamento | Média* | Tratamento | Média* |
| ATM/0,0 kGy | 5,24 ^a | 3,0 kGy/ATM | 6,48 ^a |
| Vácuo/0,0 kGy | 5,0 ^{ab} | ATM/0,0 kGy | 5,67 ^{ab} |
| Ar/0,0 kGy | 4,7 ^{abc} | Ar/2,0 kGy | 5,57 ^{abc} |
| Ar/3,0 kGy | 3,97 ^{bcd} | Ar/3,0 kGy | 5,24 ^{abc} |
| ATM/3,0 kGy | 3,88 ^{bcd} | ATM/3,0 kGy | 5,0 ^{bcd} |
| Vácuo/2,0 kGy | 3,67 ^{cd} | 2,0 kGy/ATM | 4,82 ^{bcd} |
| ATM/2,0 kGy | 3,45 ^d | Vácuo/0,0 kGy | 4,67 ^{bcd} |
| Vácuo/3,0 kGy | 3,42 ^d | Ar/0,0 kGy | 4,36 ^{bcd} |
| 3,0 kGy/ATM | 3,36 ^d | ATM/2,0 kGy | 4,27 ^{bcd} |
| Ar/2,0 kGy | 3,36 ^d | Vácuo/2,0 kGy | 4,15 ^{cd} |
| 2,0 kGy/ATM | 3,27 ^d | Vácuo/3,0 kGy | 3,54 ^d |

* Médias seguidas por pelo menos uma letra igual, na mesma coluna, não se diferenciam ($p > 0,05$)

Ar/0,0 kGy - grupo controle (embaladas com ar); Vácuo/0,0 kGy - grupo vácuo; Ar/2,0 kGy - grupo embalado em ar e irradiado a 2,0 kGy; Vácuo/2,0 kGy- grupo embalado a vácuo e irradiado a 2,0 kGy ; Ar/3,0 kGy -grupo embalado em ar e irradiado a 3,0 kGy; Vácuo/3,0 kGy- grupo embalado a vácuo e irradiado a 3,0 kGy; ATM/0,0 kGy- grupo embalado em atmosfera modificada; ATM/2,0 kGy- grupo embalado em atmosfera modificada e irradiado a 2,0 kGy; ATM/3,0 kGy- grupo embalado em atmosfera modificada e irradiado a 3,0 kGy; 2,0 kGy/ATM- grupo embalado a vácuo, irradiado a 2,0 kGy e embalado em atmosfera modificada ; 3,0 kGy/ATM- grupo embalado a vácuo, irradiado a 3,0 kGy e embalado em atmosfera modificada.

Tabela 2. Escores de aceitação obtidos a partir do teste de aceitação realizado por 33 julgadores, onde avaliou-se o atributo impressão global dos filés de peito de frango crus nos diferentes tratamentos, logo após a radiação e no último dia da validade comercial.

| Logo após a radiação | | Último dia da microbiologia | |
|----------------------|----------------------|-----------------------------|---------------------|
| Tratamento | Média | Tratamento | Média |
| Vácuo/0,0 kGy | 5,76 ^a | 3,0 kGy/ATM | 6,85 ^a |
| ATM/0,0 kGy | 5,24 ^{ab} | Ar/3,0 kGy | 6,21 ^{ab} |
| Ar/0,0 kGy | 4,81 ^{abc} | Vácuo/0,0 kGy | 5,79 ^{abc} |
| Ar/3,0 kGy | 4,63 ^{abcd} | Ar/0,0 kGy | 5,27 ^{abc} |
| Vácuo/2,0 kGy | 4,57 ^{abcd} | Ar/2,0 kGy | 5,24 ^{abc} |
| Vácuo/3,0 kGy | 4,51 ^{abcd} | 2,0 kGy/ATM | 5,09 ^{bc} |
| ATM/3,0 kGy | 4,30 ^{bcd} | ATM/3,0 kGy | 5,03 ^{bc} |
| ATM/2,0 kGy | 3,91 ^{cd} | ATM/0,0 kGy | 5,0 ^{bc} |
| Ar/2,0 kGy | 3,67 ^{cd} | Vácuo/2,0 kGy | 4,85 ^{bc} |
| 3,0 kGy/ATM | 3,54 ^{cd} | ATM/2,0 kGy | 4,70 ^{bc} |
| 2,0 kGy/ATM | 3,39 ^d | Vácuo/3,0 kGy | 4,27 ^c |

* Médias seguidas por pelo menos uma letra igual, na mesma coluna, não se diferenciam ($p > 0,05$)

