

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

RAFAEL SOARES NASCIMENTO

**LINGUIÇAS FRESCAIS ELABORADAS COM CARNE DE AVESTRUZ:
CARACTERÍSTICAS BACTERIOLÓGICAS, FÍSICO-QUÍMICAS E SENSORIAIS**

**NITERÓI
2011**

RAFAEL SOARES NASCIMENTO

**LINGUIÇAS FRESCAIS ELABORADAS COM CARNE DE AVESTRUZ:
CARACTERÍSTICAS BACTERIOLÓGICAS, FÍSICO-QUÍMICAS E SENSORIAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre. Área de concentração: Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal.

Orientador: Prof. Dr. ZANDER BARRETO MIRANDA

Co-Orientador: Prof. Dr. ROBSON MAIA FRANCO

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. ANA BEATRIZ MONTEIRO FONSECA

NITERÓI
2011

N244

Nascimento, Rafael Soares

Linguigas frescas elaboradas com carne de avestruz: características bacteriológicas, físico-químicas e sensoriais / Rafael Soares Nascimento; orientador Zander Barreto Miranda. – 2011.

96f.

Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal)–Universidade Federal Fluminense, 2011.

Orientador: Zander Barreto Miranda

1. Alimento embutido. 2. Carne de avestruz. 3. Microbiologia de alimento 4. Prazo de validade de produtos. I. Título.

CDD 664.9

RAFAEL SOARES NASCIMENTO

**LINGUIÇAS FRESCAIS ELABORADAS COM CARNE DE AVESTRUZ:
CARACTERÍSTICAS BACTERIOLÓGICAS, FÍSICO-QUÍMICAS E SENSORIAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense como, requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre. Área de concentração: Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Zander Barreto Miranda – Orientador
UFF

Prof. Dr. Robson Maia Franco – Co-orientador
UFF

Prof^a. Dr^a. Eliane Rodrigues
PESAGRO-RIO

Niterói
2011

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que me concede a oportunidade de estar encarnado e aprendendo a cada dia mais. Pela oportunidade que me concede de conhecer e estudar os ensinamentos do Senhor Jesus à luz da Doutrina Espírita, esta doutrina de amor e caridade, que tanto ensina e consola.

À minha família, que sempre me amou e apoiou em todos os momentos de minha vida.

À minha namorada, Juliana Serra Nascimento, pelo amor, carinho, amizade, companheirismo e apoio.

Ao orientador Prof. Dr. Zander Barreto Miranda e ao co-orientador Prof. Dr. Robson Maia Franco pela orientação, amizade, apoio e atenção.

À Prof^a. Dr^a. Ana Beatriz Monteiro Fonseca pela co-orientação e pelo delineamento experimental e análises estatísticas.

Ao Prof. Mauro Carlos Lopes Souza pela ajuda na obtenção da carne de avestruz. E à firma Avestrino, situada nos Estados de Alagoas e Rio de Janeiro, em nome de seu proprietário Felipe Regino pela cessão da carne de avestruz.

Aos meus colegas, amigos e aos professores da pós-graduação, pela cooperação, auxílio e aprendizagem. Em especial, aos amigos Bruno Reis Carneiro da Costa Lima, Anna Carolina Vilhena da Cruz Silva Canto, Cesar Aquiles Lázaro de la Torre e Maria Lúcia Guerra Monteiro pela amizade e colaboração na execução das análises laboratoriais.

Aos professores, secretários e técnicos do Programa de Pós-graduação em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal da Universidade Federal Fluminense, Laboratórios de Controle Microbiológico de Produtos de Origem Animal, Físico-químico e Sensorial do Departamento de Tecnologia dos Alimentos da Faculdade de Veterinária da UFF.

Ao Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial (SENAI), situado no município de Vassouras, Estado do Rio de Janeiro, pela pronta disponibilização da planta industrial para a elaboração das linguças de avestruz. Em especial ao Médico Veterinário Vítor da Cruz Meleiro e ao Francisco de Assis Alves pela colaboração na elaboração das supracitadas linguças.

À PESAGRO-RIO, nas pessoas da Prof^a. Dra. Eliane Rodrigues que me abriu as portas e auxiliou na obtenção do material e execução das análises físico-químicas de teor de umidade, lipídeos e TBARS e do nutricionista Marcus Daniel Adami Candian Rangel que me auxiliou nas análises.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro durante o curso de mestrado.

RESUMO

Foram produzidas três formulações de linguiças frescas puras e mistas elaboradas com carne de avestruz que diferiram somente na porção carne utilizada (100% avestruz; 75% avestruz e 25% suína; e 50% avestruz, 25% suína e 25% frango), foi utilizada embalagem a vácuo em todas as formulações e embalagem em ar em parte da formulação 100% avestruz. Todos os produtos obtidos das diferentes formulações foram conservados em temperatura de resfriamento, $5 \pm 2^\circ\text{C}$. Foram realizadas análises físico-químicas, bacteriológicas, colorimétricas e sensoriais, com o objetivo de caracterizar as fórmulas físico-quimicamente, verificar a validade comercial dos tratamentos, bem como sua aceitação e perfil colorimétrico. As três formulações quando analisadas físico-quimicamente estavam dentro dos padrões estipulados pela legislação brasileira (BRASIL, 2000), e não apresentaram diferença significativa entre si, com exceção do teor de cinzas que foi mais alto nas linguiças mistas. Os quatro tratamentos apresentaram contagens iniciais de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e psicotróficas altas. Pela média da contagem de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva obtida a validade comercial da linguiça pura, embalada em ar, foi menor que quatro dias e que a validade comercial das linguiças mistas foi menor que oito dias. Considerando-se a enumeração de coliformes termotolerantes observou-se que a validade comercial da linguiça pura, embalada a vácuo foi menor que 12 dias. No isolamento e identificação de *Salmonella* spp. notou-se que houve presença em uma das 120 amostras estudadas, dia um linguiça mista de carne de avestruz e suína, o que faria com que a amostra não fosse considerada própria para o consumo e não pudesse ser analisada sensorialmente. Seria importante a realização de análises na matéria-prima utilizada e nas etapas de processamento para prevenir a alta contagem bacteriana e/ou descobrir de onde procede. Caso fossem obtidos nos tratamentos contagens iniciais menores, provavelmente os tratamentos apresentariam maior validade comercial. Na análise do teor de pH observou-se diferença significativa entre os tratamentos, com pH maior nas linguiças puras, provavelmente devido ao pH desta carne ser maior que o pH das outras carnes utilizadas. As linguiças puras foram mais escuras e vermelhas que as mistas, sendo que a mista de avestruz, suína e frango foi a mais clara. As linguiças frescas puras ou mistas elaboradas com carne de avestruz são uma opção viável de produção e comercialização, com boa aceitação pelo consumidor, podendo concorrer no mercado com as linguiças tradicionais.

Palavras chave: Avestruz. Carne. Linguiça. Bacteriologia. Físico-químico. Sensorial.

ABSTRACT

Three formulations of ostrich Brazilian sausage were made: 100% ostrich meat, mixed with pork (75:25) and mixed with pork and chicken (50:25:25). All formulations were packaged under vacuum atmosphere and part of the Brazilian sausage formulated with 100% ostrich meat was packaged under ambient air atmosphere. All products obtained on different formulations were stored at $5 \pm 2^\circ\text{C}$. Physicochemical, bacteriological and sensory analyses were made to determine formulations' physical and chemical characteristics, verify the treatments' shelf-life, as well as its acceptability and colorimetric profile. The physicochemical results of all formulations were in accord with the Brazilian legislation pattern's (BRASIL, 2000) and no differences ($P > 0,05$) between formulations have been found except in the ash content, higher in mixed sausages. Initial cell load of mesophiles and psychrotrophs were high for all treatments. Coagulase-positive staphylococci average count expresses that the shelf-life of sausage formulated with 100% ostrich meat under ambient air atmosphere was less than 4 days and, for mixed sausage, less than 8 days. *E. coli* enumeration showed that the shelf-life of the sausage formulated with 100% ostrich meat under vacuum atmosphere were less than 12 days. The presence of *Salmonella* spp. was noted in one of 120 samples, among the ostrich and pork mixed sausage's of day one. According to the Brazilian legislation, that sample was unacceptable to eat. It would be important that a research in raw materials, as well as in the technological process to find the source of the contamination, was made. If less initial counts were obtained the treatments probably would present longer shelf lives. Differences ($P > 0,05$) have been found between the pH of the treatments. The pH increased following the increase of the percentage of ostrich meat in formulation, probably due to the fact that the pH of ostrich meat is higher than those of the other used meats. The sausages formulated with 100% ostrich meat were darker and redder in appearance than the mixed ones. The mixed of ostrich, pork and chicken sausage were lightest. The Brazilian sausages prepared with ostrich meat, pure or mixed, are a viable option for production and sale, well accepted by the consumer and can be placed in the market and compete with the traditional Brazilian sausages with the prospect of being successful.

Keywords: Ostrich. Meat. Brazilian sausage. Bacteriology. Physicochemical. Sensory.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Quadro 1 Características físico-químicas da carne de avestruz comparadas com as carnes bovina, suína e de frango, f. 24
- Quadro 2 Formulação utilizada, f. 36
- Quadro 3 Tratamentos empregados, f. 37
- Fig.1 Máquina moedora (MC 106, Ibrasmack®): Carne submetida à cominutação, f. 38
- Fig. 2 Componentes da formulação em misturadeira (MT 200, Incomaf®), f. 39
- Fig. 3 Linguiças embutidas em tripa natural em gomos, f. 39
- Fig. 4 Embaladora à vácuo (300 B, Selovac®): Embalagens contendo linguiça submetidas à produção de vácuo e selagem, f. 40
- Fig. 5 Amostras do tratamento A (100% avestruz, sem vácuo) no dia 8 de estocagem, f. 40
- Fig. 6 Amostras do tratamento A' (100% avestruz, com vácuo) no dia 8 de estocagem, f. 40
- Fig. 7 Amostras do tratamento B (75% avestruz, 25% suína, com vácuo) no dia 8 de estocagem, f. 40
- Fig. 8 Amostras do tratamento C (50% avestruz, 25% suína e 25% frango, com vácuo) no dia 8 de estocagem, f. 40
- Fig. 9 Crescimento bacteriano no meio APC, f. 43
- Fig. 10 Crescimento bacteriano no meio ágar SPS, f. 44
- Fig. 11 Crescimento bacteriano em meio ágar Baird-Parker, f. 46
- Fig. 12 Esfregaço em lâmina corado pelo método de Gram evidenciando bacilos Gram positivos, f. 46
- Fig. 13 Esfregaço em lâmina corado pelo método de Gram evidenciando cocos Gram positivos, f. 46
- Fig. 14 Prova da catalase, resultados indicados em vermelho, f. 46
- Fig. 15 Prova da coagulase: resultado positivo, f. 47
- Fig. 16 Tubos apresentando viragem do meio para verde azulado, positivos para coliformes totais, f. 48
- Fig. 17 Tubos sob luz ultravioleta, positivos exibindo fluorescência azulada, f. 49
- Fig. 18 Tubos em destaque, apresentando formação de anel vermelho após o gotejamento do reativo de Kovacs: Indol positivo, f. 49

- Fig. 19 Crescimento bacteriano em meio Rambach, colônias vermelhas circuladas, f. 52
- Fig. 20 Crescimento bacteriano em meio Hoektoen, colônia azul esverdeada circulada, f. 52
- Quadro 4 Ficha de avaliação para o teste de aceitação da análise sensorial, f. 59

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 Resultados referentes ao crescimento de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas nas linguiças elaboradas com carne de avestruz, nos diferentes tratamentos e dias de análise, valor em \log_{10} UFC/g, f. 62
- Tabela 2 Resultados referentes à contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas nas linguiças elaboradas com carne de avestruz, nos diferentes tratamentos e dias de análise, valor em \log_{10} UFC/g, f. 64
- Tabela 3 Resultados referentes à contagem de *Clostridium* sulfito redutor a 46°C nas linguiças elaboradas com carne de avestruz, nos diferentes tratamentos e dias de análise, valor em \log_{10} UFC/g, f. 66
- Tabela 4 Resultados referentes ao crescimento de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva nas linguiças elaboradas com carne de avestruz, nos diferentes tratamentos e dias de análise, valor em \log_{10} UFC/g, f. 67
- Tabela 5 Resultados referentes ao crescimento de coliformes termotolerantes nas linguiças elaboradas com carne de avestruz, nos diferentes tratamentos e dias de análise, valor em \log_{10} UFC/g, f. 69
- Tabela 6 Resultados referentes à presença ou ausência de *Salmonella* spp./25 g de amostra nas linguiças elaboradas com carne de avestruz, nos diferentes tratamentos e dias de análise, f. 70
- Tabela 7 Resultados referentes ao teor de umidade das formulações elaboradas, f. 71
- Tabela 8 Resultados referentes aos teores de proteína das formulações elaboradas, f. 73
- Tabela 9 Resultados referentes ao teor de lipídeos das formulações elaboradas, f. 74
- Tabela 10 Resultados referentes ao teor de cinzas das formulações elaboradas, f. 75
- Tabela 11 Resultados referentes ao potencial hidrogeniônico (pH) dos tratamentos nos diferentes dias de análise, f. 76
- Tabela 12 Resultados referentes ao teor de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) dos diferentes tratamentos no 1º dia de análise, f. 78

- Tabela 13 Resultados referentes ao nível de aceitação da aparência cozida dos tratamentos nos dias de análise, f. 79
- Tabela 14 Resultados referentes ao nível de aceitação da textura dos tratamentos nos dias de análise, f. 79
- Tabela 15 Resultados referentes ao nível de aceitação global dos tratamentos nos dias de análise, f. 80
- Tabela 16 Resultados referentes aos valores de L* (luminosidade) dos diferentes tratamentos nos dias de análise, f. 82
- Tabela 17 Resultados referentes aos valores de a* (vermelho) dos diferentes tratamentos nos dias de análise, f. 84
- Tabela 18 Resultados referentes aos valores de b* (amarelo) dos diferentes tratamentos nos dias de análise, f. 86

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS, f. 3

RESUMO, f. 5

ABSTRACT, f. 6

LISTA DE ILUSTRAÇÕES, f. 7

LISTA DE TABELAS, f. 9

SUMÁRIO, f. 11

1 INTRODUÇÃO, f. 14

2 OBJETIVOS, f. 16

2.1 OBJETIVO GERAL, f. 16

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS, f. 16

3 JUSTIFICATIVA, f. 18

4 REVISÃO DE LITERATURA, f. 20

4.1 AVESTRUZ, f. 20

4.1.1 **Histórico**, f. 20

4.1.2 **Mercado**, f. 20

4.1.3 **Características da carne**, f. 22

4.1.4 **Produtos industrializados**, f. 24

- 4.2 LINGUIÇA, f. 27
 - 4.2.1 **Padrões microbiológicos**, f. 28
 - 4.2.2 **Padrões físico-químicos**, f. 29
- 4.3 EMBALAGEM A VÁCUO, f. 29
- 4.4 *Clostridium* spp., f. 30
- 4.5 *Staphylococcus aureus*, f. 32
- 4.6 *Salmonella* spp., f. 32
- 4.7 COLIFORMES TOTAIS E TERMOTOLERANTES, f. 33

5 MATERIAL E MÉTODOS, f. 35

- 5.1 MATERIAL, f. 35
 - 5.1.1 **Obtenção da carne de avestruz**, f. 35
 - 5.1.2 **Obtenção da carne suína e de frango**, f. 35
- 5.2 MÉTODOS, f. 36
 - 5.2.1 **Elaboração, embalagem a vácuo e conservação das linguiças**, f. 36
 - 5.2.2 **Análises bacteriológicas**, f. 41
 - 5.2.2.1 Preparo dos meios de cultura, f. 41
 - 5.2.2.2 Preparo das subamostras, f. 41
 - 5.2.2.2.1 *Preparo das subamostras para contagens Staphylococcus spp. coagulase positiva, Clostridium sulfito redutor a 46°C, bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas e enumeração de coliformes termotolerantes*, f. 42
 - 5.2.2.3 Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas, f. 42
 - 5.2.2.4 Contagem de *Clostridium* sulfito redutor a 46°C, f. 43
 - 5.2.2.5 Contagem de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva, f. 44
 - 5.2.2.6 Enumeração de coliformes termotolerantes (*E. coli*), f. 47
 - 5.2.2.7 Isolamento e identificação de *Salmonella* spp., f. 49
 - 5.2.3 **Análises físico-químicas**, f. 53
 - 5.2.3.1 Preparo das subamostras, f. 53
 - 5.2.3.2 Teor de Umidade, f. 53
 - 5.2.3.3 Teor de Proteína, f. 54
 - 5.2.3.4 Teor de Lipídeos, f. 56
 - 5.2.3.5 Teor de Cinzas, f. 56
 - 5.2.3.6 Potencial hidrogeniônico (pH), f. 57
 - 5.2.3.7 Teor de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS), f. 57
 - 5.2.4 **Análise sensorial**, f. 58
 - 5.2.5 **Avaliação instrumental da cor**, f. 60
 - 5.2.6 **Avaliação estatística**, f. 60

6 RESULTADOS e DISCUSSÃO, f. 61

- 6.1 ANÁLISES BACTERIOLÓGICAS, f. 62
 - 6.1.1 **Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e de bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas**, f. 62
 - 6.1.2 **Contagem de *Clostridium* sulfito redutor a 46°C**, f. 66
 - 6.1.3 **Contagem de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva**, f. 67

- 6.1.4 **Enumeração de coliformes termotolerantes (*E. coli*)**, f. 69
- 6.1.5 **Isolamento e identificação de *Salmonella* spp.**, f. 70
- 6.2 **ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS**, f. 71
 - 6.2.1 **Teor de Umidade**, f. 71
 - 6.2.2 **Teor de Proteína**, f. 73
 - 6.2.3 **Teor de Lipídeos**, f. 74
 - 6.2.4 **Teor de Cinzas**, f. 75
 - 6.2.5 **Potencial hidrogeniônico (pH)**, f. 76
 - 6.2.6 **Teor de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)**, f. 78
- 6.3 **ANÁLISE SENSORIAL**, f. 79
- 6.4 **AVALIAÇÃO INSTRUMENTAL DA COR**, f. 82

7 CONCLUSÕES, f. 88

- 7.1 **ANÁLISES BACTERIOLÓGICAS**, f. 88
- 7.2 **ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS**, f. 89
- 7.3 **ANÁLISE SENSORIAL**, f. 90
- 7.4 **ANÁLISE INSTRUMENTAL DA COR**, f. 90

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS, f. 91

1 INTRODUÇÃO

Atualmente a preocupação com uma alimentação saudável vem aumentando, existindo um acréscimo na procura de fontes de carne alternativas, pelo consumidor moderno, que vêm exigindo em sua dieta alimentar carnes que apresentem baixos teores de gordura e, ao mesmo tempo, sejam nutritivas e saborosas. Os novos hábitos alimentares do consumidor se refletem diretamente no comportamento de inúmeros Governos, Organizações Não Governamentais (ONG's) e no setor privado, especialmente naqueles situados em países em desenvolvimento, que identificaram esse nicho de mercado e iniciaram as pesquisas referentes à produção ou iniciaram ativamente a criação desses animais (BALOG et al., 2008; HOFFMAN, 2008).