Ar/0,0 kGy - grupo controle (embaladas com ar); Vácuo/0,0 kGy - grupo vácuo; Ar/2,0 kGy - grupo embalado em ar e irradiado a 2,0 kGy; Vácuo/2,0 kGy- grupo embalado a vácuo e irradiado a 2,0 kGy ; Ar/3,0 kGy -grupo embalado em ar e irradiado a 3,0 kGy; Vácuo/3,0 kGy- grupo embalado a vácuo e irradiado a 3,0 kGy; ATM/0,0 kGy- grupo embalado em atmosfera modificada; ATM/2,0 kGy- grupo embalado em atmosfera modificada e irradiado a 2,0 kGy; ATM/3,0 kGy- grupo embalado em atmosfera modificada e irradiado a 3,0 kGy; 2,0 kGy/ATM- grupo embalado a vácuo, irradiado a 2,0 kGy e embalado em atmosfera modificada ; 3,0 kGy/ATM- grupo embalado a vácuo, irradiado a 3,0 kGy e embalado em atmosfera modificada.

Tabela 3. Escores de aceitação obtidos a partir do teste de aceitação realizado por 33 julgadores, onde avaliou-se o atributo sabor dos filés de peito de frango crus nos diferentes tratamentos, logo após a radiação e no último dia da validade comercial.

| Logo após a radiação | | Último dia da microbiologia | |
|----------------------|--------------------|-----------------------------|---------------------|
| Tratamento | Média* | Tratamento | Média* |
| 3,0 kGy/ATM | 5,73 ^a | 2,0 kGy/ATM | 5,67 ^a |
| Ar/2,0 kGy | 5,17 ^{ab} | Vácuo/3,0 kGy | 4,53 ^{ab} |
| ATM/3,0 kGy | 3,77 ^{bc} | 3,0 kGy/ATM | 4,43 ^{abc} |
| Vácuo/2,0 kGy | 3,67 ^c | ATM/3,0 kGy | 4,2 ^{bcd} |
| Ar/3,0 kGy | 3,53 ^c | Ar/2,0 kGy | 3,73 ^{bcd} |
| Ar/0,0 kGy | 3,53 ^c | Ar/0,0 kGy | 3,7 ^{bcd} |
| Vácuo/0,0 kGy | 3,47 ^c | Vácuo/2,0 kGy | 3,67 ^{bcd} |
| Vácuo/3,0 kGy | 3,33 ^c | ATM/0,0 kGy | 3,03 ^{cd} |
| 2,0 kGy/ATM | 3,27 ^c | Vácuo/0,0 kGy | 3,03 ^{cd} |
| ATM/2,0 kGy | 3,13 ^c | ATM/2,0 kGy | 3,0 ^{cd} |
| ATM/0,0 kGy | 2,73 ^c | Ar/3,0 kGy | 2,93 ^d |

* Médias seguidas por pelo menos uma letra igual, na mesma coluna, não se diferenciam ($p > 0,05$)

Ar/0,0 kGy - grupo controle (embaladas com ar); Vácuo/0,0 kGy - grupo vácuo; Ar/2,0 kGy - grupo embalado em ar e irradiado a 2,0 kGy; Vácuo/2,0 kGy- grupo embalado a vácuo e irradiado a 2,0 kGy ; Ar/3,0 kGy -grupo embalado em ar e irradiado a 3,0 kGy; Vácuo/3,0 kGy- grupo embalado a vácuo e irradiado a 3,0 kGy; ATM/0,0 kGy- grupo embalado em atmosfera modificada; ATM/2,0 kGy- grupo embalado em atmosfera modificada e irradiado a 2,0 kGy; ATM/3,0 kGy- grupo embalado em atmosfera modificada e irradiado a 3,0 kGy; 2,0 kGy/ATM- grupo embalado a vácuo, irradiado a 2,0 kGy e embalado em atmosfera modificada ; 3,0 kGy/ATM- grupo embalado a vácuo, irradiado a 3,0 kGy e embalado em atmosfera modificada.

Tabela 4. Escores de aceitação obtidos a partir do teste de aceitação realizado por 33 julgadores, onde avaliou-se o atributo odor dos filés de peito de frango crus nos diferentes tratamentos, logo após a radiação e no último dia da validade comercial.

| Logo após a radiação | | Último dia da microbiologia | |
|----------------------|---------------------|-----------------------------|---------------------|
| Tratamento | Média* | Tratamento | Média* |
| 3,0 kGy/ATM | 5,93 ^a | 2,0 kGy /ATM | 6,7 ^a |
| 2,0 kGy/ATM | 5,03 ^{ab} | Vácuo/3,0 kGy | 4,73 ^b |
| Ar/2,0 kGy | 4,6 ^{abc} | 3,0 kGy /ATM | 4,47 ^{bc} |
| Vácuo/2,0 kGy | 4,4 ^{bcd} | ATM/ 3,0 kGy | 4,1 ^{bcd} |
| Ar/3,0 kGy | 4,27 ^{bcd} | Ar/0,0 kGy | 3,97 ^{bcd} |
| ATM /2,0 kGy | 3,67 ^{bcd} | ATM/0,0 kGy | 3,87 ^{bcd} |
| ATM /3,0 kGy | 3,6 ^{cde} | Vácuo/2,0 kGy | 3,6 ^{bcd} |
| Ar/0,0 kGy | 3,37 ^{cde} | Vácuo/0,0 kGy | 3,4 ^{cd} |
| Vácuo/3,0 kGy | 3,27 ^{cde} | ATM /2,0 kGy | 3,23 ^{cd} |
| Vácuo/0,0 kGy | 3,10 ^{de} | Ar/3,0 kGy | 3,2 ^d |
| ATM/0,0 kGy | 3,0 ^e | Ar/2,0 kGy | 3,13 ^d |