As carnes das ratitas, aves que não voam, como a avestruz (*Struthio camelus*), o emu (*Dromaius novaehollandiae*), a ema maior (*Rhea americana*) e a ema menor (*Pterocnemia pennata*), estão despertando o interesse comercial, e já estão disponibilizadas no comércio especializado em carnes não convencionais. Entre as ratitas, a carne de avestruz é a mais bem estabelecida no mercado, por dois motivos: a avestruz é criada há muito mais tempo que os emus, e sendo a maior ratita, apresenta maior produção de carne por ave. A carne de avestruz, como já acontece em vários países do Mundo, está conquistando o paladar dos consumidores brasileiros, que são apreciadores de carne bovina (BALOG et al., 2008; COOPER; HORBAÑCZUK, 2002; GILL, 2007).

A estrutiocultura, criação de avestruzes, iniciou-se no Brasil em 1995, como uma nova alternativa pecuária, devido a sua grande produtividade, rusticidade e por não demandar grandes extensões de terra para sua criação, em virtude de em cada hectare poderem ser criados cerca de 20 reprodutores ou 100 animais para engorda.

Desta forma, a avestruz se apresenta como uma atividade pecuária vantajosa para pequenas e grandes propriedades. O Brasil é um dos maiores produtores e exportadores mundiais de alimentos, com grandes áreas agrícolas, o que o credencia a se tornar um grande produtor de carne, couro e plumas de avestruz.

Considerando-se o histórico da produção no Brasil, pode-se distinguir duas fases, sendo a primeira caracterizada pelo grande entusiasmo para a criação, porém sem sustentabilidade financeira, levando em pouco tempo ao desestímulo aos produtores.

A segunda fase caracteriza-se pela presença de produtores que aplicam novas tecnologias na criação, procurando melhor qualidade da carne, bem como, melhor aproveitamento dos subprodutos do abate.

Considerando o alto valor econômico da carne e de seus derivados, alinhados ao reduzido número de trabalhos em relação aos produtos derivados a base de carne de avestruz, pode-se pontuar a importância da presente pesquisa em embutidos cárneos (linguiça frescal) produzidos a base desta carne em diferentes formulações, proporcionando um melhor aproveitamento da matéria-prima em seus cortes, oportunizando um menor custo ao consumidor e maior rendimento na cadeia produtiva.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Na presente pesquisa objetivou-se promover o estudo de novas formulações na produção de linguiça frescal pura e mista, utilizando a carne de avestruz, e testar a aceitabilidade junto ao consumidor, bem como, o prazo comercial em diferentes métodos de conservação, mantida à temperatura de resfriamento.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Produzir três formulações de linguiça frescal elaborada com carne de avestruz submetidas à embalagem sem vácuo e com vácuo, conservadas em temperatura de resfriamento, 5 ± 2 °C, promovendo a:
- Análises físico-químicas de teores de umidade, lipídeos, proteína e cinzas para a caracterização físico-química das amostras provenientes das diferentes formulações;
- Análises bacteriológicas, físico-químicas (pH) e sensoriais das amostras durante o período de armazenamento para determinar o validade comercial das mesmas;
- Análises sensoriais, durante o tempo de armazenamento, para verificar a aceitabilidade das amostras procedentes dos diferentes tratamentos;

- Análise instrumental da cor para caracterizar colorimetricamente as amostras provenientes dos diferentes tratamentos, durante o período de armazenamento.

3 JUSTIFICATIVA

A introdução de novos produtos no mercado consumidor requer novos procedimentos tecnológicos, garantindo a qualidade – nutricional, sensorial, comercial e sanitária.

A aceitação de um alimento, que possa dar ao consumidor os quatro elementos que reúnem o conceito de qualidade, se constitui em uma das metas tecnológicas que vem sendo implementadas pelas indústrias organizadas, atendendo uma faixa de novos nichos de mercado consumidor que se encontra em plena ascensão.

A carne de avestruz foi escolhida para este experimento, em função de seu crescimento no mercado interno, e suas qualidades nutricionais favoráveis, tais como: o baixo conteúdo de gordura intramuscular e sódio, e o alto conteúdo de ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 e ferro, atendendo a uma grande parcela da população preocupada com a qualidade dos alimentos, a qual os relaciona à saúde.

A eleição do produto cárneo “linguiça” para presente pesquisa deve-se à sua grande aceitação nacional. Constitui-se como relevante ao estudo em tela, considerando as escassas bibliografias sobre o tema relacionado à utilização da carne de avestruz como base nas formulações de embutidos cárneos, especialmente em linguiça.

Em relação à aceitabilidade da carne de avestruz, vários pesquisadores publicaram trabalhos referentes à sua utilização na elaboração de produtos cárneos industrializados, apresentando resultados animadores quanto à viabilidade do emprego desta carne alternativa na produção desses produtos.

Considerando a grande utilização do vácuo nas indústrias de alimentos como método de conservação, este tipo de atmosfera modificada foi utilizado no desenvolvimento da pesquisa.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 AVESTRUZ

4.1.1 Histórico

A avestruz é a maior ave existente, podendo um macho adulto medir até 2,5 metros (m) de altura e pesar mais de 150 quilogramas (kg) (MUSHI et al., 1999), na natureza ela se alimenta principalmente de gramíneas, folhas novas e ramos de arbustos e de árvores (ANGEL, 1996), sendo nativa da África e do Oriente Médio. A estrutiocultura se iniciou em 1863, na África do Sul, tendo como principal propósito, a produção de plumas para a indústria da moda e para equipamentos de limpeza industrial e doméstica. Devido ao colapso do mercado de plumas em 1914, ocorreu o desaparecimento da criação de avestruz na maioria dos países, exceto na África do Sul. Apesar disso, a criação de avestruz foi restabelecida na década de 80, tendo o couro como produto mais importante, mas com um crescente mercado para a carne de avestruz (GILL, 2007).

4.1.2 Mercado

Devido ao seu potencial de produzir carne vermelha saudável, há um progressivo aumento na estrutiocultura e isto se deve, em parte, ao potencial de produção de carne das avestruzes, que é maior que o de ovinos e bovinos criados comercialmente. Além disso, os surtos de encefalopatia espongiforme bovina no gado da Europa aumentaram o receio da população de consumir carne bovina e aceleraram a busca por carnes vermelhas alternativas. A febre aftosa no Reino

Unido e na França exacerbaram a situação na Europa (COOPER; HORBAÑCZUK, 2002).

Uma fêmea de avestruz tem potencial para produzir 20 ou mais filhotes ao ano (MINE et al., 2002). As avestruzes são abatidas geralmente aos 14 meses de idade, para obtenção do máximo de aproveitamento de couro, carne e uma única colheita de penas (HOFFMAN; FISHER, 2001). Com essa idade, uma avestruz pode render 35 kg de carne, desse total, os cortes de carne de alto valor comercial chegam a 90%, comparado com aproximadamente 45% nas outras espécies (COOPER; HORBAÑCZUK, 2002). Segundo Gonzáles-Montalvo et al. (2007), uma vez que o consumo de carne de avestruz vem aumentando, aperfeiçoamentos para a produção de alimentos seguros e a extensão de sua validade comercial são cruciais para venda do produto, tanto para consumo local quanto para exportação. Segundo Paleari et al. (1998), o maior obstáculo para a comercialização é a necessidade de divulgação desta carne junto ao consumidor.

Cada avestruz abatida aos 14 meses pode dar origem a mais de 1,35 metros quadrados (m²) de couro (MEYER et al., 2002), que é obtido à partir do processamento das peles das avestruzes, que são flexíveis, mas resistentes. É considerado de alta qualidade, comparável aos couros de elefantes e crocodilos, sendo utilizado para a confecção de bolsas, malas e sapatos (MINE et al., 2002), competindo no mercado de couro exótico, sendo vendido como um produto de luxo (CLOETE et al., 2004; CLOETE et al., 2006). Estimando-se que este contribua com mais de 50% da renda total dos criadores de avestruz, dependendo da qualidade do produto.

Cada avestruz abatida com 12 meses gera mais de 1,10 kg de penas para serem vendidas (BRAND et al., 2004).

Além da sua importância na criação, os ovos de avestruzes podem ser utilizados na indústria de panificação e suas cascas podem se tornar objetos de arte por meio da gravura e pintura. O volume de um ovo de avestruz equivale, em média, a 24 ovos de galinha (MINE et al., 2002).

Uma vantagem na criação de avestruz é o valor agregado: há um aproveitamento de todo o animal, com menos de 2% de perda (ibid).

Segundo o diretor da Associação dos Empreendedores Paulistas da Estruturocultura, Mauro Branco, a demanda interna no Brasil gira em torno de 15 toneladas/mês. Este montante vem crescendo sucessivamente. E também, a

produção de industrializados como mortadela, salame, linguiça e hambúrguer. A carne vem ganhando espaços importantes em diversos restaurantes de primeira linha na gastronomia nacional (CAMPO & CULTURA, 2008).

A criação de frigoríficos específicos para o abate de avestruz é um dos esforços dos produtores que estão na fase industrial e comercial, já que, o abate é o ponto de partida para todo o processo de formação dos produtos do avestruz. O atraso nos investimentos em plantas frigoríficas gerou um crescimento exponencial do plantel, que tem gerado a dificuldade na comercialização de filhotes e aves para abate (BARBOSA et al. 2007).

No ano de 2007 existiam no Brasil, três frigoríficos habilitados pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF) para abater avestruzes localizados no Estado de São Paulo, sendo um exclusivo para avestruzes, autorizado a exportar. O Estado de Goiás continha um dos mais modernos frigoríficos de avestruz do mundo, mas enfrentava problemas para sua operacionalização. O Estado do Ceará, também contava com uma planta frigorífica com previsão de funcionamento para o ano de 2006. Segundo informações do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento existiam, cerca de vinte pedidos de autorização junto ao SIF para adaptação de frigoríficos para abate de avestruzes em vários Estados da Federação, o que mostra que a cadeia produtiva estava investindo para a industrialização (ibid).

4.1.3 Características da carne

A carne de avestruz é conhecida como uma iguaria, geralmente servida cozida, grelhada ou seca, “biltong”, carne curada seca da África do Sul semelhante ao “Jerked Beef” (BÖHME et al, 1996), sendo considerada e comercializada nas sociedades ocidentais como uma alternativa saudável às demais carnes vermelhas devido às suas propriedades nutricionais: baixos conteúdos de colesterol e de gordura intramuscular e alta porcentagem de ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 (FISHER; HOFFMAN; MELLETT, 2000; GONZÁLES - MONTALVO et al., 2007). Sendo também uma opção para comunidades onde a ingestão da carne suína ou bovina é proibida, muçulmanos e hindus, respectivamente, bem como para pessoas alérgicas (CAPITA et al., 2006).

Em comparação à carne bovina, a carne crua de avestruz tem uma coloração mais escura, devido ao alto conteúdo de heme e ao efeito do alto pH, que varia de 5,8 a 6,2, na retenção de água, resultando em menos refletância da luz (COOPER; HORBAÑCZUK, 2002; SEYDIM et al., 2006). Ainda em relação à cor, a caracterização da carne de avestruz é: $27,35 \leq L^* \leq 37,5$; $13,65 \leq a^* \leq 21,60$; e $0,06 \leq b^* \leq 5,87$. Onde L^* é a luminosidade, significando que quanto maior o valor mais clara a carne; a^* é o teor de vermelho, quanto maior o valor mais vermelha a carne; e b^* é o teor de amarelo, quanto maior o valor mais amarela a carne (HOFFMAN et al., 2008).

Em relação ao sabor e aroma, os consumidores a classificam como mais suave que a carne bovina. A carne de avestruz é caracterizada por um baixo conteúdo de tecido conjuntivo e de colágeno, tornando-a mais macia, característica apreciada pelo consumidor. Além disso, a carne de avestruz não deve ser cozida acima de 80 graus Celsius ($^{\circ}\text{C}$), pois a ausência de gordura intramuscular na carne provoca perda de suculência (COOPER; HORBAÑCZUK, 2002).

As características físico-químicas da carne de avestruz comparadas com as carnes bovina, suína e de frango se encontram listadas a seguir (Quadro 1). O baixo conteúdo de gordura intramuscular na carne de avestruz é uma das mais promissoras características da carne incluídas nas estratégias de “marketing”, sendo recomendada para as pessoas que tentam manter seu peso sob controle, e àquelas que desejam evitar doenças cardiovasculares, mas seu conteúdo de colesterol é comparável ao da carne bovina. O conteúdo de ácidos graxos poli-insaturados na carne de avestruz varia de 30 a 35,1%, enquanto seu conteúdo na carne de frango é de 19% e na carne bovina é de 5%. O teor de 8% de ômega-3 é uma característica vantajosa para a promoção do produto, uma vez que a ingestão deste ácido graxo diminui a incidência de doenças coronárias e é essencial para o crescimento e desenvolvimento humano por todo o ciclo de vida, possuindo ainda propriedades antitrombóticas e antiaterogênicas. Além disso, o baixo conteúdo de sódio na carne de avestruz, 43 miligramas (mg)/100 gramas (g), comparado com a carne bovina, 63 mg/100 g, e com a carne de frango, 77 mg/100 g, é indicado para indivíduos com restrição de sódio na dieta, como os hipertensos. Seu conteúdo de ferro, 2,3 mg/100 g, é mais alto que o da carne bovina, 2,2 mg/100 g, e o da carne de frango, 0,9 mg/100 g, sendo recomendada na dieta de pessoas anêmicas e mulheres grávidas (ibid).

Quadro 1 Características físico-químicas da carne de avestruz comparadas com as carnes bovina, suína e de frango

	Avestruz	Suína	Frango	Bovina
Umidade (%)	76,27 ^a		75,46 ^a	71,6 ^a
	75,1 ^b		75,13 ^d	74,2 ^b
	78,94 ^d			76,14 ^d
Proteína (%)	21,12 ^a	26,7 ^c	21,39 ^a	20,94 ^a
	22,2 ^b			20,1 ^b
	24,4 ^c		30 ^c	24,4 ^c
	16,64 ^d		22,33 ^d	22,36 ^d
Gordura (%)	0,65 ^a	21,1 ^c	3,08 ^a	6,33 ^a
	1,6 ^b		3,3 ^c	4,5 ^b
	2,2 ^c		1,82 ^d	16,7 ^c
	1,8 ^d			1,27 ^d
Cinzas (%)	1,07 ^a		0,96 ^a	1,03 ^a
	1,1 ^b		0,10 ^d	1,2 ^b
	2,42 ^d			1,09 ^d
pH	5,86 ^b			5,84 ^b

^a Sales e Hayes (1996)

^b Paleari et al. (1998)

^c Andrews et al. (2000)

^d Karakök et al. (2010)

Devido ao seu alto pH, a carne de avestruz cria um ambiente ideal para a rápida deterioração bacteriana em certas condições de embalagem. Essa também contém altas concentrações de ácidos graxos poli-insaturados, a tornando mais suscetível à oxidação (SEYDIM et al., 2006).

4.1.4 Produtos industrializados

O pH da carne de avestruz é relativamente alto, tornando essa carne ideal para a industrialização, já que sua capacidade de retenção de água é alta, sendo uma boa característica na elaboração de produtos cárneos, e ainda reduzindo o uso de agentes retentores de água, como os fosfatos (FERNÁNDEZ-LÓPEZ et al., 2003; FISHER; HOFFMAN; MELLETT, 2000).

Böhme et al. (1996) utilizaram com sucesso a carne de avestruz na produção de salame tipo italiano.

Fisher, Hoffman e Mellet (2000) produziram dois tipos de produtos cárneos processados utilizando a carne de avestruz como matéria-prima. Presunto, duas fórmulas com diferentes quantidades de fosfato, e salsicha Viena, duas fórmulas com diferentes quantidades de gordura, e compararam as salsichas com duas salsichas comerciais. Mediante os resultados das análises físico-químicas, colorimétrica e de perda no cozimento, os autores concluíram que a fabricação de produtos industrializados elaborados com carne de avestruz é uma opção viável para a indústria, e pode competir com produtos similares derivados da carne de outras espécies.

Hoffman e Mellett (2003) estudaram a viabilidade de substituir a gordura suína por amido de milho modificado na elaboração de hambúrgueres com baixo teor de lipídeos a base de carne de avestruz, avaliando-os colorimétrica, sensorial e quimicamente. Em seus experimentos empregaram a carne de avestruz dos cortes de filé, aparas sem gordura e aparas contendo tecido conjuntivo e gordura visíveis, utilizando na elaboração dos hambúrgueres 10% de gordura suína ou de substituto de gordura, constituído de 70% de água, 20% de amido de milho modificado e 10% de proteína isolada de soja.

Fernández-López et al. (2003) utilizaram a carne de avestruz para a produção de mortadela Bolonha. Elaboraram três formulações que diferiam na porção carne, sendo duas com carne de avestruz, obtidas uma do músculo *Iliofibularis* e outra do músculo *Femorotibialis medius*, e a outra fórmula com carne bovina do músculo *Subscapularis*. De acordo com a pesquisa, os autores concluíram que a produção deste embutido cárneo a base de carne de avestruz é uma opção viável à indústria, considerando os aspectos físico-químicos, colorimétricos e sensoriais e que este pode competir com outros produtos cárneos que proporcionam saúde.

McKenna et al. (2003) avaliaram a aceitabilidade do consumidor aos produtos elaborados com carne de avestruz, presunto e salsicha. Produziram dois tipos de presunto e outros dois de salsicha polonesa, um tipo com carne de avestruz e outro com carne suína, para ambos os produtos. Realizaram análises físico-químicas e sensoriais. Mediante os resultados das análises, concluíram que os produtos industrializados elaborados à partir de carne de avestruz são mais aceitos quando

finamente cominuídos, temperados, e combinados com carne suína, como no caso da salsicha, quando comparados àqueles preparados como presunto.

Fernández-López et al. (2006) realizaram pesquisas relacionadas às características de qualidade de hambúrgueres elaborados com carne de avestruz, realizando três formulações de hambúrgueres, um com 100% de carne de avestruz, um com 30% de carne bovina e o outro com 30% de carne suína. Realizaram análises microbiológicas, físico-químicas e sensoriais. De acordo com o estudo, concluíram que os hambúrgueres formulados com 100% de carne de avestruz e misturados com carne bovina foram preferidos aos misturados com carne suína e resultaram em produtos mais saudáveis quanto à composição química.

Hautrive et al. (2008) produziram hambúrgueres com diferentes percentuais de carne de avestruz e carne bovina, analisando seus parâmetros físico-químicos e avaliando a aceitação por parte de potenciais consumidores. A partir dos resultados obtidos, concluíram que o hambúrguer misto, o qual obteve maior aceitação, seria uma alternativa à industrialização e comercialização, pois agregado à carne bovina o custo dos hambúrgueres de avestruz são mais acessíveis.

Mastromatteo et al. (2009) prepararam uma formulação de hambúrguer contendo carnes de frango, peru e avestruz em partes iguais, testando suas características microbiológicas sob diferentes atmosferas de embalagem. De acordo com o estudo, concluíram que a produção de hambúrgueres de carne de avestruz, peru e frango é uma alternativa viável para a indústria e que as altas contagens microbianas observadas indicam que uma melhora na qualidade microbiológica das carnes de avestruz, peru e frango é absolutamente necessária para colocação desse produto no mercado.

Cavalheiro et al. (2010) desenvolveram um embutido curado fermentado elaborado com carne de avestruz e suína e determinou suas características físicas. A partir dos resultados obtidos, concluíram que a utilização da carne de avestruz na fabricação de embutidos curados fermentados é uma alternativa viável.

4.2 LINGUIÇA

As carnes são alimentos perecíveis e apresentam prazo comercial variável em função das condições de armazenamento. Desde a Antiguidade, o homem sempre buscou conservar a carne, preservando suas características de qualidade para manter a estocagem de alimentos, originando-se, assim, processos e tecnologias de transformação. Desde essa época, os seres humanos fabricam diferentes tipos de produtos cárneos embutidos, aumentando a validade comercial das carnes, diversificando a oferta de seus derivados e atendendo as exigências do consumidor (LUCINI et al., 2009; MILANI et al., 2003; OLIVEIRA; ARAÚJO; BORGIO, 2005). Os produtos cárneos embutidos são elaborados com carne ou órgãos comestíveis de animais de açougue, são curados ou não, condimentados, cozidos ou não, defumados e dessecados ou não, tendo como envoltório, tripa, bexiga ou outra membrana animal (BRASIL, 1952). Dentre os embutidos se encontra a linguiça, que é um dos produtos cárneos mais produzidos no Brasil, provavelmente porque sua produção, além de não exigir tecnologia sofisticada, utiliza poucos aparelhos e que são de baixo custo (MILANI et al., 2003).

A linguiça é o produto cárneo industrializado, obtido de carnes de animais de açougue, adicionado ou não de tecidos adiposos, ingredientes, embutido em envoltório natural ou artificial, e submetido ao processo tecnológico adequado. Tem como ingredientes obrigatórios: a carne das diferentes espécies de animais de açougue e sal; e como ingredientes opcionais: gordura, água, proteína vegetal e/ou animal, açúcares, plasma, aditivos intencionais, aromas, especiarias e condimentos. Sendo proibido o uso de Carne Mecanicamente Separada (CMS) em sua composição. Apresentando textura, cor, sabor e odor característicos (BRASIL, 2000).

Milani et al. (2003), relataram que na fabricação desse embutido cárneo a matéria prima é cominuída, tornando-se imprópria para o consumo muito rapidamente, por aumentar a superfície de exposição à contaminação e crescimento de microrganismos. Relatam ainda, que por ser um produto frescal, não sofre nenhum tipo de tratamento térmico.

A produção de linguiça exige a adição de sais de cura, como o nitrato e nitrito de sódio e potássio, para que o alimento produzido em escala industrial atinja os

parâmetros característicos de qualidade sensorial – sabor, cor, aroma, textura e conservação do produto. Os sais de cura são amplamente utilizados como aditivos alimentares no processamento de produtos cárneos, pois além de conservarem a carne contra a deterioração bacteriana, são fixadores de cor e agentes de cura (OLIVEIRA; ARAÚJO; BORGIO, 2005). Embora o microrganismo inibido pelo nitrito causador de maior preocupação seja o *C. botulinum*, o nitrito também é efetivo contra o *S. aureus*, desde que em altas concentrações, e sua efetividade aumenta quando o pH é abaixado. O nitrito também é efetivo na inibição de outras bactérias da classe clostridia, como o *C. perfringens* e *C. sporogenes* (JAY, 2000).

A linguiça frescal tem pH por volta de 6,0 e a Atividade de água (Aa) é alta, maior que 0,98. Esse produto deve ser vendido em temperatura de refrigeração e requer tratamento térmico antes do consumo, sendo consumido, frequentemente, frito em óleo, ou assado no forno ou em churrasqueiras (LISERRE et al., 2002; MIYASAKI et al., 2009).

4.2.1 Padrões microbiológicos

Segundo estabelecido na Resolução Diretiva de Colegiado (RDC) nº 12, de 2 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL,2001), que contém os padrões microbiológicos para grupos de alimentos, visando sua qualidade higiênico-sanitária, os microrganismos patogênicos a serem analisados na linguiça frescal e seus padrões são os seguintes:

- Coliformes a 45°C – tolerância para amostra indicativa: 5×10^3 Unidades Formadoras de Colônia (UFC)/g
- *Staphylococcus* spp. coagulase positiva – tolerância para amostra indicativa: 5×10^3 UFC/g
- *Clostridium* sulfito redutor a 46°C – tolerância para amostra indicativa: 3×10^3 UFC/g
- *Salmonella* spp. – tolerância para amostra indicativa: ausência/25g de amostra.

4.2.2 Padrões físico-químicos

Segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Linguiça, Anexo III da Instrução Normativa nº 4, de 31 de março de 2000, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2000), as características físico-químicas das linguiças frescas deve ser:

- Umidade (máx): 70%
- Gordura (máx): 30%
- Proteína (mín): 12%
- Cálcio (base seca) (máx): 0,1%.

4.3 EMBALAGEM A VÁCUO

As modernas técnicas de embalagem de carnes têm a intenção de manter as qualidades, microbiológica e sensorial, do produto. O prazo comercial do produto pode ser estendido devido à inibição ou retardamento do crescimento da microbiota indesejável, podendo ser atingido por meio da manipulação do microambiente da carne. Técnicas de embalagem sob vácuo e Embalagem em Atmosfera Modificada (EAM) são utilizadas na indústria alimentícia para aumentar a validade comercial dos produtos (SEYDIM et al., 2006).

A embalagem a vácuo, devido à exclusão de O_2 apresenta um efeito significativo na qualidade microbiana de carne de avestruz a partir do 3º dia de conservação. A combinação da embalagem a vácuo e baixas temperaturas de estocagem, 4°C, melhora a qualidade microbiana da carne de avestruz durante a estocagem, quando comparado à embalagem em ar e temperaturas de estocagem mais altas, 10°C (CAPITA et al., 2006).

Com base na contagem de bactérias aeróbias, a validade comercial de bifes de carne de avestruz estocados a 2°C, em exposição ao ar atmosférico seria de, no máximo, oito dias, enquanto seria de 12 dias para embalados sob vácuo ou embalagem em atmosfera modificada (EAM). Amostras a vácuo, EAM e ar mostraram similares valores de L^* (luminosidade) durante o período de estocagem. Os valores de a^* (vermelho) das amostras a vácuo, ar e EAM diminuíram durante o

período de estocagem, com um decréscimo maior nas amostras a vácuo e EAM. (FERNÁNDEZ-LÓPEZ et al., 2008).

A carne de avestruz conservada a temperatura de 4°C, sob embalagem com altas concentrações de O₂ é mais clara, maior L*, enquanto sob vácuo é mais escura, menor L*, que as embaladas sob N₂ ou ar. O valor de a*, vermelho, se mantém durante a estocagem, na embalagem a vácuo e em altas concentrações de N₂, mas diminui nas embalagens sob O₂ e em ar. A diminuição do valor vermelho decorre da oxidação da oximioglobina. O valor de b*, amarelo, reduz durante a estocagem sob O₂ e ar, similarmente ao decréscimo de a*. A carne de avestruz estava em condições de ser vendida em menos de seis dias, baseado em todos os atributos da carne mensurados (SEYDIM et al., 2006).

Otremba, Dikeman e Boyle (1999) pontuaram que a carne de avestruz embalada a vácuo previamente congelada a -40°C e conservada a 0°C possuiu prazo comercial de 14 dias, com contagem de bactérias mesófilas de menos de 6 log₁₀UFC/g. Após 14 dias de estocagem o aroma e a coloração se tornaram menos aceitáveis e mais de 50% da superfície da carne intacta e moída se tornou marrom.

Alonso-Calleja et al. (2004) realizaram um estudo para determinar a qualidade microbiológica da carne de avestruz embalada em vácuo vendida na Espanha sob temperatura de refrigeração, durante a validade comercial. Observaram 7,90 log₁₀UFC/g na contagem de bactérias mesófilas e 6,62 log₁₀UFC/g na de psicotróficas.

4.4 *Clostridium* spp.

Clostridium perfringens é um bastonete Gram-positivo, formador de esporos, anaeróbio. É uma bactéria mesófila, com crescimento ótimo entre 37 e 45°C, a mais baixa temperatura para crescimento é 20°C e a mais alta 50°C. Muitas estirpes crescem em faixa de pH de 5,5 a 8. Seu crescimento é inibido por aproximadamente 5% de cloreto de sódio (NaCl). São divididos em cinco tipos, A, B, C, D, e E, devido a produção de certas exotoxinas. É amplamente distribuído no ambiente: solo, poeira, água, alimentos, especiarias e trato intestinal de homens e outros animais. Contamina a carne diretamente do matadouro ou por contaminação subsequente da carcaça, contêineres, manipuladores ou poeira (JAY, 2000). Essa ampla distribuição

de esporos tem sido considerada o maior fator de contribuição para a doença alimentar originada pelo *C. perfringens*. A doença alimentar causada por esse microrganismo é a terceira em incidência entre todas as doenças veiculadas por alimentos nos EUA, causando cerca de 250.000 casos de intoxicações alimentares anuais. Mortes são raras, mas podem ocorrer em idosos, pessoas debilitadas, ou então, pessoas predispostas à doença. A maioria dos alimentos implicados nessa intoxicação são produtos cárneos e de aves (JUNEJA; MARKS; THIPPAREDDI, 2009; SONGER, 2009). Para ocorrer a intoxicação devem ser ingeridas grandes quantidades de células viáveis de *C. perfringens*, que produzem a enterotoxina, que causa a intoxicação, ao esporularem no trato intestinal (JAY, 2000).

O *Clostridium botulinum* é uma bactéria anaeróbica, bastonete Gram-positivo, formador de esporos, com esporos terminais ou subterminais ovais ou cilíndricos, habitante normal de solo e água. São reconhecidos sete tipos, com base na sorologia das toxinas altamente tóxicas produzidas: A, B, C, D, E, F e G. As toxinas são produzidas pelo microrganismo enquanto cresce sob ótimas condições nos alimentos, sua ingestão causa o botulismo. Os tipos A, B, E, F e G causam intoxicação em humanos. Cresce em faixa de temperatura de 3,3°C a 50°C, pH maior ou igual a 4,7, mínimo de 0,94 de atividade de água e concentração de NaCl menor ou igual a 10%, não consegue crescer e produzir toxina quando em competição com um grande número de microrganismos. Os alimentos que contém toxina são geralmente os que sofreram tratamento térmico, que elimina outros tipos de microrganismos. As toxinas são termolábeis, podendo ser destruídas devido ao aquecimento a 80°C por 10 minutos ou temperatura de fervura por poucos minutos (ibid).

Como consequência da ampla distribuição dos esporos do *C. botulinum* no ambiente, estes podem ser introduzidos nos alimentos processados, em materiais crus ou por contaminação dos alimentos após o processamento. Este microrganismo apresenta um perigo em alimentos com baixa acidez e alta umidade, especialmente quando os alimentos refrigerados não são mantidos a baixas temperaturas. A conservação de alimentos a temperaturas indevidas por tempo prolongado tem sido responsável por vários surtos de botulismo. O botulismo de origem alimentar é raro, mas é importante em saúde pública, devido a sua alta taxa de mortalidade, e alta possibilidade de exposição de pessoas aos produtos contaminados. A neurotoxina botulínica age na junção neuromuscular pré-sináptica bloqueando a liberação de

acetilcolina, levando, com isso, à fraqueza muscular, paralisia, parada respiratória e morte (YOON et al., 2005).

4.5 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus são cocos Gram-positivos com formato semelhante a cacho de uva. É uma bactéria mesófila, com o crescimento ocorrendo na faixa de temperatura de 7°C a 47,8°C, e a produção de enterotoxinas entre 10°C e 46°C, com temperatura ótima de 40°C a 45°C. O *S. aureus* pode crescer bem em concentrações de cloreto de sódio (NaCl) de 7 a 10% e algumas estirpes podem crescer em concentrações de 20%. Pode crescer em faixa de pH de 4 a 9,8, com faixa ótima de 6 a 7 e em alimentos com atividade de água de 0,86 (JAY, 2000). É reconhecido como um indicador de deficiente higiene do alimento e do processamento e uma importante causa de gastroenterites em todo o mundo. A intoxicação alimentar causada pela intoxicação estafilocócica é devida a ingestão de alimentos que contenham as enterotoxinas estafilocócicas termotolerantes. Uma dose de enterotoxina $\leq 1,0$ micrograma (μg) em alimentos contaminados produz sintomas de intoxicação estafilocócica, mas esse nível de toxina é tipicamente alcançado somente quando a população de *S. aureus* é maior que 10^5 Unidades Formadoras de Colônia (UFC)/ g. Se as condições ambientais durante a preparação do alimento e sua estocagem permitem o crescimento de *S. aureus*, por tempo e temperatura indevidos, por exemplo, as toxinas estafilocócicas podem ser produzidas, sendo uma ameaça potencial para os consumidores. Essas características capacitam este microrganismo a crescer e sobreviver em uma larga variedade de condições ambientais, bem como se manter em ambientes estressantes por longos períodos (VALERO et al., 2009).

4.6 *Salmonella* spp.

As *Salmonella* spp. são bastonetes pequenos Gram-negativos. O pH ótimo para o seu crescimento é próximo à neutralidade, entre 6,6 e 8,2, mas pode crescer entre 4,0 e 9,0. A menor temperatura para crescimento é 5,3°C e a maior de 45°C. Não tolera concentrações de NaCl acima de 9%, o nitrito também é eficiente como

bactericida, principalmente em baixo pH. Todas as espécies de *Salmonella* spp. são destruídas à temperatura de pasteurização do leite, 72°C. São amplamente distribuídas pela natureza, tendo os humanos e animais como principais reservatórios, sendo seu principal habitat o trato intestinal de aves, répteis, animais de criação e homens, sendo excretadas nas fezes, dessa forma podendo ser transmitidas por insetos e outros animais a grande número de lugares incluindo água e alimentos. Causa gastroenterite a partir da ingestão de alimento contendo um número significativo de espécies ou sorotipos do gênero *Salmonella* spp. Os veículos mais comuns de salmoneloses aos humanos são os ovos, aves, carnes e produtos cárneos (JAY, 2000). A *Salmonella* spp. é um dos mais prevalentes patógenos veiculados através de alimentos e infecta mais de 160.000 pessoas anualmente na Europa, com taxa de incidência de 35 casos por 100.000 habitantes. O custo anual da infecção alimentar por *Salmonella* spp. deve chegar a € 2,8 bilhões por ano (MCGUINNESS et al., 2009).

4.7 COLIFORMES TOTAIS E TERMOTOLERANTES

Coliforme não é uma classificação taxonômica, mas uma definição de trabalho para descrever um grupo de bactérias Gram-negativas, facultativamente anaeróbicas, em forma de bastonetes, que fermentam lactose, produzindo ácido e gás dentro de 48 horas (h) a 35°C. Os coliformes fecais são uma parte dos coliformes totais, que crescem e fermentam a lactose a elevada temperatura de incubação, 45,5°C, sendo também referidos como coliformes termotolerantes. O grupo dos coliformes termotolerantes consiste basicamente da *Escherichia coli*, mas outras bactérias entéricas como a *Klebsiella* spp. também conseguem fermentar lactose a essas temperaturas (FDA, 2002). A *Escherichia coli* é uma habitante normal do trato intestinal de humanos e animais de sangue quente, mas certas estirpes causam doença entérica em seus hospedeiros e são chamadas de *E. coli* diarréogênicas (DEC). Baseado nas distintas características epidemiológicas e clínicas, determinantes específicos de virulência e outros marcadores característicos, como as enterotoxinas e fenótipo de aderência, as estirpes DEC tem sido classificadas nos seguintes tipos patogênicos: *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* produtora de Shiga toxina (STEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli*

enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enteroagregativa (EA_{Agg}EC) e *E. coli* difusivamente aderente (DAEC) (HIDAKA et al., 2009). A *E. coli* é um indicativo de contaminação fecal, baseado no princípio de que a *E. coli* se encontra de forma abundante nas fezes dos humanos e de animais e não é frequentemente achada em outros nichos (FDA, 2002).

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 MATERIAL

5.1.1 Obtenção da carne de avestruz

A carne de avestruz utilizada foi obtida a partir de aparas de carne de avestruzes abatidas com idade entre 12 e 14 meses em matadouro-frigorífico sob o Serviço de Inspeção Federal. Após terem sido resfriadas à temperatura de 2°C em 24 horas. Essas carnes foram removidas das carcaças das aves 24 horas após o abate, embaladas, encaixotadas e congeladas à -35°C sendo estocadas à temperatura de -18°C.

Para elaboração das linguiças, as carnes de avestruz foram submetidas ao processo de descongelamento lento em refrigerador a temperatura de 7°C em um período de 18 horas.

5.1.2 Obtenção da carne suína e de frango

A carne suína utilizada foi obtida do corte lombo, também foi utilizado toucinho sem pele. A carne de frango utilizada foi obtida dos cortes de coxa e sobrecoxa. Ambas as matérias primas foram obtidas no comércio varejista, procedentes de matadouros-frigoríficos sob Serviço de Inspeção Oficial e foram conservadas congeladas a -18°C.

Para elaboração das linguiças, as carnes suína e de frango foram submetidas ao processo de descongelamento lento em refrigerador a temperatura de 7°C em um período de 18 horas.

5.2 MÉTODOS

5.2.1 Elaboração, embalagem a vácuo e conservação das linguiças

A elaboração das linguiças foi realizada na planta industrial do Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial (SENAI), situado no município de Vassouras, Estado do Rio de Janeiro. Foram elaboradas três formulações com os seguintes percentuais de carne: A – 100% carne de avestruz; B – 75% carne de avestruz + 25% carne suína; C – 50% carne de avestruz + 25% carne suína + 25% carne de frango.