* Médias seguidas por pelo menos uma letra igual, na mesma coluna, não se diferenciam ($p > 0,05$)

Ar/0,0 kGy - grupo controle (embaladas com ar); Vácuo/0,0 kGy - grupo vácuo; Ar/2,0 kGy - grupo embalado em ar e irradiado a 2,0 kGy; Vácuo/2,0 kGy- grupo embalado a vácuo e irradiado a 2,0 kGy ; Ar/3,0 kGy -grupo embalado em ar e irradiado a 3,0 kGy; Vácuo/3,0 kGy- grupo embalado a vácuo e irradiado a 3,0 kGy; ATM/0,0 kGy- grupo embalado em atmosfera modificada; ATM/2,0 kGy- grupo embalado em atmosfera modificada e irradiado a 2,0 kGy; ATM/3,0 kGy- grupo embalado em atmosfera modificada e irradiado a 3,0 kGy; 2,0 kGy/ATM- grupo embalado a vácuo, irradiado a 2,0 kGy e embalado em atmosfera modificada ; 3,0 kGy/ATM- grupo embalado a vácuo, irradiado a 3,0 kGy e embalado em atmosfera modificada.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso combinado da embalagem em atmosfera modificada com o processo de irradiação gama, além de melhorar as características sensoriais dos filés de peito de frango resfriados com relação à coloração e manter os valores de pH baixos durante a estocagem, foi eficiente no aumento da validade comercial do alimento, por meio da extensão da fase de adaptação dos microrganismos pesquisados. A eficiência na redução da microbiota e no aumento do prazo comercial foi diretamente proporcional à dose de radiação utilizada.

A embalagem a vácuo aumentou a validade comercial quando comparada com a embalagem em 100% ar, tanto nos filés não irradiados, como nos irradiados. O uso do processo de irradiação potencializou a EAM (80%CO₂/20%N₂), aumentando o prazo comercial das amostras de filés de frango resfriados. Quando comparados isoladamente, observou-se que a radiação gama foi mais eficaz que a EAM no aumento da validade e na redução da microbiota.

As bactérias lácticas foram mais resistentes à alta concentração de CO₂ e apresentaram maior radiorresistência quando comparadas aos outros grupos bacterianos analisados, e as enterobactérias e os coliformes foram mais sensíveis ao tratamento com radiação ionizante e ao dióxido de carbono.

O pH tendeu a aumentar durante o armazenamento da carne embalada em ar. A EAM e a irradiação não proporcionaram alterações nos valores de pH das amostras e mantiveram baixos os valores do pH quando comparados com as amostras controle.

A utilização da atmosfera modificada antes do processo de irradiação (2,0 e 3,0 kGy) não alterou a aceitação sensorial em relação aos atributos impressão global dos filés de peito de frango crus, o sabor e odor dos filés de peito cozidos.

A coloração dos filés de frango embalados em atmosfera modificada foi rejeitada pelos julgadores devido à palidez observada, porém, quando as amostras foram irradiadas, a coloração tornou-se mais atraente. Todos os filés irradiados apresentaram coloração rósea mais atraente para os julgadores.

A estirpe *L. monocytogenes* 4b inoculada nos filés de peito de frango foi capaz de se desenvolver em todas as amostras, entretanto não predominou em nenhuma delas, devido à microbiota acompanhante e/ou os tratamentos tecnológicos utilizados. O uso combinado da radiação com a embalagem em atmosfera modificada foi eficiente na redução do número de *L. monocytogenes* e manteve baixas contagens desse patógeno, porém não foi capaz de eliminá-la completamente.

A embalagem em atmosfera aplicada antes do processo de irradiação gama de frango resfriado pode ser usada como uma alternativa na indústria de alimentos, com o fornecimento de produtos mais seguros para os consumidores, sem alterar as características sensoriais. Porém, as Boas Práticas de Fabricação durante o processamento não podem ser substituídas pelos processos tecnológicos, visto que a carga microbiana inicial influencia na validade comercial do alimento.