Foi utilizada a seguinte formulação (Quadro 2):

Componentes	Quantidade
Carne	7,25 kg
Toucinho sem pele	1,44 kg
Sal (NaCl)	197,3 g
Açúcar (0,1%)	8,7 g
Alho (0,2%)	17,4 g
Pimenta do reino preta (0,05%)	4,3 g
Pimenta malagueta em pó (0,03%)	2,6 g
Vinho branco (6 ml/kg)	52,1 ml
Noz moscada (0,05%)	4,3 g
Água gelada (2%)	174,0 ml
Pó prague (sal de cura) (1,25 g/kg)	20,8 g
Eritorbato de sódio (1,25 g/kg)	10,9 g

Quadro 2 Formulação utilizada.

Fonte: Aula de Tecnologia de Carnes e Derivados da (UFF) 2009

Foram utilizados quatro tratamentos (Quadro 3):

Fórmulas	Embalagem	Tratamento
A	Ar	A
	Vácuo	A'
B	Vácuo	B
C	Vácuo	C

Quadro 3 Tratamentos empregados

As carnes e o toucinho foram cortados manualmente, com auxílio de facas de aço inoxidável, em forma de cubos de tamanhos irregulares. Os cubos de carne e toucinho foram cominuídos, separadamente, em moedor de carnes de 106 milímetros (mm) (MC 106, Ibrasmack®) (Fig. 1), utilizando-se disco de 10 mm, sendo colocados em recipientes próprios. Em ato contínuo, foi realizada a formulação: as carnes e demais ingredientes foram pesados, carnes e o toucinho na balança eletrônica portátil (2124, Toledo®), demais ingredientes sólidos na balança de precisão (Ohaus Adventure, Toledo®), a água gelada e o vinho branco, medidos seus volumes com o auxílio de uma proveta. As porções de cada ingrediente da formulação foram colocadas na misturadeira sem vácuo (MT 200, Incomaf®) (Fig. 2), sendo misturadas mecanicamente, de forma homogênea, por um período de 15 minutos, levando à formação de uma massa cárnea uniforme, sendo imediatamente embutida em tripa natural de suíno calibre 30/32 por meio da utilização de uma embutideira (RS 1040, Incomaf®), seguida de amarração dos gomos em tamanhos de 10 cm (Fig. 3).

Após o embutimento, cada tratamento teve as amostras embaladas separadamente, e identificadas com a análise que iriam ser submetidas (M – microbiológica; F – físico-química e colorimétrica; e S – sensorial), o tratamento (A – 100% avestruz sem vácuo; A' – 100% avestruz com vácuo; B – 75% avestruz e 25% suína; C – 50% avestruz, 25% suína e 25% frango) e o dia em que seriam analisadas (1, 4, 8, 12, 16, 20).

Cada tratamento teve 30 embalagens (5 repetições X 6 dias de análise) com aproximadamente 50g para análises microbiológicas, 30 com aproximadamente 100g para as análises físico-químicas e colorimétricas e seis com aproximadamente 500g para as análises sensoriais. Para a obtenção do vácuo e selagem das embalagens foi utilizada a embaladora a vácuo (300 B, Selovac®) (Fig. 4).

Em seguida à embalagem, as amostras foram, então, acondicionadas em bolsas isotérmicas e transportadas até o local do armazenamento, sendo estocadas em refrigerador doméstico (Brastemp 360, Brastemp®) à temperatura de $5 \pm 2^\circ\text{C}$ até os dias determinados para as análises (1, 4, 8, 12, 16 e 20).

Para as análises, as amostras destinadas ao controle microbiológico foram transportadas em bolsa isotérmica, sendo as amostras destinadas às análises físico-químicas, colorimétricas e sensoriais mantidas sob congelamento em freezer (2001, Continental®) a temperatura de -18°C , as quais eram submetidas ao descongelamento nos dias que precediam as respectivas análises (Fig. 5 a 8).



Fig. 1 Máquina moedora (MC 106, Ibrasmack®):
Carne submetida à cominuição



Fig. 2 Componentes da formulação na misturadeira (MT 200, Incomaf®)



Fig. 3 Linguiças embutidas em tripa natural em gomos



Fig. 4 Embaladora à vácuo (300 B, Selovac®): Embalagens contendo linguiça submetidas à produção de vácuo e selagem



Fig. 5 a 8 Amostras de linguiça dos diferentes tratamentos A (100% avestruz, sem vácuo), A' (100% avestruz, com vácuo), B (75% avestruz, 25% suína, com vácuo) e C (50% avestruz, 25% suína e 25% frango, com vácuo), respectivamente, no dia 8 de estocagem.

5.2.2 Análises bacteriológicas

As análises bacteriológicas foram realizadas no Laboratório de Controle Microbiológico de Produtos de Origem Animal do Departamento de Tecnologia dos Alimentos da Faculdade de Veterinária da UFF. De acordo com exposto na RDC nº 12 (BRASIL, 2001) foram realizadas as seguintes análises bacteriológicas: Número Mais Provável de coliformes termotolerantes, Contagem *Staphylococcus* spp. coagulase positiva, Contagem *Clostridium* sulfito redutor a 46°C, e Isolamento e Identificação *Salmonella* spp. Também foram realizadas as Contagens de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e psicotróficas para verificação do estado de conservação dos tratamentos.

5.2.2.1 Preparo dos meios de cultura

A vidraria utilizada no experimento foi previamente esterilizada em estufa a 170°C por uma hora. As soluções, reagentes e meios de cultura foram preparados conforme suas especificações. As ponteiras e os micro tubos tipo “Eppendorf” utilizados foram esterilizados em autoclave (Fabbe®) a temperatura de 121°C por um período de 15 minutos, bem como alguns meios de cultura conforme recomendação técnica do fabricante.

5.2.2.2 Preparo das subamostras

No interior da câmara asséptica, após sanificação da bancada com álcool 70%, cada embalagem com amostra foi aberta com assepsia, na zona de segurança do bico de Bunsen, sendo cortada, com auxílio de tesoura e pinça flambadas e resfriadas, e pesados 25 g em embalagem plástica estéril, situada dentro de uma vasilha plástica sanificada, ambas em cima da balança de precisão (BL 3200H, Shimadzu®), na zona de segurança.

5.2.2.2.1 *Preparo das subamostras para contagens Staphylococcus spp. coagulase positiva, Clostridium sulfito redutor a 46°C, bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas e enumeração de coliformes termotolerantes*

Em seguida à pesagem, foram adicionados aos 25 g da amostra, 225 ml de Solução Salina Peptonada (SSP) a 0,1%. Posteriormente, foi realizada a homogeneização, uma vez que a linguiça já é cominuída, das amostras em “stomacher” (80, Seward®) em velocidade normal por 60 segundos. A partir da suspensão amostral (diluição 10^{-1}) foram realizadas diluições decimais seriadas retirando-se 100 μ L desta diluição, com o auxílio de pipeta automática (Digipet®), provida de ponteira azul e colocando em eppendorf contendo 900 μ L de SSP 0,1%, de forma a obter as diluições 10^{-2} e 10^{-3} e subseqüentes, quando necessário. As diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} serviram de inóculos para os diferentes meios de cultivo utilizados no início da pesquisa. De acordo com o crescimento bacteriano novas diluições foram realizadas.

5.2.2.3 Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas

Para a realização da respectiva análise, foi utilizada a metodologia preconizada na Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003, do MAPA (BRASIL, 2003).

A partir das diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} , foram inoculados 100 μ L em placas de Petri e posteriormente foi adicionado o meio Ágar Padrão para Contagem (APC) (M091, Himedia®) previamente fundido e mantido em banho Maria (1102, Fanem®) a 45°C. As placas foram homogeneizadas no sentido horário e anti-horário para a distribuição uniforme do crescimento das colônias e, após solidificação, incubadas em posição invertida a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 h para contagem de mesófilas e a 7°C por 10 dias para contagem de psicotróficas.

O APC é um meio que não contém indicadores ou inibidores, sendo utilizado para a determinação do conteúdo microbiano total no alimento (MERCK, 2005).

Após incubação foi realizada a contagem das placas que continham entre 20 e 200 colônias. Foram contadas todas as colônias (Fig. 9). O resultado foi o número de colônias contadas multiplicado pela diluição e pelo fator de correção.

Nas contagens, em que em todas as placas o número de colônias encontrado esteve fora do intervalo de precisão e repetibilidade da metodologia aplicada, foi realizada a contagem de pelo menos uma placa, quando possível.

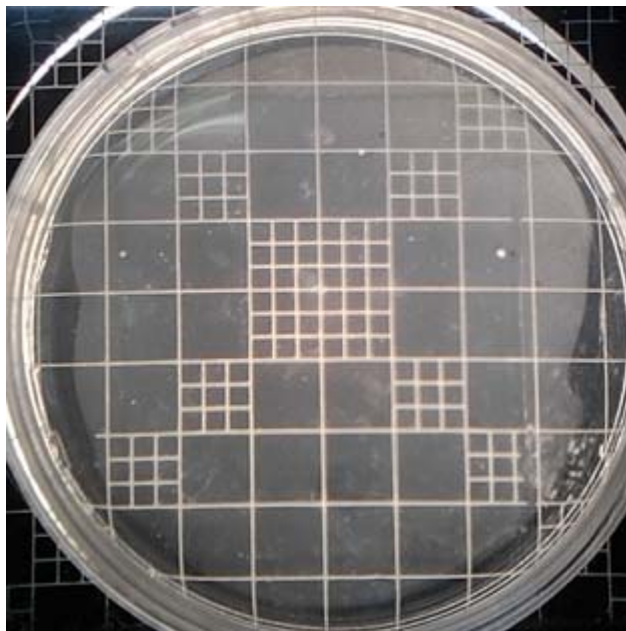


Fig. 9 Crescimento bacteriano no meio APC

5.2.2.4 Contagem de *Clostridium* sulfito redutor a 46°C

Para a realização da respectiva análise, foi utilizada a metodologia preconizada na Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003, do MAPA (BRASIL, 2003).

A partir da diluição 10^{-1} , visto que no pré-experimento não houve crescimento de *Clostridium* sulfito redutor a 46°C em nenhuma placa, foram inoculados 100 µL em placas de Petri e posteriormente foi adicionado o meio Ágar Sulfito Polimixina Sulfadiazina (SPS) (M632, Himedia®) previamente fundido e mantido em banho Maria (1102, Fanem®) a 45°C. As placas foram homogeneizadas no sentido horário e anti-horário para a distribuição uniforme do crescimento das colônias e, após solidificação, incubadas a 46°C por 24 h em atmosfera microaerófila dentro de jarras de anaerobiose.

A condição de anaerobiose em jarra Gaspak® foi obtida pelo uso dos geradores de anaerobiose Anaerobac (Probac®). As placas solidificadas foram colocadas na jarra, o gerador de anaerobiose foi ativado e colocado na jarra, conforme suas especificações, e a jarra foi fechada hermeticamente.

O meio Ágar SPS contém um grande espectro de nutrientes. Sulfito é reduzido pela maioria das bactérias da classe *Clostridia* (incluindo *Cl. perfringens*) a sulfeto, que reage com o citrato de ferro e faz com que as colônias fiquem pretas. Outros microrganismos sulfito redutores são fortemente suprimidos pela polimixina e sulfadiazina (sulfapirimidina). O baixo conteúdo de sulfito permite o crescimento dos *Clostridia* sensíveis ao sulfito que também exibem colônias adequadamente pretas (MERCK, 2005).

Após a incubação, foram contadas as placas que continham colônias pretas. Todas as colônias pretas foram contadas (Fig. 10).

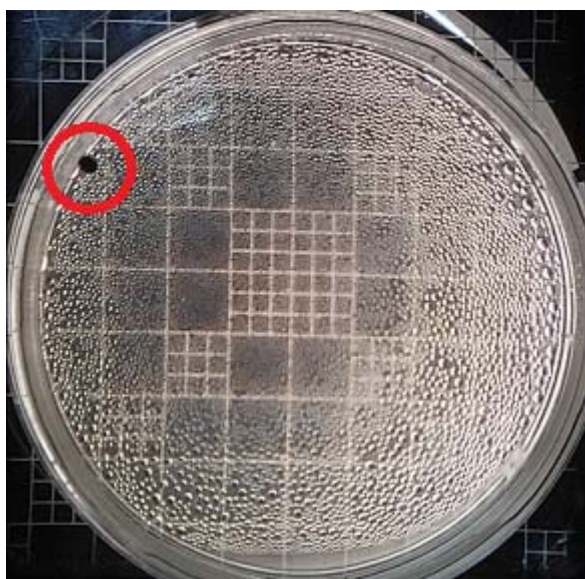


Fig. 10 Crescimento bacteriano no meio ágar SPS

5.2.2.5 Contagem de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva

Para a realização da respectiva análise, foi utilizada a metodologia preconizada pela Instrução normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003 (BRASIL, 2003).

A partir das diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} , foram inoculados 100 μL em placas de Petri contendo meio Ágar Baird Parker (M043, Himedia®) previamente acrescido de gema de ovo e telurito de potássio. O inóculo foi espalhado com o auxílio do bastão de “hockey” e após absorção, as placas foram incubadas, em posição invertida, a 35-37°C por 48 h.

No meio Ágar Baird Parker verifica-se a habilidade das bactérias pertencentes ao gênero *Staphylococcus* de crescerem na presença de telurito de potássio em

combinação com cloreto de lítio e glicina. O *Staphylococcus* spp. reduz anaeróbia e aerobiamente o telurito de potássio, produzindo colônias pretas. A suplementação do meio com gema de ovo possibilita a verificação das atividades lipolítica e proteolítica, por meio do aparecimento de um halo de precipitação e outro de transparência ao redor da colônia, respectivamente (MERCK, 2005).

Após a incubação, foi realizada a seleção e contagem das placas que continham entre 20 e 200 colônias. Foram contadas as colônias típicas (pretas brilhantes com anel opaco, rodeadas por um anel claro) e as atípicas (pretas brilhantes sem halo ou com um dos halos) (Fig. 11). Foi procedida ainda a seleção de três colônias típicas e três atípicas para serem repicadas com alça de platina em tubos contendo caldo "Brain Heart Infusion" (BHI) (M043, Himedia®) e incubadas a 35-37°C por 24 h.

Após a incubação, de cada tubo de BHI foi retirada uma alíquota para a realização de esfregaço em lâmina, corado pelo método de Gram. Na lâmina, foram observadas as características morfo-tintoriais ao microscópio (BX41, Olympus®), através da bacterioscopia de imersão. Os cultivos que à microscopia óptica apresentaram cocos Gram-positivos, foram selecionados para as provas de catalase (Fig. 12 e 13).

* Prova da catalase

Uma alíquota de 200 µL de cada subcultivo em BHI foi transferida com auxílio da pipeta automática (Digipet®) para uma placa de vidro dividida em quadrados. Foi feito o gotejamento de peróxido de hidrogênio 3% em cima da alíquota do subcultivo em quantidade igual ao desta. Foram consideradas positivas as amostras que apresentaram formação de bolhas após o gotejamento. A efervescência indica que o cultivo possui a enzima catalase, que decompõe o peróxido de hidrogênio, liberando oxigênio (Fig. 14).

* Prova da coagulase

Foram transferidos 200 µL dos subcultivos em BHI, positivos para a prova de catalase, para tubos de ensaio contendo o mesmo volume de plasma de coelho (Coagu-plasma, Larboclin®) previamente diluído em solução fisiológica estéril. A incubação foi realizada a 35-37°C por 18 a 24 h. A prova se baseia na comprovação da capacidade de coagular o plasma oxalatado de coelho pela ação da enzima coagulase. A formação de rede de fibrina, de coágulo grande e organizado ou a coagulação total, foi considerada resultado positivo (Fig. 15).

O resultado final da contagem foi obtido pelo número de colônias da contagem inicial, multiplicado pela diluição e pelo fator de correção, quando todas as colônias repicadas foram confirmadas.

Quando o número de colônias confirmadas foi diferente do número de repicadas, o resultado final foi calculado utilizando-se a fórmula:

$$\text{Resultado} = \frac{\text{colônias contadas} \times \text{colônias confirmadas} \times \text{diluição utilizada} \times \text{fator de correção}}{\text{colônias repicadas}}$$

Como para confirmação foram repicadas três colônias típicas e três atípicas, o resultado final foi obtido pela soma dos resultados das colônias típicas e atípicas confirmadas.

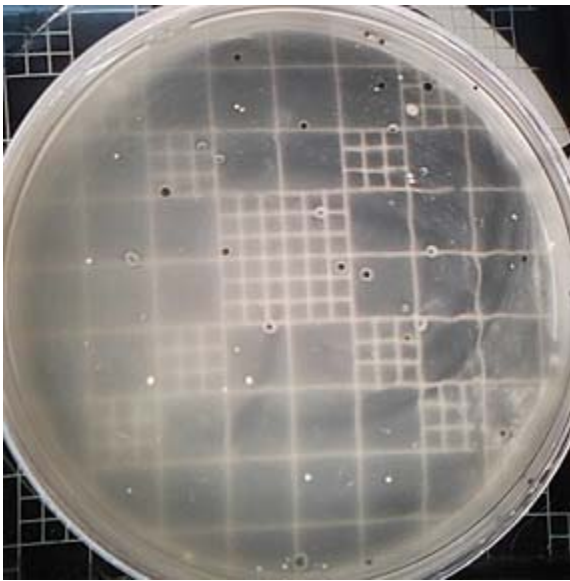


Fig. 11 Crescimento bacteriano em meio Ágar Baird-Parker

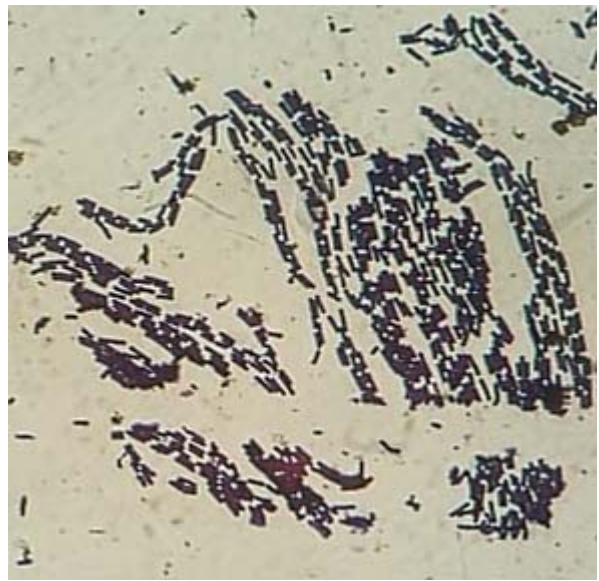


Fig. 12 Esfregaço em lâmina corado pelo método de Gram evidenciando bacilos Gram positivos

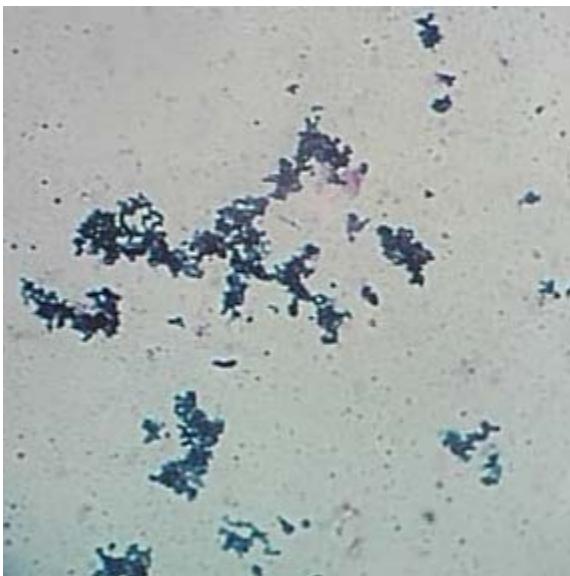


Fig. 13 Esfregaço em lâmina corado pelo método de Gram evidenciando cocos Gram positivos

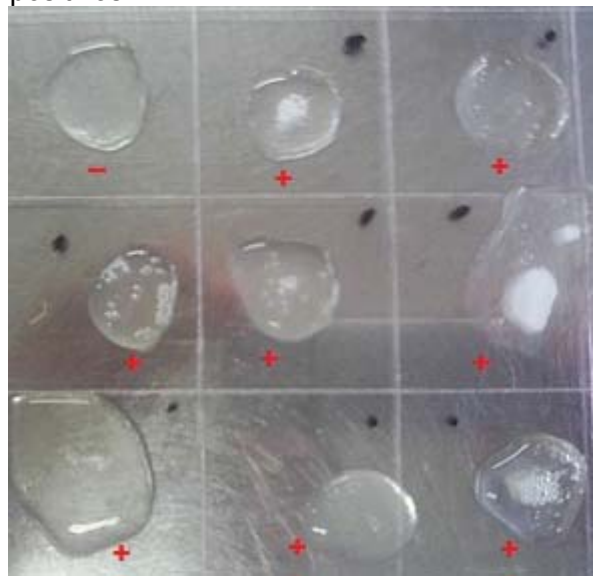


Fig. 14 Prova da catalase, resultados indicados em vermelho



Fig. 15 Prova da coagulase: resultado positivo

5.2.2.6 Enumeração de coliformes termotolerantes (*E. coli*)

Para a realização da respectiva análise, foi utilizado o método de miniaturização (MERCK, 2000 modificado por FRANCO; MANTILLA, 2004), que objetiva reduzir os gastos financeiros e obter resultados mais rápidos, sem interferir na fidedignidade e especificidade da metodologia original.

A partir das diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} , foram transferidos 100 μL para três séries de três micro tubos tipo “Eppendorf” contendo 1000 μL do meio Fluorocult LMX Broth modified acc. Marrafi and Ossmer” (10620, Merck®), sendo posteriormente incubados a 35-37°C por 48 h.

No meio Fluorocult, a presença do tampão fosfato garante um rápido crescimento de coliformes e o lauril sulfato inibe o crescimento de bactérias Gram positivas. A identificação simultânea de coliformes totais e *E. coli* é possível pela adição dos substratos cromógeno e fluorogênico ao meio. O substrato cromógeno é metabolizado pelos coliformes, que produzem viragem da cor do meio para verde azulado. O substrato fluorogênico atua como substância intensificadora da síntese enzimática e aumenta a atividade da β -D-galactosidase, altamente específica para *E. coli*, cuja presença é confirmada pela exposição à luz ultravioleta, mediante aparecimento de fluorescência. O conteúdo de triptofano do meio melhora a reação do indol, obtida a partir da adição do Reativo de Kovacs (09293, Merck®), onde, na presença do indol, ocorre aparecimento de um anel vermelho na superfície do meio, indicando teste positivo (MERCK, 2005).

Após a incubação, foi realizada a leitura: os tubos que não apresentaram mudança de cor foram considerados negativos, e os que apresentaram mudança de coloração do meio para verde azulada foram considerados positivos para coliformes totais (Fig. 16); sendo estes expostos à lâmpada ultravioleta 4W/366nm (13203, Merck®) (Fig. 17), dentre aqueles que apresentaram fluorescência azul foi gotejado Reativo de Kovacs. Os cultivos que apresentaram formação de anel vermelho na superfície do meio após o gotejamento foram considerados positivos para *E. coli* (Fig. 18).

Os tubos positivos em cada uma das diluições foram anotados, para posterior cálculo do Número Mais Provável (NMP) por grama de amostra, aplicando-se a seguinte fórmula:

$$\text{NMP} = \frac{\text{NMP da tabela} \times \text{fator de diluição intermediária} \times \text{fator de correção (10)}}{100}$$

A tabela para a obtenção do NMP utilizada encontra-se na Instrução Normativa nº 62 (BRASIL, 2003).



Fig. 16 Tubos apresentando viragem do meio para verde azulado, positivos para coliformes totais

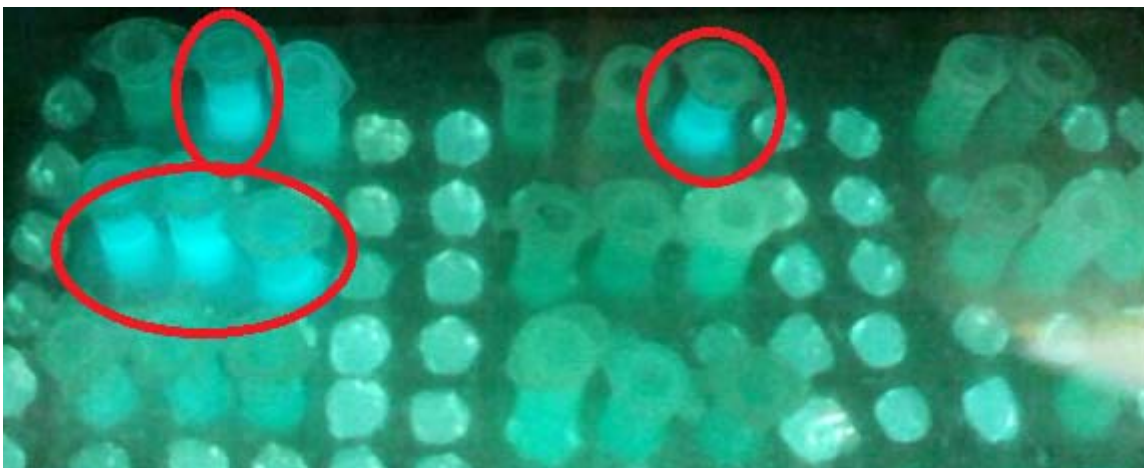


Fig. 17 Tubos sob luz ultravioleta, positivos exibindo fluorescência azulada



Fig. 18 Tubos em destaque, apresentando formação de anel vermelho após o gotejamento do reagente de Kovacs: Indol positivo.

5.2.2.7 Isolamento e identificação de *Salmonella* spp.

Para a realização da respectiva análise, foi utilizado o método rápido proposto por Pignato et al. (1995).

Foram pesados assepticamente 25 g da amostra em embalagem estéril, situada dentro de uma vasilha plástica sanificada, ambas em cima da balança de precisão (BL 3200H, Shimadzu®), na zona de segurança. Em seguida, foram adicionados 225 ml de caldo Salmosyst base, que tem como fórmula:

- 5 g de peptona de caseína;
- 5 g de peptona de carne;
- 5 g de Cloreto de sódio (NaCl);
- 10 g de Carbonato de cálcio;
- 1000 mL de água destilada.

Posteriormente foi realizada a homogeneização da amostra em “stomacher” em velocidade normal por 60 segundos, sendo incubados por seis horas a 35-37°C. Esta etapa constituiu o pré-enriquecimento, que objetivou minimizar os efeitos do processamento industrial dos alimentos, capazes de promover estresse nas células de *Salmonella* spp., sem inativá-las biologicamente.

Após a incubação, foram retirados do caldo base 10 mL do meio crescido e transferidos para um tubo de ensaio contendo 1 mL do caldo Salmosyst suplemento, sendo incubados a 35-37°C por 18 h, consistindo na etapa de enriquecimento seletivo.

Fórmula do Salmosyst suplemento:

- 8 g de sais de bile bovina;
- 0,07 g de verde brilhante;
- 10 g de Carbonato de cálcio;
- 100 mL de água destilada;
- 2 mL de tetracionato.

A presença de verde brilhante e sais de bile bovina na formulação deste suplemento inibem o crescimento da microbiota acompanhante Gram positiva.

Após o período de incubação foram semeadas alíquotas das subamostras em caldo Salmosyst através da técnica de esgotamento em placas de Petri contendo os meios Ágar *Salmonella* diferencial ou Ágar Rambach (M1078, Himedia®) e Ágar Hoektoen (M407, Himedia®) para a realização da etapa de plaqueamento seletivo, que é baseada na observação das características das colônias crescidas nos meios. As placas foram incubadas, em posição invertida, a 35-37°C por 24 horas.

O Ágar Rambach é um meio de cultura de diagnóstico diferencial para identificar *Salmonella* não-tifi. Os substratos nutritivos nesse meio permitem que as Enterobactérias se multipliquem facilmente. O desoxicolato de sódio inibe os microrganismos acompanhantes Gram-positivos. Esse meio permite que espécies de *Salmonella* sejam claramente diferenciadas de outras bactérias, devido à adição de propilenoglicol ao meio de cultura. A *Salmonella* spp. forma ácido à partir do propilenoglicol, com isso, em combinação com um indicador de pH, as colônias apresentam uma cor vermelha característica. Com o objetivo de diferenciar Coliformes de *Salmonella* spp. o meio contém um cromógeno indicando a presença de β -galactosidase, que é uma característica dos Coliformes. As colônias de

coliformes se apresentam com coloração verde azulada ou azul-arroxeadada. Outras Enterobactérias e bactérias Gram-negativas apresentam colônias de coloração amarelo-incolor (MERCK, 2005).

O Ágar Hoektoen é um ágar seletivo que tem a finalidade de detectar e isolar bactérias patogênicas intestinais, incluindo *Salmonella* spp. e *Shigella* spp. Neste meio as colônias lactose-positivas apresentam uma cor muito diferente das colônias lactose-negativas devido à presença de dois indicadores, azul de bromotimol e fucsina ácida. Essa diferença de cor também é observada para colônias, que somente conseguem fermentar lentamente a lactose, devido à presença da sucrose e salicina. Esses compostos reativos podem ser fermentados mais facilmente, então, resultados falso-positivos são evitados. A combinação de tiosulfato, como um composto reativo, com sal de ferro como indicador faz com que colônias H₂S-positivas se apresentem com coloração preta. A mistura de sais biliares inibe o crescimento da maioria dos microrganismos acompanhantes. As colônias de *Salmonella* spp. se apresentam com coloração azul-esverdeada, com ou sem centro preto (ibid).

Após a incubação, foi realizada a leitura das placas e foram consideradas como suspeitas de *Salmonella* spp. as placas de Ágar Rambach que apresentaram colônias vermelhas e de Ágar Hoektoen que apresentaram colônias azul-esverdeadas com ou sem centro preto (Fig. 19 e 20).

Foi selecionada uma colônia suspeita de *Salmonella* spp. de cada placa, e repicada com alça de platina para um tubo contendo Ágar “Triple Sugar Iron” (TSI) (M021, Himedia®), inclinado, através de picada profunda, estriando na superfície. Em seguida, foi incubado a 35-37°C por 24h.

O Ágar TSI contém glicose (1g/L), lactose (10g/l) e sacarose (10g/L) e como a glicose é um monossacarídeo e está em baixa concentração, é rapidamente fermentada anaerobicamente, formando ácido no fundo do tubo, o que torna o meio amarelo, pela viragem do indicador vermelho de fenol. A maior parte das bactérias do gênero *Salmonella* não fermenta lactose e sacarose, não provocando alterações no meio. Como a glicose é rapidamente esgotada, a bactéria passa a degradar aerobicamente o substrato protéico do meio, produzindo amônia (NH₃), alcalinizando o meio e modificando a coloração do bisel para vermelho, devido ao indicador vermelho de fenol. Pode ocorrer uma coloração preta pela redução do tiosulfato de

sódio do meio, formando gás sulfídrico na fase intermediária do tubo (MERCK, 2005).

Após a incubação foi realizada a leitura e foram considerados positivos para *Salmonella* spp. os tubos que apresentaram-se ácidos na base (coloração amarelada), com ou sem produção de gás sulfídrico na fase intermediária (com ou sem coloração preta) e alcalinos no bisel (coloração avermelhada).

Os tubos com as subamostras selecionadas foram acrescidos de 500 µL de solução fisiológica, agitados em agitador de tubos por 30 segundos para fazer uma suspensão e foram submetidas à reação sorológica frente ao anti-soro polivalente "O". Foi colocada em uma placa de vidro dividida em quadrados uma gota da subamostra com auxílio de pipeta automática e uma gota do soro anti-*Salmonella* polivalente "O", diretamente do frasco. O teste para verificação da negatividade foi igualmente realizado. Com movimentos circulares, foi realizada a leitura com iluminação sobre fundo escuro em 1 a 2 minutos. A subamostra foi considerada positiva em caso de presença de aglutinação e negativa em caso de ausência de aglutinação.

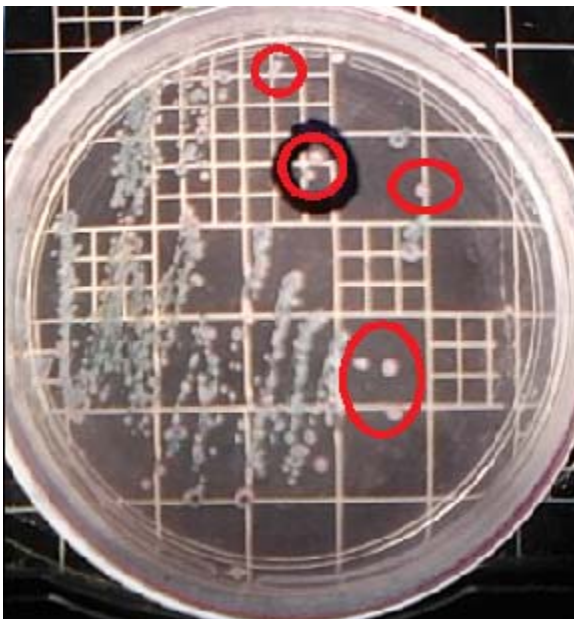


Fig. 19 Crescimento bacteriano em meio Rambach, colônias vermelhas



Fig. 20 Crescimento bacteriano em meio Hoektoen, colônia azul esverdeada

5.2.3 Análises físico-químicas

As análises físico-químicas de teor de proteínas, pH e TBARS foram realizadas no Laboratório de Controle Físico-Químico do Departamento de Tecnologia dos Alimentos da Faculdade de Veterinária da UFF. As análises de teor de umidade e lipídeos foram realizadas, em parte no laboratório supracitado e em parte no Laboratório de Controle de Qualidade da Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro (PESAGRO-RIO). Foram analisados os teores de umidade, proteína, lipídeos e pH, conforme a metodologia descrita na Instrução Normativa nº. 20, de 21 de julho de 1999, do MAPA (BRASIL, 1999) e os teores de TBARS foram verificados conforme descrito por Tarladgis et al. (1960).

5.2.3.1 Preparo das subamostras

Para o preparo das subamostras, as amostras foram homogeneizadas em grau, com o auxílio de um pistilo. Em ato contínuo foram pesadas conforme as análises a serem realizadas.

5.2.3.2 Teor de Umidade

Para a realização da respectiva análise, foi utilizada a metodologia descrita na Instrução Normativa nº 20, de 21 de julho de 1999, do MAPA (BRASIL, 1999). Esta se fundamenta na perda de água e substâncias voláteis a uma temperatura determinada.

As cápsulas foram identificadas e colocadas em estufa (400/5ND, Nova Ética®) a 105°C durante 1 hora. Esfriaram em dessecador durante 30 minutos e foram pesadas em balança analítica (Mark 210A, Bel engenering®). As amostras foram pesadas, aproximadamente 5 g, nas cápsulas e levadas à estufa a 105°C por um período inicial de três horas. Após esse tempo, foram retiradas da estufa, esfriadas no dessecador durante 30 minutos e pesadas. Foram levadas novamente à estufa a 105°C por uma hora, sendo, em seguida, esfriadas no dessecador por 30 minutos e pesadas. Esse processo foi repetido até que as amostras atingiram peso constante.

Após isso, o teor de umidade de cada amostra foi calculado de acordo com a fórmula:

$$\% \text{ umidade} = \frac{100 \times p}{p'}$$

Onde:

p = perda de massa em gramas;

p' = massa da amostra em gramas.

5.2.3.3 Teor de Proteína

Para a realização da respectiva análise, foi utilizada a metodologia descrita na Instrução Normativa nº 20, de 21 de julho de 1999, do MAPA (BRASIL, 1999). Esta se fundamenta em determinar o nitrogênio protéico e o nitrogênio não protéico, com exceção do nitrato e nitrito, sendo denominada proteína bruta.

* Digestão ou mineralização:

Foram pesados cerca de 0,25 g de cada amostra sobre papel próprio e transferidos para tubo de Kjeldahl. Em seguida, foram adicionados 2 g de mistura catalítica e 8 ml de ácido sulfúrico concentrado em cada tubo. Os tubos foram levados ao digestor (Kjeldatherm, Gerhardt®), para aquecimento, a princípio lentamente e depois fortemente até a observação de vapores brancos. Quando o líquido ficou límpido foi deixado por mais 30 minutos, após este tempo foi retirado do aquecimento e esfriado. A temperatura do digestor para a digestão das amostras foi a seguinte:

- 150°C = 1 hora
- 200°C = 30 minutos
- 300°C = 30 minutos
- 400°C = 1 hora e 30 minutos

O material digerido, no tubo, foi transferido, com auxílio de um funil, lentamente para um balão volumétrico de 50 mL, o tubo foi lavado com água destilada pelas bordas e homogeneizado, sendo transferido seu conteúdo para o balão, esta operação foi repetida por mais duas vezes, transferindo os respectivos conteúdos para o balão volumétrico. A complementação do nível do balão volumétrico foi realizada com água destilada. Em ato contínuo o balão foi devidamente vedado, homogeneizado manualmente, e levado à geladeira.

* Destilação:

Foi realizada no destilador micro Kjeldahl (Microkjeldahl, Labconco®).

Um béquer contendo 20 mL de ácido bórico 4% e 8 gotas de indicador de Tashiro (Vetec®) foi colocado abaixo do condensador encostando a ponta do condensador no líquido do béquer para que não houvesse nenhuma perda de nitrogênio.

Com a ebulição da água da caldeira, uma alíquota de 10 mL do digerido do balão volumétrico foi colocada, com o auxílio de uma pipeta, no receptor do destilador. O registro abaixo do receptor foi aberto para que a alíquota fosse armazenada no receptor, dentro da caldeira. Em ato contínuo, o receptor foi rinsado com um pouco de água destilada, procedendo a seguir o fechamento do registro. Complementando a metodologia empregada, foi adicionada uma alíquota de 7 mL de NaOH 40% no receptor, sendo realizada a seguir a abertura do registro, deixando apenas um pouco do líquido para utilizá-lo como vedante.