Mais estudos devem ser realizados para determinar a melhor dose assim como a mistura ideal de gases para eliminar o patógeno *L. monocytogenes*. Sugere-se o desenvolvimento de pesquisas relacionadas com o uso combinado da EAM e irradiação em carnes de frango pré-cozidas o que, provavelmente, diminuiria a dose de radiação gama necessária para atingir os mesmos (ou melhores) resultados na diminuição da carga microbiana, redução do patógeno *L. monocytogenes* e aceitação sensorial dos filés de peito de frango resfriados.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEF. Associação Brasileira dos Produtores e Exportadores de Frango. Exportações brasileiras de carne de frango (janeiro a junho de 2009). Disponível em: <http://www.abef.com.br/noticias_portal/exibenoticia.php?notcodigo=1337>. Acesso em: 10 junho de 2010.

ACHA, P. N.; SZYERES, B. Bacterioses y Micosis. In: _____ *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales*. 3 ed, parte 1, v.1, Washington : OPS, 2001. 340 p.

ADAMS, M. R.; MOSS, M. R. Microbiologia de la Conservación de los Alimentos. In: _____ *Microbiología de los Alimentos*. Zaragoza:Acibria, 1995. p.88-98.

AMANATIDOU, A; SLUMP, R. A.; GORRIS, L. G. M.; SMID, E. J. High oxygen and high carbon dioxide modified atmospheres for shelf-life extension of minimally processed carrots. *Journal of Food Science*, v. 65, n. 1, p. 61-66, 2000.

ANDERSON, M. R. P.; CALDERÓN, V.; PASCOAL, Y. *Microbiologia Alimentaria. Metodologia Analítica para alimentos y bebidas*. Madrid: Diaz de Santos, 2000. 447 p.

ANTUNES, P.; REU, C.; SOUSA, J. C.; PESTANA, N.; PEIXE, L. Incidence and susceptibility to antimicrobial agents of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* isolated from poultry carcasses in Porto, Portugal. *Journal of Food Protection*. v. 65, n. 12, p. 1888-1893, 2002.

APTE, S. K. Bioremediation using radioresistant microbes. cap 6. In: MESHRAM, S. U.; SHINDE, G. B. *Applied Biotechnology*. 2009. Disponível em <<http://books.google.com.br>>. Acesso em agosto 2010.

BADDINI, S. *Análise Sensorial*. Disponível em < <http://www.br.sgs.com>>. Acesso em: 2 maio 2009.

BARANYI, J.; PIN, C. Modelling Microbiological Safety, IN: TIJSKENS, M. M.; M. HERTOOG, M. L. A. T. M. NICOLAI, B. M. *Food process modelling*. 2001. Disponível em <<http://books.google.com.br>>. Acesso em junho 2009.

- BARANYI, J. e ROBERTS, T.A. A dynamic to predicting bacterial growth in food. *International Journal of Food Microbiology*, v. 23, p. 277-294, 1994.
- BARBOZA, L. M. V.; FREITAS, R. J. S.; WASZCZYNSKYJ, N. Desenvolvimento de produtos e análise sensorial. *Brasil Alimentos*, v. 18, p. 34-35, 2003.
- BATTISTA, J. R. Against all odds : The Survival Strategies of *Deinococcus radiodurans*. *Annual Review of Microbiology*, v. 51, p. 203-224, 1997.
- BOBBIO, O. F.; BOBBIO, P. A. *Introdução à Química de Alimentos*. 3 ed. São Paulo: Varela, 2003. 238 p.
- BOURGEOIS, C.M.; MESCLE, J. F.; ZUCCA, J. *Microbiología alimentaria: aspectos microbiológicos dela seguridad y calidad alimentaria*. Zaragoza: Acribia, 1994. 438 p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001. *Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos*. Disponível em <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=144&word=>>>. Acesso em: 19 jun. 2007
- BREWER, M. S. Irradiation effects on meat flavor: A review. *Meat Science*, v.81, p. 1–14, 2009.
- BRODY, A.L. El mercado. In: PARRY, R. T. *Envasado de los alimentos en atmósfera modificada*. Zaragoza: Acribia, 1995. 331 p. cap. 2, p. 32-55.
- BRYAN, F. L. Carne de aves y productos derivados. In: International Commission on Microbiological Specification for Food (ICMSF). *Ecología Microbiana de los Alimentos. v.2 Productos Alimentícios*. Zaragoza: Acribia, 1980. 989p. cap. 16, p. 410-459.
- BUENO, P. H. S. *Efeito da radiação gama e do tipo de embalagem sobre as características microbiológicas, físico-químicas e sensorial de peito de frango refrigerado*. Belo Horizonte, 2008. 59 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 2008.
- CASTRO, A. F. P. *Listeria*. In: TRABULSI, L. R. *Microbiologia*. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 1989. 386 p. cap. 26, p. 131-132.
- CDC. CENTER FOR DISEASE CONTROL. *Frequently asked questions about irradiation*. Disponível em <<http://www.cdc.gov>>. Acesso em: 23 out. 2008.
- CHOULIARA, E.; BADEKA, A.; SAVVAIDIS, L.; KONTOMINAS, M. G. Combined effect of irradiation and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of chicken breast meat: microbiological, chemical and sensory changes. *Journal European Food Research and Technology*, v. 226, n. 4, 2008.
- CHURCH, N. Developments in modified-atmosphere packaging and related technologies. *Trends in Food Science e Technology*. v.5, p.345-352, 1994.

CHURCH, I. J. ; PARSONS, A. L. Modified Atmosphere Packaging Technology: A Review. *Journal of The Science of Food and Agriculture.*, v. 67, p. 143-152, 1995.

CLIVER, D. O. *Predictive Modeling*. PHR 250, 5/14/2007, 7p. Disponível em <http://www.cdffa.ca.gov/ahfss/Animal_Health/PHR250/2007/25007Mod.pdf>. Acesso em: 12 março 2010.

COMBASE. Combase modelling toolbox. Disponível em <http://www.combase.cc/toolbox.html#Dmfit>. Acesso em 4 junho 2009.

CORRE, F. L; VENAILLE, L. Tratamientos con radiaciones ionizantes. In: BOURGEOIS, C.M.; MESCLE, J. F.; ZUCCA, J. *Microbiologia alimentária: aspectos microbiológicos dela seguridad y calidad alimentaria*.438 p. cap. 4, p. 357- 381. Zaragoza: Acribia, 1994.

DIAS, D. A. M. *Persistência de cepas de Listeria monocytogenes em linha de abate industrial de frango em um matadouro localizado no Estado de São Paulo*. São PAULO, 2008. 66 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos alimentos)- Faculdade de Ciências Farmacêutcas, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2008.

DIEHL, J. F. *Safety of Irradiated Foods*. New York: Marcel Dekker, 1990, 345p.

DURANTE, R. W. Food processors requirements met by radiation processing. *Radiation Physics and Chemistry*, v.63, p. 289–294, 2002.

EILERT, S. J. New packaging technologies for the 21st century. *Meat Science, Barking*, v. 71, n. 1, p. 122-127, 2005.

FARBER, M.; PETERKIN, P. I. *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. *Microbiological Reviews*. v. 55, n. 3, p. 476-511, 1991.

FARIA, E. V.; YOTSUYANAGI, K. *Técnicas de Análise Sensorial*. Campinas: ITAL/LAFISE, 2002. 116 p.

FINNE, G. Modified- and controlled-atmosphere storage of muscle foods, *Food Technology* v. 36, n.2, p. 128–133, 1982.

FLOROS, J. D.; MATSOS, K. I. Introduction on modified atmosphere packaging. In: HAN, J. H. *Innovations in food packaging*. 2005. Disponível em <http://books.google.com.br>. Acesso em: 30 março 2010.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos Alimentos*. São Paulo: Atheneu, 2008. 196 p.

FSIS. Food Safety and Inspection Service. *USDA Issues Final Rule on Meat and Poultry Irradiation*. December 1999. Disponível em <http://www.fsis.usda.gov/Oa/background/irrad_final.htm> Acesso em 30 ago 2010.

GENIGEORGIS, C. Microbial and safety implications of the use of modified atmospheres to extend the storage life of fresh meat and fish, *International Journal of Food Microbiology*, v.1, p. 237–251, 1995.

GIBSON, A.M.; BRATCHELL, N.; ROBERTS, T.A. The effect of sodium chloride and temperature on the rate and extent of growth of *Clostridium botulinum* type A in pasteurized pork slurry. *Journal of Applied Bacteriology*, v.62, p.479-490, 1987.

GONÇALVES, P. M. R. *Isolamento e identificação de Listeria spp. a partir de amostras de cortes de peito de frango congelados: avaliação de metodologias e fatores interferentes*. Niterói, 1998. 111 f. Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal)- Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói. 1998.

GCIIA. GRUPO CONSULTIVO INTERNACIONAL SOBRE IRRADIAÇÃO DE ALIMENTOS – GCIIA. *A irradiação de alimentos: ficção e realidade*. Ficha Descritiva 1-14. 1991.

HINTLIAN, C. B. ;HOTCHKISS, J. H. The safety of modified atmosphere packaging- A review. *Food Technology*, v. 40, p. 70-76, 1986.

HOBBS, B. C.; ROBERTS, D. *Toxinfecções e Controle Higiênico-Sanitário de Alimentos*. São Paulo: Varela, 1992. cap. 3, pt. 1, p. 25-47, 1992.