Após a obtenção de 80 mL de volume de destilado no béquer, esse foi levado para titulação.

* Titulação:

O destilado foi titulado com solução de ácido clorídrico 0,1N. A solução que inicialmente era esverdeada tornou-se azulada quando toda amônia foi neutralizada pela solução de ácido clorídrico.

O teor de umidade de cada amostra foi calculado de acordo com a fórmula:

$$PB\% = \frac{\text{Vol} \times \text{fc} \times 14 \times 0,1 \times 50 \times 6,25 \times 100}{\text{Peso amostra (mg)} \times \text{alíquota da amostra}}$$

Vol: Volume de HCl gasto na titulação

Fc: Fator de correção do HCl

14: Peso molecular do nitrogênio

0,1: Normalidade do HCl

50: Volume do balão usado

6,25: Fator de PTN da carne.

5.2.3.4 Teor de Lipídeos

Para a realização da respectiva análise, foi utilizada a metodologia descrita na Instrução Normativa nº 20, de 21 de julho de 1999, do MAPA (BRASIL, 1999). Esta se fundamenta na solubilidade dos lipídios em solventes apropriados (éter de petróleo ou n-hexano ou éter etílico anidro). Os lipídios extraídos são posteriormente determinados por gravimetria.

A amostra utilizada foi proveniente da determinação da umidade. O reboiler do Soxhlet foi identificado, e posteriormente aquecido por 1 hora em estufa (400/5ND, Nova Ética®) a 105 °C, esfriado em dessecador por 15 minutos e pesado. A substância seca e fragmentada, que estava na cápsula, foi transferida para um cartucho de extração com auxílio de uma pinça com uma porção de algodão desengordurado. A amostra no cartucho foi coberta com o algodão. O cartucho foi colocado no extrator de Soxhlet (Determinador de gordura TE-044, Tecnal®) e extraído com solvente, éter de petróleo, por um período de 6 horas. O solvente foi evaporado em banho-maria (316/4D, Nova Ética®) a 60 °C e o balão com resíduo foi colocado em estufa a 105 °C por 1 hora, esfriado em dessecador por 15 minutos e pesado. As operações foram repetidas até a obtenção de peso constante.

Para a determinação do teor de lipídeos foi utilizada a seguinte fórmula:

$$\% \text{ lipídios} = \frac{100 \times p}{p'}$$

Onde:

p = massa de lipídios extraídos em gramas;

p' = massa da amostra em gramas.

5.2.3.5 Teor de Cinzas

Para a realização da respectiva análise, foi utilizada a metodologia descrita na Instrução Normativa nº 20, de 21 de julho de 1999, do MAPA (BRASIL, 1999). Esta se fundamenta na eliminação da matéria orgânica e inorgânica volátil à temperatura de 550 °C. O produto obtido é denominado de resíduo mineral fixo.

A cápsula de porcelana foi identificada, aquecida em forno mufla (Fornitec®) a 550 °C durante 30 minutos, esfriada em dessecador por 30 minutos e teve seu peso

anotado. Foram pesados, em balança analítica (AE200, Mettler®), cerca de 2 g de amostra na cápsula. O conjunto foi levado ao bico de Bunsen até a carbonização completa e, posteriormente, ao forno mufla a 550°C, até a obtenção de cinzas claras. O conjunto foi esfriado em dessecador por 30 minutos e pesado.

O teor de cinzas de cada amostra foi calculado de acordo com a fórmula:

$$\% \text{ resíduo mineral fixo} = \frac{100 \times p}{p'}$$

Onde:

p = massa das cinzas obtidas em gramas;

p' = massa da amostra em gramas;

5.2.3.6 Potencial hidrogeniônico (pH)

Para a realização da respectiva análise, foi utilizada a metodologia descrita na Instrução Normativa nº 20, de 21 de julho de 1999, do MAPA (BRASIL, 1999). Esta se fundamenta na medida da concentração de íons hidrogênio na amostra.

O medidor de pH (DM-2P, Digimed®) foi ajustado com as soluções tampões pH 4 e 7. E o pH da amostra de 10 g diluída em 5 mL de água destilada foi medido.

5.2.3.7 Teor de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)

Para a realização da respectiva análise, foi utilizada a metodologia descrita por Tarladgis et al. (1960). Esta se fundamenta na formação de um composto de coloração vermelha resultante da condensação de 2 moles de ácido 2-tiobarbitúrico com 1 mol de aldeído malônico ou de seus tautômeros originados na oxidação dos lipídeos.

Foram pesados 5 g da amostra em papel alumínio e colocados em béquer pequeno, ao que foram acrescentados 12,5 mL de água destilada. A mistura foi homogeneizada e, em seguida, transferida para um tubo de destilação do tipo Kjeldahl. Foram colocados 11,8 mL de água destilada no béquer, para retirada do resíduo, e transferidos para o tubo. Foram adicionados à mistura 0,630 mL de ácido clorídrico (HCl) quatro normal (4 N) para corrigir o pH para 1,5. Em seguida, o tubo foi conectado ao aparelho (Destilador Kjeldahl, Quimis®) e foi dado início a destilação. Foram recolhidos 20 mL do destilado. Posteriormente foram retirados 5 mL do destilado e colocados em tubo de ensaio com tampa de baquelite e

adicionados 5 mL da solução de TBA. O tubo foi fechado e os conteúdos misturados. Foi feito um branco. Os tubos foram imersos em banho de água fervente por 35 minutos. Retirados e esfriados em água corrente por 10 minutos. A leitura da absorbância da amostra foi realizada em espectrofotômetro a 538 nanômetros (nm) previamente calibrado com o branco. Para encontrar o n° de TBA, o valor encontrado na leitura da absorbância foi multiplicado por 7,8 que é o valor determinado no experimento de Tarladgis et al. (1960), convertendo o resultado para mg de malonaldeído por 1000 g do produto analisado.

O branco foi preparado utilizando-se todos os reagentes menos a amostra, 5 mL de água destilada + 5 mL de TBA aquecidos em banho-maria e esfriados juntamente com as amostras

5.2.4 Análise sensorial

As análises sensoriais foram realizadas no Laboratório de Análises Sensoriais do Departamento de Tecnologia dos Alimentos da Faculdade de Veterinária da UFF. Foram realizados testes de aceitação em escala hedônica estruturada com nove pontos entre gostei muitíssimo e desgostei muitíssimo para aceitação global, textura (maciez e suculência) e aparência das linguiças cozidas.

As amostras foram analisadas por uma equipe de 22 provadores não treinados, escolhidos em função de gostarem e serem consumidores de linguiça, compostos por alunos de graduação e pós-graduação, docentes e funcionários da Faculdade de Veterinária da UFF. Cada julgador recebeu aproximadamente 20 g de cada amostra, em pratos plásticos, codificados com números de três dígitos, em ordem aleatória, acompanhados de um copo de água e biscoito tipo água e sal para ser utilizado pelo provador entre as amostras, para limpeza das papilas gustativas.

As linguiças foram previamente fritas em óleo de soja, durante aproximadamente 15 minutos, e servidas a temperatura ambiente.

Foi utilizada a seguinte ficha de avaliação (Quadro 4):

Nome:		Data:		Sexo:		Idade:	
CÓDIGO DA AMOSTRA:							
Avalie a amostra codificada e use a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou.							
APARÊNCIA PRODUTO COZIDO							
9 - gostei extremamente							
8 - gostei muito							
7- gostei moderadamente							
6 - gostei ligeiramente							
5 - nem gostei/nem desgostei							
4 - desgostei ligeiramente							
3 - desgostei moderadamente							
2 - desgostei muito							
1 - desgostei extremamente							
TEXTURA (MACIEZ +SUCULÊNCIA)				ACEITAÇÃO GLOBAL			
9 - gostei extremamente				9 - gostei extremamente			
8 - gostei muito				8 - gostei muito			
7 - gostei moderadamente				7- gostei moderadamente			
6 - gostei ligeiramente				6 - gostei ligeiramente			
5 - nem gostei/nem desgostei				5 - nem gostei/nem desgostei			
4 - desgostei ligeiramente				4 - desgostei ligeiramente			
3 - desgostei moderadamente				3 - desgostei moderadamente			
2 - desgostei muito				2 - desgostei muito			
1 - desgostei extremamente				1 - desgostei extremamente			
Comentários:							

Quadro 4 Ficha de avaliação para o teste de aceitação da análise sensorial

5.2.5 Análise instrumental de cor

Para sua realização as amostras de linguiça foram fatiadas e homogeneizadas em placas de Petri e os valores de luminosidade (L^*), vermelho (a^* , \pm vermelho-verde) e amarelo (b^* , \pm amarelo-azul) foram determinados com a utilização de colorímetro Minolta modelo CR 200b. A calibração foi feita antes de cada teste (MOTZER et al., 1998).

5.2.6 Avaliação estatística

Para avaliação estatística, foi realizado o Delineamento Inteiramente Casualizado, utilizando-se 120 amostras no total, cinco amostras por tratamento, por dia de análise. As amostras foram analisadas nos dias 1, 4, 8, 12, 16 e 20.

A pesquisa de *Salmonella* spp. foi avaliada em todos os dias de análises, e analisada por análise de frequência.

As demais variáveis também foram avaliadas em todos os dias de análises, com exceção da análise sensorial, que só foi realizada enquanto as amostras se apresentaram inócuas, conforme padrões bacteriológicos.

Para análise dessas variáveis em primeiro momento foi realizada a análise descritiva para determinação da média, desvio-padrão, valores mínimos e máximos.

Para indicar diferença significativa ($P < 0,05$) entre tratamentos, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis. Quando este indicou diferença entre os tratamentos, foi realizado o teste de Mann-Whitney, o qual revelou entre quais tratamentos houve diferença e se esta foi significativa.

Para indicar diferença significativa ($P < 0,05$) entre dias de um mesmo tratamento, foi utilizado o teste de Friedman. No caso desse teste indicar diferença foi utilizado o teste de Wilcoxon com o objetivo de indicar entre quais dias houve diferença e se esta foi significativa.

Para realização das análises estatísticas foi utilizado o programa de computador SPSS, versão 14, para Windows.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados observados com a realização deste trabalho, bem como, a discussão decorrente destes encontram-se configurados nos itens a seguir:

6.1 ANÁLISES BACTERIOLÓGICAS

6.1.1 Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e de bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas

Em relação à contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas nas linguiças elaboradas com carne de avestruz, foram obtidos valores (Tabela 1):

Tabela 1: Resultados referentes ao crescimento de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas nas linguiças elaboradas com carne de avestruz, nos diferentes tratamentos e dias de análise, valor em \log_{10} UFC/g.

		Dia 1	Dia 4	Dia 8	Dia 12	Dia 16	Dia 20
A	Média	6,71	8,31	8,85	8,96 ^a	9,01	9,09
	Desvio padrão	0,51	1,01	0,96	0,32	0,19	0,36
	Mínimo	6,18	7,38	8,08	8,66	8,69	8,65
	Máximo	7,51	10,04	10,28	9,45	9,20	9,66
A'	Média	7,02	7,81	7,83	8,81 ^{ab}	8,37	8,72
	Desvio padrão	0,12	0,3	0,18	0,27	0,12	0,2
	Mínimo	6,92	7,54	7,70	8,54	8,26	8,53
	Máximo	7,23	8,18	8,11	9,23	8,57	9,04
B	Média	7,31	7,71	7,89	8,68 ^b	8,56	9
	Desvio padrão	0,09	0,19	0,14	0,3	0,2	0,24
	Mínimo	7,23	7,52	7,70	8,40	8,20	8,76
	Máximo	7,43	8,00	8,04	9,04	8,70	9,36
C	Média	7,14	7,68	8,17	8,71 ^{ab}	8,72	8,7
	Desvio padrão	0,17	0,32	1,16	0,39	0,26	0,19
	Mínimo	6,95	7,15	7,46	8,04	8,43	8,54
	Máximo	7,40	7,92	10,23	9,00	9,08	9,00

Valores na mesma coluna com diferentes letras são diferentes estatisticamente ($P < 0,05$).

A – 100% carne de avestruz, ar; A' – 100% carne de avestruz, vácuo; B – 75% carne de avestruz, 25% suína, vácuo; C – 50% carne de avestruz, 25% suína e 25% frango, vácuo.

A alta contagem inicial de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas encontradas no presente trabalho está em conformidade com os dados encontrados por Alonso-Calleja et al. (2004) em carne de avestruz embalada em vácuo comercializada na Espanha sob temperatura de refrigeração, durante o prazo comercial e Mastromatteo et al. (2009) em hambúrgueres de carne de aves (avestruz, peru e frango). Alonso-Calleja et al. (2004), afirmaram que a alta contagem inicial de bactérias pode ter ocorrido devido ao abuso de temperatura durante o processamento, estocagem, transporte, distribuição e/ou venda da matéria-prima, considerando ainda que, o processo de corte da carne resulta em aumento da superfície da carne, favorecendo o crescimento microbiano. Segundo Seydim et al. (2006), a contagem de 6 a 8 \log_{10} UFC/g já é associada a deterioração da carne caracterizada por odor desagradável e possível desenvolvimento de limo, esse valor foi encontrado no primeiro dia de estocagem de todos os tratamentos de linguiças elaboradas no presente estudo. No entanto Capita et al. (2006), em carnes de avestruz embaladas em vácuo e ar, estocadas a temperatura de 4 ou 10°C, Fernández-López et al. (2006), em hambúrgueres elaborados com carne de avestruz, Fernández-López et al. (2008), em bifes de carne de avestruz, Gill (2007), em carcaças de avestruz, Otremba, Dikeman e Boyle (1999), em carne de avestruz inteira e moída, embalada a vácuo, previamente congelada a - 40°C e conservada a 0°C e Seydim et al. (2006) em carne de avestruz inteira e moída obtiveram valores menores.

Não houve diferença estatística entre os tratamentos, sendo os resultados semelhantes aos encontrados por Fernández-López et al. (2006), entre fórmulas de hambúrgueres elaborados com carne de avestruz e Seydim et al. (2006) entre atmosferas de embalagem de carne inteira e moída de avestruz. No entanto Capita et al. (2006) observaram diferença, com o crescimento bacteriano sendo maior na carne embalada em ar que na embalada a vácuo. Os autores afirmaram que temperatura e atmosfera de embalagem foram fatores críticos na maioria dos grupos microbianos. Resultados semelhantes encontraram Fernández-López et al. (2008), em bifes de carne de avestruz, embalados em ar e a vácuo, ressaltando que o vácuo reduz o número de bactérias aeróbicas durante a estocagem da carne devido à redução da disponibilidade de oxigênio, fato não observado no presente trabalho, provavelmente devido à alta contagem no dia um.

Não houve diferença significativa entre os dias de análise, somente uma tendência de elevação até o décimo segundo dia de estocagem. A ausência de diferença significativa entre os dias das análises corroboram os valores encontrados por Mastromatteo et al. (2009) ao declararem que nas condições observadas, altas contagens iniciais, provavelmente não foi observado o desenvolvimento microbiano durante a fase lag e somente as fases exponencial e estacionária foram observadas. Contudo, Capita et al. (2006), Fernández-López et al. (2008), Mastromatteo et al. (2009) e Otremba, Dikeman e Boyle (1999) observaram elevação na contagem durante a estocagem.

Em relação à contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas nas linguças elaboradas com carne de avestruz, foram obtidos valores (Tabela 2):

Tabela 2: Resultados referentes à contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas nas linguças elaboradas com carne de avestruz, nos diferentes tratamentos e dias de análise, valor em \log_{10} UFC/g.

		Dia 1	Dia 4	Dia 8	Dia 12	Dia 16	Dia 20
A	Média	6,42 ^a	7,73	9 ^a	9,52	9,11 ^a	9,16
	Desvio padrão	0,11	0,4	0,36	0,42	0,15	0,24
	Mínimo	6,23	7,34	8,40	9,08	8,93	8,89
	Máximo	6,49	8,26	9,30	9,98	9,26	9,48
A'	Média	6,15 ^a	7,4	8,82 ^a	9,44	8,76 ^b	8,97
	Desvio padrão	0,33	0,42	0,47	0,44	0,12	0,13
	Mínimo	5,77	6,70	8,15	8,86	8,61	8,76
	Máximo	6,49	7,72	9,38	9,94	8,92	9,08
B	Média	6,76 ^b	7,2	8,68 ^a	8,91	8,96 ^{ab}	9,09
	Desvio padrão	0,11	0,35	0,59	0,81	0,13	0,18
	Mínimo	6,61	6,85	8,08	8,00	8,79	8,80
	Máximo	6,90	7,76	9,46	10,08	9,15	9,28
C	Média	6,98 ^b	7	7,1 ^b	8,89	8,86 ^{ab}	9
	Desvio padrão	0,28	0,46	0,14	0,53	0,26	0,2
	Mínimo	6,51	6,30	6,95	8,38	8,58	8,79
	Máximo	7,20	7,52	7,26	9,66	9,20	9,26

Valores na mesma coluna com diferentes letras são diferentes estatisticamente ($P < 0,05$).

A – 100% carne de avestruz, ar; A' – 100% carne de avestruz, vácuo; B – 75% carne de avestruz, 25% suína, vácuo; C – 50% carne de avestruz, 25% suína e 25% frango, vácuo.

A alta contagem inicial de bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas observados no presente trabalho, corroboram os pontuados pelos autores Alonso-Calleja et al. (2004), ao afirmarem que a alta contagem inicial de bactérias estava relacionada ao abuso de temperatura durante o processamento, estocagem, transporte, distribuição e/ou venda da matéria-prima, considerando ainda que, o processo de corte da carne resulta em aumento da superfície da carne, favorecendo o crescimento microbiano. Os pesquisadores observaram $6,62 \log_{10} \text{UFC/g}$ em carne de avestruz embalada em vácuo vendida na Espanha sob temperatura de refrigeração, durante a validade comercial. Entretanto, Capita et al. (2006), Fernández-López et al. (2006), Fernández-López et al. (2008) e Otremba, Dikeman e Boyle (1999) encontraram valores menores e Mastromatteo et al. (2009) valores maiores que o encontrado na presente pesquisa.

No presente estudo, no primeiro dia a contagem das linguiças puras (tratamentos A e A') foram menores que as das linguiças mistas (tratamentos B e C), diferença esta que não existiu no dia 4. Contudo, Fernández-López et al. (2006) não encontraram diferença significativa entre as formulações e Capita et al. (2006), Fernández-López et al. (2008) e Mastromatteo et al. (2009) observaram crescimento bacteriano maior em embalagem em ar, quando comparada ao vácuo.

Não houve diferença significativa entre os dias das análises, somente uma tendência de alta até o décimo segundo dia de estocagem. Entretanto, Capita et al. (2006), Fernández-López et al. (2006), Fernández-López et al. (2008), Mastromatteo et al. (2009) e Otremba, Dikeman e Boyle (1999) observaram elevação na contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas durante a estocagem.

6.1.2 Contagem de *Clostridium* sulfito redutor a 46°C

Em relação à contagem de *Clostridium* sulfito redutor a 46°C nas linguiças elaboradas com carne de avestruz, foram obtidos valores (Tabela 3):

Tabela 3: Resultados referentes à contagem de *Clostridium* sulfito redutor a 46°C nas linguiças elaboradas com carne de avestruz, nos diferentes tratamentos e dias de análise, valor em \log_{10} UFC/g.

		Dia 1	Dia 4	Dia 8	Dia 12	Dia 16	Dia 20
A	Média	0	0	0	0	0	0
	Desvio padrão	0	0	0	0	0	0
	Mínimo	0	0	0	0	0	0
	Máximo	0	0	0	0	0	0
A'	Média	0	0	0	0	0	0,4
	Desvio padrão	0	0	0	0	0	0,89
	Mínimo	0	0	0	0	0	0
	Máximo	0	0	0	0	0	2
B	Média	0	0	0	0	0,8	0,4
	Desvio padrão	0	0	0	0	1,1	0,89
	Mínimo	0	0	0	0	0	0
	Máximo	0	0	0	0	2	2
C	Média	0	0	0	0	0,4	0,46
	Desvio padrão	0	0	0	0	0,89	1,03
	Mínimo	0	0	0	0	0	0
	Máximo	0	0	0	0	2	2,3

Valores na mesma coluna com diferentes letras são diferentes estatisticamente ($P < 0,05$).

A – 100% carne de avestruz, ar; A' – 100% carne de avestruz, vácuo; B – 75% carne de avestruz, 25% suína, vácuo; C – 50% carne de avestruz, 25% suína e 25% frango, vácuo.

O crescimento de *Clostridium* sulfito redutor a 46°C só ocorreu a partir do dia 16, nos tratamentos B e C e a partir do dia 20 nos tratamento A'. Os valores para todos os tratamentos durante o período de estocagem, se mantiveram dentro do padrão estabelecido pela legislação (BRASIL, 2001) no qual consta a tolerância de 3×10^3 UFC/g, ou $3,48 \log_{10}$ UFC/g. Não houve diferença significativa entre os tratamentos e dias das análises, talvez em função do alto desvio-padrão nos dias em que houve crescimento de *Clostridium* sulfito redutor a 46°C.

Esses resultados possivelmente se devem ao fato de o nitrito utilizado na elaboração de linguiças inibir o crescimento de *Clostridium* spp. Soma-se a isso o fato de o *Clostridium botulinum* não conseguir crescer e produzir toxina quando em competição com um grande número de microrganismos. Vale ressaltar que na embalagem em ar não houve crescimento de *Clostridium* sulfito redutor a 46°C, que são microrganismos anaeróbicos, aspecto relatado por Jay (2000).

6.1.3 Contagem de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva

Em relação à contagem de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva nas linguiças elaboradas com carne de avestruz, foram obtidos valores (Tabela 4):

Tabela 4: Resultados referentes ao crescimento de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva nas linguiças elaboradas com carne de avestruz, nos diferentes tratamentos e dias de análise, valor em \log_{10} UFC/g.

		Dia 1	Dia 4	Dia 8	Dia 12	Dia 16	Dia 20
A	Média	0,5	4,3 ^a	2,49	3,1	2,39	1,87
	Desvio padrão	1,12	0,97	2,27	1,76	1,46	2,59
	Mínimo	0	3,49	0	0	0	0
	Máximo	2,52	5,72	4,28	4,28	3,8	5,18
A'	Média	0,86	2 ^{ab}	2,54	3,42	1,94	1,77
	Desvio padrão	1,18	1,84	1,45	0,23	1,15	1,63
	Mínimo	0	0	0	3,18	0	0
	Máximo	2,3	3,72	3,6	3,71	2,86	3,23
B	Média	1,88	3,51 ^{ab}	3,43	0,7	1,18	2,77
	Desvio padrão	1,85	0,23	0,4	1,56	1,61	1,61
	Mínimo	0	3,30	3,00	0	0	0
	Máximo	3,76	3,85	3,86	3,48	3	4,11
C	Média	3,04	3,1 ^b	2,13	1,28	0,52	3,3
	Desvio padrão	1,71	0,63	1,96	1,75	1,16	0,14
	Mínimo	0	2,00	0	0	0	3,18
	Máximo	4,04	3,57	3,9	3,23	2,6	3,52

Valores na mesma coluna com diferentes letras são diferentes estatisticamente ($P < 0,05$).

A – 100% carne de avestruz, ar; A' – 100% carne de avestruz, vácuo; B – 75% carne de avestruz, 25% suína, vácuo; C – 50% carne de avestruz, 25% suína e 25% frango, vácuo.

Observando-se os resultados, pode-se afirmar que quanto à contagem de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva só houve diferença estatística entre os tratamentos no quarto dia de análise, quando o tratamento C foi menor que o tratamento A e os tratamentos A' e B não diferiram de ambos. Nesse dia a média da contagem do tratamento A foi superior à tolerância estabelecida pela legislação (BRASIL, 2001), 5×10^3 UFC/g, ou $3,7 \log_{10}$ UFC/g, tornando esse produto inviável para o consumo. Nos demais tratamentos este limite não foi atingido durante o período de estocagem, para estes foi estipulado que quando as contagens começaram a cair significaria a fase de declínio do seu crescimento, considerando-se que nesse momento terminou a validade comercial. Fato que ocorreu no dia 8 para os tratamentos B e C e dia 16 para o tratamento A'. Não houve diferença estatística entre os dias de análise.

Os resultados encontrados no presente estudo não possuem similaridade com os observados por Alonso-Calleja et al. (2004), que não encontraram *Staphylococcus aureus* em carne de avestruz embalada em vácuo comercializada na Espanha sob temperatura de refrigeração, durante o prazo comercial. Mastromatteo et al. (2009), observaram contagens de *Staphylococcus* spp. de $7,05 \log_{10}$ UFC/g no dia 0 em todas as atmosferas de embalagem de hambúrguer elaborado com carnes de aves. As contagens foram decrescendo durante o tempo de estocagem. Valores altos, entretanto não podem ser comparados com os do presente trabalho por terem sido obtidos da contagem em Ágar Baird Parker, sem as posteriores provas da catalase e coagulase e microscopia, então, são resultados gerais, maiores, provavelmente, que os obtidos para *Staphylococcus* spp. coagulase positiva.

De acordo com Valero et al. (2009), o *Staphylococcus aureus* é reconhecido como um indicador de deficiente higiene do alimento e do processamento, então, para a sua presença nas amostras é provável que tenha ocorrido falhas de higiene e/ou temperatura de estocagem das matérias-primas.

6.1.4 Enumeração de coliformes termotolerantes (*E. coli*)

Em relação à enumeração de coliformes termotolerantes nas linguças elaboradas com carne de avestruz, foram obtidos valores (Tabela 5):

Tabela 5: Resultados referentes ao crescimento de coliformes termotolerantes nas linguças elaboradas com carne de avestruz, nos diferentes tratamentos e dias de análise, valor em \log_{10} UFC/g.

		Dia 1	Dia 4	Dia 8	Dia 12	Dia 16	Dia 20
A	Média	1,48 ^a	1,49	1,49	1,49	1,49	1,48
	Desvio padrão	0	0,03	0,04	0,04	0,04	0
	Mínimo	1,48	1,48	1,48	1,48	1,48	1,48
	Máximo	1,48	1,56	1,56	1,56	1,56	1,48
A'	Média	1,48 ^a	1,51	1,57	1,48	1,75	1,49
	Desvio padrão	0	0,43	0,17	0	0,4	0,04
	Mínimo	1,48	1,48	1,48	1,48	1,48	1,48
	Máximo	1,48	1,58	1,87	1,48	2,36	1,56
B	Média	1,54 ^{ab}	1,61	1,57	1,48	1,48	1,52
	Desvio padrão	0,04	0,2	0,22	0	0	0,04
	Mínimo	1,48	1,48	1,48	1,48	1,48	1,48
	Máximo	1,56	1,96	1,96	1,48	1,48	1,56
C	Média	1,96 ^b	1,61	1,49	1,73	1,61	1,49
	Desvio padrão	0,4	0,2	0,04	0,39	0,2	0,04
	Mínimo	1,56	1,48	1,48	1,48	1,48	1,48
	Máximo	2,36	1,96	1,56	2,36	1,96	1,56

Valores na mesma coluna com diferentes letras são diferentes estatisticamente ($P < 0,05$).

A – 100% carne de avestruz, ar; A' – 100% carne de avestruz, vácuo; B – 75% carne de avestruz, 25% suína, vácuo; C – 50% carne de avestruz, 25% suína e 25% frango, vácuo.

Os valores da enumeração de coliformes termotolerantes somente diferiram estatisticamente no primeiro dia. Neste, os valores do tratamento C foram maiores que os dos tratamentos A e A' e os valores de B não diferiram dos demais. Durante o período de estocagem os valores se mantiveram dentro dos padrões de tolerância estabelecidos pela legislação (BRASIL, 2001), 5×10^3 UFC/g, ou $3,7 \log_{10}$ UFC/g. Deste modo, foi considerado que a fase de declínio indicou o final da validade comercial dos tratamentos. Dia 20 para o tratamento A, 12 para o tratamento A', e oito para os tratamentos B e C. Não houve diferença estatística entre os dias de análise.

Os resultados de enumeração de coliformes termotolerantes (*E. coli*) observados neste trabalho estão em conformidade com os achados de Gill (2007), ao afirmar que as médias de *E. coli* encontradas em carcaças de avestruz abatidas em dois matadouros foram de aproximadamente 0 e 2 log₁₀ UFC/g.

6.1.4 Isolamento e identificação de *Salmonella* spp.

Em relação ao isolamento e identificação de *Salmonella* spp. em 25 g de amostra nas linguiças elaboradas com carne de avestruz, foram obtidos valores (Tabela 6):

Tabela 6: Resultados referentes à presença ou ausência de *Salmonella* spp./25 g de amostra nas linguiças elaboradas com carne de avestruz, nos diferentes tratamentos e dias de análise

	Dia 1	Dia 4	Dia 8	Dia 12	Dia 16	Dia 20
A	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
A'	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
B	Presente 20%	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
C	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

A – 100% carne de avestruz, ar; A' – 100% carne de avestruz, vácuo; B – 75% carne de avestruz, 25% suína, vácuo; C – 50% carne de avestruz, 25% suína e 25% frango, vácuo.

Houve presença *Salmonella* spp. em 25 g de uma amostra do tratamento B, no primeiro dia, conseqüentemente, se apresentou fora dos padrões estabelecidos pela legislação (BRASIL, 2001), ausência em 25 g de amostra. Em todos os outros dias e tratamentos houve ausência da referida bactéria. Levando-se em consideração o total de 120 amostras no total do estudo, houve um percentual de 0,83% de presença de *Salmonella* spp.

A presença de *Salmonella* spp. pode ser devido à contaminação de parte da matéria-prima.

Levando-se em consideração que houve presença de *Salmonella* spp. em 25 g de uma amostra das 120 analisadas, os resultados do presente trabalho são superiores ao afirmado por Gill (2007). Segundo o referido autor, *Salmonella* spp. foi recuperada em mais de 20% das carcaças de avestruz em um matadouro e detectada com utilização de fragmento de DNA. Ainda reporta que em amostras de

mais de 100 carcaças de oito matadouros norte-americanos em somente uma havia *Salmonella* spp. presente.

6.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

6.2.1 Teor de Umidade

Em relação ao teor de umidade das formulações de linguiças elaboradas com carne de avestruz, foram obtidos percentuais (Tabela 7):

Tabela 7: Resultados referentes ao teor de umidade das formulações elaboradas, valor percentual

	A	B	C
Média	66,2	66,8	66,18
Desvio padrão	1,08	1,02	1,73
Mínimo	64,77	65,77	63,09
Máximo	67,32	68,16	67,06

A – 100% carne de avestruz; B – 75% carne de avestruz, 25% suína; C – 50% carne de avestruz, 25% suína e 25% frango.

As formulações de linguiça de avestruz não apresentaram diferença significativa, entre si, no teor de umidade. Resultados diversos dos observados por Cavalheiro et al. (2010), em embutidos curados fermentados elaborados com carne de avestruz e suína na proporção 50:50 e 75:25, Fernández-López et al. (2003), em mortadelas Bolonha a base de carne de avestruz e a base de carne bovina, Fernández-López et al. (2006), em hambúrgueres elaborados com 70% de carne de avestruz e 30% carne suína, e elaborados com 100% avestruz e 70% avestruz e 30% bovina e Hautrive et al. (2008), em hambúrgueres de avestruz, misto e bovino, que observaram diferença no teor de umidade nas diferentes formulações utilizadas.

Segundo Fernández-López et al. (2003), é bem conhecida a relação inversa entre teor de gordura e teor de umidade, concordando com os achados de Cavalheiro et al. (2010), Fernández-López et al. (2006) e Hautrive et al. (2008). Provavelmente não houve diferença significativa nas diferentes formulações, pois não houve diferença significativa no teor de lipídeos das formulações de linguiça elaboradas no presente trabalho.

Os resultados de teor de umidade observados no presente trabalho são semelhantes aos observados por Hoffman e Mellett (2003), em hambúrgueres elaborados com carne de avestruz e gordura suína, 66% a 68%, mas obteve valores menores que os hambúrgueres elaborados com carne de avestruz, em que foi utilizado substituto de gordura, entre 70,98% e 74%. Os hambúrgueres que apresentaram valores mais aproximados aos obtidos no presente trabalho foram os que apresentaram maior teor de gordura em sua composição. Para o mesmo produto, hambúrguer, Hautrive et al. (2008), obteve 76,26%, 75,17% e 74,40% em hambúrgueres de avestruz, misto e bovino, respectivamente, valores aproximados aos dos hambúrgueres em que foi utilizado substituto de gordura produzidos por Hoffman e Mellett (2003). A semelhança no teor de umidade desses hambúrgueres provavelmente se deve à sua semelhança no teor de lipídeos, sendo que os valores de teor de lipídeos observados por Hautrive et al. (2008) foram pouco menores gerando hambúrgueres com teor de umidade pouco maior. Resultados mais elevados que os obtidos no presente trabalho.

O teor de umidade observado nas linguiças frescas em suas diferentes formulações na presente pesquisa não foi semelhante aos observados por Cavalheiro et al. (2010), em embutidos curados fermentados elaborados com carne de avestruz e suína, Fernández-López et al. (2003), em mortadela Bolonha a base de carne de avestruz e carne bovina, Fernández-López et al (2006), em hambúrgueres elaborados com 100% avestruz, 70% de carne de avestruz e 30% carne suína e 70% avestruz e 30% bovina, Fisher, Hoffman e Mellett (2000), em carne de avestruz e presuntos e salsichas Viena elaboradas com carne de avestruz e Hautrive et al. (2008), em hambúrgueres de avestruz, misto e bovino.

Com relação ao limite máximo, 70% de umidade, estabelecido pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade da Linguiça (BRASIL, 2000), as formulações realizadas na presente pesquisa, se encontram dentro dos padrões.

6.2.2 Teor de Proteína

Em relação ao teor de proteína das formulações de linguiças elaboradas com carne de avestruz, foram obtidos percentuais (Tabela 8):

Tabela 8: Resultados referentes aos teores de proteína das formulações elaboradas, valor percentual

	A	B	C
Média	18,81	17,57	16,88
Desvio padrão	1,34	0,9	0,48
Mínimo	16,93	16,42	16,13
Máximo	20,73	18,82	17,46

A – 100% carne de avestruz; B – 75% carne de avestruz, 25% suína; C – 50% carne de avestruz, 25% suína e 25% frango.

As formulações elaboradas não apresentaram diferença significativa, entre si, quanto ao teor de proteína. Resultados diversos dos apresentados por Cavalheiro et al. (2010), entre duas formulações de embutidos curados fermentados elaborados com carne de avestruz e suína na proporção 50:50 e 75:25, Fernández-López et al. (2003), entre mortadela Bolonha a base de carne de avestruz e a base de carne bovina, Fernández-López et al. (2006), entre hambúrgueres, 100% avestruz; 70% avestruz e 30% bovina; e 70% avestruz e 30% carne suína, Hautrive et al. (2008), entre hambúrgueres de avestruz, misto e bovino e McKenna et al. (2003), entre presunto e salsicha polonesa elaborados com carne de avestruz e com carne suína. Dentre esses, Cavalheiro et al. (2010), Fernández-López et al. (2003) e Fernández-López et al. (2006) estão em acordo com McKenna et al. (2003), ao afirmarem que os produtos contendo carne de avestruz continham maiores teores de proteína. Resultado contrário ao observado por Hautrive et al. (2008). No presente trabalho houve a tendência de aumento da proteína acompanhando o aumento na proporção de carne de avestruz da formulação.

O resultado do teor de proteína das linguiças elaboradas no presente trabalho é semelhante ao observado por Fisher, Hoffman e Mellett (2000), em carne de avestruz e em presunto de avestruz.

As formulações de linguiças elaboradas no presente trabalho se encontraram dentro dos padrões estabelecidos pela legislação (BRASIL, 2000), mínimo de 12% de proteína.

6.2.3 Teor de Lipídeos

Em relação ao teor de lipídeos das formulações de linguiças elaboradas com carne de avestruz, foram obtidos percentuais (Tabela 9):

Tabela 9: Resultados referentes ao teor de lipídeos das formulações elaboradas, valor percentual

	A	B	C
Média	13,11	14,96	14,15
Desvio padrão	1,3	2,45	2,22
Mínimo	11,8	12,31	12,62
Máximo	14,41	18,62	18,06

A – 100% carne de avestruz; B – 75% carne de avestruz, 25% suína; C – 50% carne de avestruz, 25% suína e 25% frango.

As formulações não apresentam diferença significativa, entre si, quanto ao teor de lipídeos. Resultado semelhante ao observado por Cavalheiro et al. (2010), em embutidos curados fermentados elaborados com carne de avestruz e suína na proporção 50:50 e 75:25. Resultados diferentes apresentaram Fernández-López et al. (2003), entre mortadela Bolonha a base de carne de avestruz e a base de carne bovina, Fernández-López et al (2006), entre hambúrgueres, 100% avestruz; 70% avestruz e 30% bovina; e 70% avestruz e 30% carne suína, Hautrive et al. (2008), entre hambúrgueres de avestruz, misto e bovino e McKenna et al. (2003), entre presunto e salsicha polonesa elaborados com carne de avestruz e com carne suína.

McKenna et al. (2003) afirmaram que os produtos elaborados com carne de avestruz tiveram menores teores de lipídeos, ao que concordam Cavalheiro et al. (2010), Fernández-López et al. (2003) e Hautrive et al. (2008). No presente estudo houve a tendência de diminuição da gordura à medida que houve o aumento na proporção de carne de avestruz na formulação.