HOLLEY, R. A.; GILL, C. O. Usos da embalagem em atmosfera modificada para carnes e produtos cárneos. Palestra. *III Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Carnes*, 27 a 29 de setembro, 2005.

IAEA. International Atomic Energy Agency. *Technical Reports Series No. 409. Dosimetry for Food Irradiation*. IAEA: Vienna, 2002. 161 p.

IAL. Instituto Adolf Lutz. Análise sensorial. cap. 6 In:_____ Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos. Disponível em <<http://www.scribd.com/doc/11757612/Analise-Sensorial-de-Alimentos-Capitulo-6>>. Acesso em 12 jan 2008.

ICGFI. International Consultative Group on Food Irradiation. *Facts about Food irradiation: a series of Fact Sheets from the International Consultative Group on Food Irradiation (ICGFI)*. 1999. Disponível em <<http://www.iaea.org/nafa/d5/public/foodirradiation.pdf>>. Acesso em 14 de agosto de 2009.

JACXSENS, L; DEVLIEGHIERE, F.; VAN DER STEEN, C.; DEBEVERE, J. Effect of high oxygen modified atmosphere packaging on microbial growth and sensorial qualities of fresh-cut produce. *International Journal of Food Microbiology*, v. 71, n. 2-3, p. 197-210,2001.

JAY, J. M. Listerioses de origem animal. In:_____ *Microbiologia de alimentos*. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711 p., cap. 25, p. 517-542

JEMMI, T.; STEPHAN, R. *Listeria monocytogenes* : food-borne pathogen and hygiene indicator. *Scientific and Technical Review*, v. 25, n. 2, p. 571-580, 2006.

JIMÉNEZ, S. M.; SALSI, M. S.; TIBURZI, M. C.; RAFAGHELLI, R. C.; TESSI, M. A.; COUTAZ, V. R. Spoilage microflora in fresh chicken breast stored at 4 °C: influence of packaging methods. *Journal of Applied Microbiology*, v. 83, p. 613–618, 1997.

KIM, Y. H.; NAM, K. C.; AHN, D. U. Color, Oxidation-Reduction Potential, and Gas Production of Irradiated Meats from Different Animal Species. *Journal of Food Science*, v. 67, n. 5, p. 257–265, 2002.

LANDGRAF, M. Controle do desenvolvimento Microbiano nos Alimentos. In: FRANCO, B.D.G.; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos Alimentos*. São Paulo: Atheneu, p. 109-148, 1996.

LEE, M.; SEBRANEK, J. G.; OLSON, D. G.; DICKSON, J. S. Irradiation and Packaging of Fresh Meat and Poultry. *Journal of Food Protection*, v. 59, n. 1, p. 62-72, 1996.

LI, H.; XIE, G.; EDMONDSON, A. Evolution and limitations of primary mathematical models in predictive microbiology. *British Food Journal*, v. 109 n.8, p. 608-626, 2007.

LÓPEZ-GÓMEZ, A.; FERNÁNDEZ, P. S.; PALOP, A.; PERIAGO, P. M.; MARTINEZ-LÓPEZ, A.; MARIN-INIESTA, F.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Food Safety Engineering: An Emergent Perspective. *Food Engineering Reviews*, v. 1, p. 84–104, 2009.

LOVETT, J.; TWEDT, R. M. Bacteria associated with foodborne diseases *Listeria*. *Food Technology*. v. 42, n. 2, p. 188-191, 1988.

MARTH, E. H. Disease characteristic of *Listeria monocytogenes*. *Food Technology*, v. 42, n. 51, p. 165-168, 1988.

MARKS, B. P. Status of Microbial Modeling in Food Process Models. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 7, p. 137-143, 2008.

MCMEEKIN, T. A.; ROSS, T. Shelf life prediction: status and future possibilities. *International Journal of Food Microbiology*, v. 33, p. 65-83, 1996.

MEMBRÉ, J.M.; LAMBERT, R. J. W. Application of predictive modeling techniques in industry: From food design up to risk assessment. *International Journal of Food Microbiology*, v. 128, p. 10–15, 2008.

MENA, C.; GONÇALO, A.; CARNEIRO, L.; TEIXEIRA, P.; HOGGA, T.; GIBBS, P. A. Incidence of *Listeria monocytogenes* in different food products commercialized in Portugal. *Food Microbiology*. v. 21, p.213-216, 2004

MENDES, A.A.; MOREIRA, J.; GARCIA, R.G. Qualidade da carne de peito de frango de corte. *Revista Nacional da Qualidade da Carne*, v.28, n.317, 2003.

- MILLAR, S. J.; MOSS, B. W.; MACDOUGALL, D. B.; STEVENSON, M. H. The effect of ionizing radiation on the CIELAB color coordinates of chicken breast meat as measured by different instruments. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 30, p. 663–674, 1995.
- MIYAGUSKU, L.; CHEN, F.; LEITÃO, M. F. F.; BAFFA, O. Avaliação microbiológica e sensorial da vida útil de cortes de peito de frango irradiados. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.23, p.7-16, 2003.
- MIYAGUSKU, L. Influencia da radiação ionizante (^{60}Co) na manutenção da qualidade físico-química, microbiológica e sensorial de cortes de coxa e file de peito de frango acondicionado em diferentes sistemas de embalagens. Campinas, 2008. f. Tese (Doutorado em Tecnologia dos Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. 2008
- MOLINS, R. A. *Food irradiation: principles and applications*. 1 ed. New York: Wiley-Interscience, 2001.
- MOREHOUSE, K. M. Food irradiation - US regulatory considerations. *Radiation Physics and Chemistry*, v. 63, p. 281–284, 2002.
- MURRAY, P. R. et al. *Listeria, Erysipelothrix* e outros bacilos Gram-positivos. In: _____. *Microbiologia Médica*. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. cap. 27, p. 181-184.
- NALERIO, E. S.; ARAÚJO, M. R.; MENDONÇA, K. C.; BASSANI, M. T.; SILVA, W. P. *Listeria monocytogenes*: monitoramento desse perigo biológico na cadeia produtiva de frangos do sul do Rio Grande do Sul. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 29, n.3, p. 626-630, 2009.
- NAM, K. C.; AHN, D. U. Carbon monoxide–heme pigment complexes are responsible for the pink color in irradiated raw Turkey breast meat. *Meat Science*, v. 61, p. 25–33, 2002.
- NANKE, K. E.; SEBRANEK, J. G.; OLSON, D. G. Color Characteristics of Irradiated Vacuum-Packaged Pork, Beef, and Turkey. *Journal of Food Science*, v. 63, n. 6, p. 1001-1006, 1998.
- NOUAILHETAS, Y. *Radiações Ionizantes e a vida*. Disponível em <<http://www.cnen.gov.br>> . Acesso em: 2 julho 2009.
- OLIVEIRA, A. N. *Bactérias do Gênero Listeria em Leite e derivados no Comércio Varejista de Goiânia – Goiás*. Belo Horizonte, 1993. 101f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte, 1993.
- OLIVEIRA, A.L.; PEREIRA, M.T.; BUENO, P.H.S.; OLIVEIRA, R.B.P.; PINTO, F. C.; CORREIA, R.F.; MACHADO, M. M. *Qualidade microbiológica da carne de frango irradiada em embalagem convencional e a vácuo*. *Arquivo brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.,61, n.5, p. 1210-1217, 2009.

PATSIAS, A.; CHOULIARA, I.; BADEKA, A.; SAVVAIDIS, I. N.; KONTOMINAS, M. G. Shelf-life of a chilled precooked chicken product stored in air and under modified atmospheres: microbiological, chemical, sensory attributes. *Food Microbiology*, v. 23, p.423–429, 2006

PATTERSON, M. F.; LOAHARANU, P. Irradiation. In: LUND, B. M.; BAIRD-PARKER, T. C.; GOULD, G. W. CAP 4. P.65-100. *The microbiological safety and quality of food*. v.1. 2000. Disponível em < <http://books.google.com.br> > Acesso em 30 ago 2010.

PELCZAR JR.; MICHAEL J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, NOEL R.; EDWARDS, DIANE D.; PELCZAR; MERNA F. *Microbiologia: conceitos e aplicações*. 2.ed.. São Paulo: Makron Books do Brasil, v.2, 1997.

PEÑA, W. E. L. *Uso de modelos preditivos no crescimento e inativação de esporos de Alicyclobacillus acidoterrestris em suco de laranja e maçã*. Campinas, 2005. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2005.

PEREIRA, A.S.C. *Novas tecnologias de embalagens para produtos cárneos*. 2005. Disponível em <<http://www.beefpoint.com.br>>. Acesso em: 29 março 2009.

PETTINATI, N. N.; TELLES, E. O.; BALLIAN, S. C. *Listeria monocytogenes* in hot dog sausages obtained from groceries stores in the city of São Paulo – A comparative and retrospective analysis of human listeriosis isolates. *Veterinária e Zootecnia*, v. 13, n. 2, p. 182-191, 2006.

ROBERTS, T. A. Control microbiológico de la producción de alimentos. In: ELEY, R. *Intoxicaciones Alimentarias de Etiología Microbiana*. cap. 9, p. 165-182, Zaragoza:Acribia, 1992. 208 p.

ROBERTSON, G. L. Modified atmosphere packaging. In: _____ *Food packaging: principles and practice*. 2006. Disponível em <http://books.google.com.br>. Acesso em: 30 março 2010.

ROSS, T.; MCMEEKIN, T. A. Review paper. Predictive microbiology. *International Journal of Food Microbiology*. n. 23, p. 241-261, 1994.

SANT'ANA, A. S.; ARAÚJO, I. O. *Irradiação e a segurança e qualidade microbiológica dos alimentos*. *Higiene Alimentar*, v. 21, n° 151, p. 37-51. 2007.

SAUCIER, L.; GENDRON, C., GARIEPY, C. Shelf Life of Ground Poultry Meat Stored Under Modified Atmosphere. *Poultry Science*, v. 79, p.1851–1856, 2000.

SEELIGER, H. P. R.; JONES, D. Genus *Listeria*. In: SNEATH, P. H. A.; MAIR, N. S. SHAPE, M. E. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 9 ed. Baltimore: Williams e Wilkins, 1996, v. 2, p. 1235-1245.

SILVA, A. C. O. S.; CERQUEIRA, M. O. P.; MORAES, C. F. A. M. P. ; SOUZA, M. R. S.; FERNANDEZ, A. T. Radiação em alimentos. Uma revisão. *Higiene Alimentar*, v. 20, n. 113, p.17-23, 2006.

SILVA, J.C.T. Carne de Frango: aumenta a demanda mundial e a produção brasileira acompanha o crescimento. Disponível em: http://www.aviculturaindustrial.com.br/site/dinamica.asp?id=1338&tipo_tabela=produtos&categoria=frango_de_corte. Acesso em: 2 set. 2008.

SMITH, J. P.; RAMASWAMY, H., S.; SIMPSON, B. K. Developments in food packaging technology. Part II: storage aspects. *Trends in Food Science e Technology*. p.111-115, 1990.

SOUZA, D. P.; OSAKI, M. Caracterização do Mercado Internacional de Carne de Frango - Brasil X Estados Unidos. Grupo de Pesquisa: Comércio Internacional. Disponível em <www.cepea.esalq.usp.br/pdf/Sober_Danusa.pdf>. Acesso em: 3 set. 2008.

SPOTO, M. H.; GALLO, C. R.; ALCARDE, A. R.; GURGEL, M, S, A.; BLUMER, L.; WALDER, J. M. M.; DOMARCO, R. E. Gamma irradiation in the control of pathogenic bacteria in refrigerated ground chicken meat. *Scientia Agricola*, v.57, n.3, p.389-394, 2000.

STROTMANN, C.; VON MUEFFLING, T.; KLEIN, G.; NOWAK, B. Effect of Different Concentrations of Carbon Dioxide and Oxygen on the Growth of Pathogenic *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 in Ground Pork Packaged under Modified Atmospheres. *Journal of Food Protection*, v. 71, n. 4, p. 845-849, 2008.

THAKUR, B. R.; SINGH, R. K. Combination processes in food irradiation. *Trends in Food Science & Technology*, v. 6, n. 1, p. 7-11, 1995.

VARNAM, A. H.; EVANS, M. G. *Listeria monocytogenes*. In:_____ *Foodborne Pathogens*. London: Manson Publishing, 1996. 557 p. cap.16, p. 327-353.

VASCONCELOS, R. M.; ALMEIDA, A. E. C. C.; HOFER, E.; SILVA, N. M. M.; MARIN, V. A. Multiplex-PCR serotyping of *Listeria monocytogenes* isolated from human clinical specimens. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.103, n. 8, p. 836-838, 2008.

VITAL, H. C.; FREIRE JUNIOR, M. A irradiação de Alimentos. In: ROSENTHAL, A. *Tecnologia de Alimentos e Inovação:Tendências e Perspectivas*. 1 ed. Cap. 11. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica 193 p., 2008.

VITAL, H. C.; HERNANDES, N. K.; SANTOS, A. A conservação de Alimentos por Irradiação. *Revista CTEEx P&D*, v. 2, p. 45-50, 2008.

WHITING, R.C., BUCHANAN, R.L. A classification of models for predictive microbiology. *Food Microbiology*, 10:175-177, 1993.

WORCMAN-BARNIKA, D.; LANDGRAF, M. Microbiologia de carne irradiada. In: SHIMOKOMAKI, M.; OLIVO, R.; TERRA, N.N.; FRANCO, B.D.G.M. *Atualidades em ciência e tecnologia de carnes*. cap. 11 p. 147-152. Editora Varela. São Paulo, 2006

YAN, H. J.; LEE, E. J.; NAM, K. C.; MIN, B. R.; AHN, D. U. Effects of Dietary Functional Ingredients and Packaging Methods on Sensory Characteristics and Consumer Acceptance of Irradiated Turkey Breast Meat. *Poultry Science*, v. 85, p. 1482–1489, 2006

ZEPKA, MARILENE. *Atmosfera modificada/atmosfera controlada*. Disponível em <http://www.furg.br/portaldeembalagens/quatro/atm_modific.html>. Acesso em: 14 set. 2008.