As formulações se encontram dentro dos padrões estabelecidos pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Linguiça (BRASIL, 2000), máximo de 30% de gordura.

Os valores acima de 13,11% de gordura nas linguiças elaboradas com carne de avestruz no presente trabalho, provavelmente, se devem ao toucinho utilizado na formulação das mesmas, visto que segundo Paleari et al. (1998) a carne de avestruz

possui 1,6% de gordura e Fisher, Hoffman e Mellett (2000) encontraram valor de 3,57%.

6.2.4 Teor de Cinzas

Em relação ao teor de cinzas das formulações de linguiças elaboradas com carne de avestruz, foram obtidos percentuais (Tabela 10):

Tabela 10: Resultados referentes ao teor de cinzas das formulações elaboradas, valor percentual

	A	B	C
Média	2,96 ^a	3,21 ^b	3,19 ^b
Desvio padrão	0,12	0,07	0,04
Mínimo	2,77	3,13	3,14
Máximo	3,09	3,3	3,25

Valores na mesma linha com diferentes letras são diferentes estatisticamente (P<0,05).

A – 100% carne de avestruz; B – 75% carne de avestruz, 25% suína; C – 50% carne de avestruz, 25% suína e 25% frango.

As formulações mistas apresentam maiores teores de cinzas que a formulação elaborada 100% com carne de avestruz. Resultados diversos aos obtidos por Cavalheiro et al. (2010), em embutidos curados fermentados elaborados com carne de avestruz e suína na proporção 50:50 e 75:25, Fernández-López et al. (2003), em mortadela Bolonha elaborada com carne de avestruz e com carne bovina e Fernández-López et al (2006), em hambúrgueres, 100% avestruz; 70% avestruz e 30% bovina; e 70% avestruz e 30% carne suína, que não encontraram diferenças significativas entre as fórmulas.

Os teores de cinzas observados no presente trabalho são semelhantes aos observados por Fernández-López et al. (2003), aproximadamente 3% em mortadela Bolonha, Fisher, Hoffman e Mellett (2000), em presuntos de avestruz, 3,28% e 2,97% e Hoffman e Mellett (2003), 2,92% e 3,06% em hambúrgueres elaborados com carne de avestruz e gordura suína.

Os altos valores de cinzas, comparados com os valores da carne de avestruz, entre 1,07%, observados por Sales e Hayes (1996), e 2,42%, por Karakök et al. (2010), provavelmente se devem à utilização de sal (NaCl), sais de cura (nitrito), condimentos e especiarias na formulação das linguiças, em acordo com o que

afirmaram Fernández-López et al. (2003), Fernández-López et al (2006) e Fisher, Hoffman e Mellett (2000).

6.2.5 Potencial hidrogeniônico (pH)

Em relação ao pH das linguças elaboradas com carne de avestruz, foram obtidos valores (Tabela 11):

Tabela 11: Resultados referentes ao potencial hidrogeniônico (pH) dos tratamentos nos diferentes dias de análise

		Dia 1	Dia 4	Dia 8	Dia 12	Dia 16	Dia 20
A	Média	6,53 ^a	6,25 ^a	6,11 ^a	6,14 ^a	6,14 ^a	6,22 ^a
	Desvio padrão	0,01	0,02	0	0,01	0,02	0,01
	Mínimo	6,53	6,24	6,11	6,12	6,12	6,21
	Máximo	6,54	6,28	6,12	6,15	6,16	6,24
A'	Média	6,57 ^b	6,4 ^b	6,25 ^b	6,14 ^{ab}	6,19 ^b	6,13 ^b
	Desvio padrão	0,01	0	0,01	0,02	0,01	0,02
	Mínimo	6,56	6,4	6,24	6,13	6,18	6,11
	Máximo	6,59	6,41	6,25	6,17	6,2	6,15
B	Média	6,49 ^c	6,31 ^c	6,2 ^c	6,22 ^c	6,18 ^b	6,16 ^b
	Desvio padrão	0,03	0,01	0,02	0,03	0,01	0,02
	Mínimo	6,45	6,3	6,18	6,19	6,17	6,13
	Máximo	6,52	6,32	6,22	6,26	6,19	6,17
C	Média	6,38 ^d	6,27 ^a	6,11 ^a	6,19 ^{bc}	6,2 ^b	6,16 ^b
	Desvio padrão	0,02	0,02	0,01	0,02	0,01	0,01
	Mínimo	6,35	6,25	6,1	6,16	6,18	6,15
	Máximo	6,41	6,29	6,12	6,21	6,2	6,17

Valores na mesma coluna com diferentes letras são diferentes estatisticamente ($P < 0,05$).

A – 100% carne de avestruz, ar; A' – 100% carne de avestruz, vácuo; B – 75% carne de avestruz, 25% suína, vácuo; C – 50% carne de avestruz, 25% suína e 25% frango, vácuo.

O valor de pH, no primeiro dia de análise, foi maior quanto maior o percentual de carne de avestruz na formulação. O fato provavelmente se deve ao fato de a carne de avestruz possuir um pH maior que outras carnes, em acordo com o que relataram Cavalheiro et al. (2010), em embutidos curados fermentados elaborados com carne de avestruz e suína na proporção 50:50 e 75:25, Fernández-López et al. (2006), em hambúrgueres, 100% avestruz; 70% avestruz e 30% bovina; e 70%

avestruz e 30% carne suína e Hautrive et al. (2008) em hambúrgueres de avestruz, misto e bovino. Entretanto Fernández-López et al. (2003), em mortadela Bolonha a base de carne de avestruz e a base de carne bovina, não observou o mesmo comportamento.

O pH do tratamento com 100% de carne de avestruz embalada em ar foi menor que do tratamento com 100% de carne de avestruz embalada em vácuo. Resultado contrário aos obtidos por Fernández-López et al. (2008), em bifés de carne de avestruz e Mastromatteo et al. (2009), em hambúrguer elaborado com carnes de aves (avestruz, peru e frango).

Os tratamentos não apresentaram diferença significativa entre os dias de estocagem, somente tendência de queda até o dia 8. Essa ausência de diferença significativa está de acordo com os resultados observados por Otremba, Dikeman e Boyle (1999), em carne de avestruz inteira e embalada a vácuo, previamente congelada a - 40°C e conservada a 0°C e Seydim et al. (2006) em carne de avestruz moída. O resultado obtido não está de acordo com os obtidos por Fernández-López et al. (2008), que afirmam que valores de pH decresceram durante a estocagem em todos os tratamentos, esse decréscimo foi mais lento na carne embalada em ar que na carne embalada à vácuo, provavelmente devido ao maior crescimento de bactérias ácido lácticas, resultando na maior produção de ácido láctico, na última. Otremba, Dikeman e Boyle (1999), em carne de avestruz moída e embalada a vácuo, previamente congelada a - 40°C e conservada a 0°C observaram que o pH se elevou até o terceiro dia, quando começou a diminuir. Resultados diversos dos obtidos por Fernández-López et al. (2006), em hambúrgueres, 100% avestruz; 70% avestruz e 30% bovina; e 70% avestruz e 30% carne suína, que reportam que os valores aumentaram em todas as fórmulas, chegando a valores similares a 6,20 no nono dia de estocagem e Mastromatteo et al. (2009), em hambúrguer elaborado com carnes de aves (avestruz, peru e frango). Os autores informam que após uma redução no dia 1, os valores de pH foram aumentando durante a estocagem. No dia 8 de estocagem o hambúrguer embalado em ar apresentava valores de 5,85, enquanto o embalado em vácuo apresentava valores de 5,59.

Os valores de pH obtidos no presente trabalho são semelhantes aos observados por Fernández-López et al. (2003), valor de 6,42 em mortadela Bolonha a base de carne de avestruz, músculo *Femorotibialis medius*, resultado intermediário aos tratamentos B e C e Otremba, Dikeman e Boyle (1999), valor de 6,4 em carne

de avestruz inteira e embalada a vácuo, previamente congelada a - 40°C e conservada a 0°C, resultado semelhante ao obtido no tratamento C.

6.2.6 Teor de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)

Em relação ao teor de TBARS das linguças elaboradas com carne de avestruz, foram obtidos valores (Tabela 12):

Tabela 12: Resultados referentes ao teor de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) dos diferentes tratamentos no 1º dia de análise

	A	A'	B	C
Média	1,61 ^a	0,96 ^{ab}	1,06 ^b	0,81 ^c
Desvio padrão	0,27	0,13	0,06	0,04
Mínimo	1,58	0,88	1,01	0,76
Máximo	1,92	1,2	1,11	0,85

Valores na mesma linha com diferentes letras são diferentes estatisticamente (P<0,05).

A – 100% carne de avestruz, ar; A' – 100% carne de avestruz, vácuo; B – 75% carne de avestruz, 25% suína, vácuo; C – 50% carne de avestruz, 25% suína e 25% frango, vácuo.

O valor do tratamento C foi o mais baixo e diferiu significativamente dos demais tratamentos, o valor do tratamento A' foi um pouco maior e não diferiu significativamente dos tratamentos A e B, que diferiram entre si, ficando o tratamento A com o valor mais alto. Provavelmente o principal motivo para o tratamento A apresentar o valor mais alto de TBARS foi ser embalado em ar, contendo uma maior concentração de oxigênio na embalagem que os outros tratamentos, embalados a vácuo em acordo com o que afirmam Fernández-López et al. (2006), que este teste é utilizado para medição da rancidez oxidativa em carnes e produtos cárneos, e Fernández-López et al. (2008), que a concentração de oxigênio na embalagem é o fator determinante da velocidade de oxidação lipídica e que a exclusão do oxigênio pelo vácuo limita a oxidação e conseqüentemente resulta em menores valores de TBARS.

Fernández-López et al. (2006) observaram teores de 1,21 , 1,11 e 1,69 em hambúrgueres, 100% avestruz; 70% avestruz e 30% bovina; e 70% avestruz e 30% carne suína, respectivamente. Pontuando que o maior valor para a fórmula com carne suína pode ser devido ao maior teor de gordura, que pode acelerar a oxidação

lipídica. O valor 1,69 encontrado pelos pesquisadores é semelhante ao observado no tratamento A do presente trabalho, que foi o valor mais alto do presente.

Fernández-López et al. (2008) observaram valores menores que os valores observados pelo presente trabalho, aproximadamente 0,1 em bifes de carne de avestruz, no dia 0. Durante o tempo de estocagem os bifes embalados em ar apresentaram maiores valores de TBARS que os embalados a vácuo.

6.3 ANÁLISE SENSORIAL

Em relação aos níveis de aceitação das linguças elaboradas com carne de avestruz, foram obtidos valores (Tabela 13, 14 e 15):

Tabela 13: Resultados referentes ao nível de aceitação da aparência cozida dos tratamentos nos dias de análise

	Dia 1				Dia 4		
	A	A'	B	C	A'	B	C
Média	6,04	6,56	6,59	6,89	6,41	6,91	6,5
Desvio padrão	2,14	1,83	1,76	1,48	1,99	2,18	1,92
Mínimo	2	1	3	4	2	3	3
Máximo	9	9	9	9	8	9	9

A – 100% carne de avestruz, ar; A' – 100% carne de avestruz, vácuo; B – 75% carne de avestruz, 25% suína, vácuo; C – 50% carne de avestruz, 25% suína e 25% frango, vácuo.

Tabela 14: Resultados referentes ao nível de aceitação da textura dos tratamentos nos dias de análise

	Dia 1				Dia 4		
	A	A'	B	C	A'	B	C
Média	6,33	6,37	7,3	7,22	6,64	7,23	7,27
Desvio padrão	1,78	2,06	1,07	1,31	1,29	1,11	1,58
Mínimo	2	3	4	3	4	5	3
Máximo	9	9	9	9	8	9	9

A – 100% carne de avestruz, ar; A' – 100% carne de avestruz, vácuo; B – 75% carne de avestruz, 25% suína, vácuo; C – 50% carne de avestruz, 25% suína e 25% frango, vácuo.

Tabela 15: Resultados referentes ao nível de aceitação global dos tratamentos nos dias de análise

	Dia 1				Dia 4		
	A	A'	B	C	A'	B	C
Média	6,33	6,59	7,15	7,15	6,77	6,82	7,23
Desvio padrão	1,78	1,76	1,17	1,32	1,41	1,5	1,45
Mínimo	2	2	4	4	4	3	3
Máximo	9	9	9	9	9	9	9

A – 100% carne de avestruz, ar; A' – 100% carne de avestruz, vácuo; B – 75% carne de avestruz, 25% suína, vácuo; C – 50% carne de avestruz, 25% suína e 25% frango, vácuo.

O nível de aceitação (aparência cozida, textura e global) das linguças elaboradas no presente trabalho foi boa, apresentando notas entre 6 (gostei ligeiramente) e 7,3 (gostei moderadamente - gostei muito).

A boa aceitação global está em acordo com a obtida por Fernández-López et al. (2006), em hambúrgueres elaborados com 100% carne de avestruz, 70% carne de avestruz e 30% carne bovina e 70% carne de avestruz e 30% carne suína.

A boa aceitação de aparência e textura se encontram de acordo com os observados por Hautrive et al. (2008), em hambúrgueres bovino, misto e de avestruz, respectivamente. Pontuando que o hambúrguer misto foi o que obteve maior aceitação dos julgadores, e assim seria uma alternativa para a industrialização e o comércio, pois agregado à carne bovina o custo dos hambúrgueres de avestruz seria menos oneroso.

Não houve diferença significativa entre os tratamentos e dias de análise. Resultados diferentes dos encontrados por Fernández-López et al (2006), que observaram maior aceitação global para hambúrgueres elaborados com 100% carne de avestruz e com 70% carne de avestruz e 30% carne bovina que para hambúrgueres elaborados com 70% carne de avestruz e 30% carne suína e por Hautrive et al. (2008), que observaram em escala decrescente de aceitação da aparência hambúrgueres de avestruz, misto, e bovino; e de aceitação da textura hambúrgueres misto, de avestruz, e bovino, também em escala decrescente de aceitação. Pontuando que o hambúrguer misto foi o que obteve maior aceitação dos julgadores, e assim seria uma alternativa para a industrialização e o comércio, pois agregado à carne bovina o custo dos hambúrgueres de avestruz seria menos oneroso.

O nível de aceitação obtido pelas linguiças elaboradas no presente trabalho foi superior ao encontrado por McKenna et al. (2003), para presunto e salsicha polonesa de avestruz, 2,82 e 5,21, respectivamente. Os autores afirmaram que a carne de avestruz deve ter obtido maior aceitação como salsicha que como presunto devido à inclusão de toucinho suíno, que deve ter diluído o sabor da carne de avestruz e conferido um gosto mais familiar. A adição do toucinho na formulação da massa na presente pesquisa, com linguiça frescas a base de carne de avestruz, podem ter influenciado na aceitabilidade junto aos provadores.

As notas entre 6 e 9, gostei ligeiramente a gostei extremamente, obtidas no teste de aceitação para todos os atributos, sugerem que o produto poderá ser aceito, do ponto de vista sensorial, pelo mercado consumidor (HAUTRIVE et al., 2008), com base nesta afirmação conduzida pelo autor, pode-se afirmar que as formulações de linguiça frescas elaboradas com carne de avestruz, no presente trabalho, poderão ser aceitas sensorialmente pelo mercado consumidor.

6.4 AVALIAÇÃO INSTRUMENTAL DA COR

Em relação à avaliação instrumental da cor das linguças elaboradas com carne de avestruz, foram obtidos valores (Tabela 16, 17 e 18):

Tabela 16: Resultados referentes aos valores de L* (luminosidade) dos diferentes tratamentos nos dias de análise

		Dia 1	Dia 4	Dia 8	Dia 12	Dia 16	Dia 20
A	Média	47,39 ^a	42,77 ^a	43,93 ^{ab}	45,41 ^a	44,68 ^a	44,52 ^a
	Desvio padrão	1,03	0,77	1,65	0,77	1,1	1,17
	Mínimo	47	42	42	45	43	44
	Máximo	49	44	46	47	46	46
A'	Média	47,54 ^{ab}	45,33 ^b	42,12 ^b	45,65 ^a	45,38 ^a	45,7 ^{ab}
	Desvio padrão	1,68	0,53	1,01	0,69	0,46	1,28
	Mínimo	46	45	41	45	45	44
	Máximo	49	46	44	47	46	47
B	Média	50,21 ^b	45,53 ^{bc}	44 ^{ab}	48,45 ^b	48,23 ^b	47,41 ^b
	Desvio padrão	1,06	0,97	1,51	0,6	0,38	0,66
	Mínimo	49	45	42	48	48	47
	Máximo	51	47	46	49	49	48
C	Média	54,19 ^c	47,78 ^c	47,24 ^a	51,21 ^c	50,86 ^c	51,83 ^c
	Desvio padrão	1,13	0,82	1,26	1,01	0,88	0,81
	Mínimo	53	46	46	50	50	51
	Máximo	56	48	49	53	52	53

Valores na mesma coluna com diferentes letras são diferentes estatisticamente (P<0,05).

A – 100% carne de avestruz, ar; A' – 100% carne de avestruz, vácuo; B – 75% carne de avestruz, 25% suína, vácuo; C – 50% carne de avestruz, 25% suína e 25% frango, vácuo.

No dia um o tratamento C (50% carne de avestruz, 25% suína e 25% frango, vácuo) foi o que apresentou o maior valor de luminosidade, seguido pelo tratamento B (75% carne de avestruz, 25% suína, vácuo e o tratamento A (100% carne de avestruz, ar) apresentou o menor valor. O tratamento A' (100% carne de avestruz, vácuo) não apresentou diferença significativa em relação aos tratamentos B e A. O resultado se encontra de acordo com o observado Fernández-López et al. (2003), em mortadelas Bolonha a base de carne de avestruz e carne bovina. Os autores afirmam que os valores de L* obtidos pelas mortadelas elaboradas com carne de avestruz foram mais escuras, uma característica típica da carne fresca de avestruz. Ambos se encontram em acordo com Cooper e Horbańczuk (2002), ao afirmarem

que a carne de avestruz possui uma coloração mais escura, mesmo quando comparada à carne bovina, devido ao alto conteúdo de heme e ao efeito do alto pH, que varia de 5,8 a 6,2, na retenção de água, resultando em menos refletância da luz.

Resultado diverso foi observado por Fernández-López et al. (2006), em hambúrgueres, 100% avestruz; 70% avestruz e 30% bovina; e 70% avestruz e 30% carne suína. Os pesquisadores não encontraram diferença entre as formulações.

Não houve diferença significativa entre os dias de estocagem, em acordo com Fernández-López et al. (2006), ao afirmar que os valores de L^* não mostraram diferenças durante o período de nove dias de estocagem.

O motivo para os valores observados no presente trabalho serem mais altos que os observados em carne de avestruz como observado por Fernández-López et al. (2008), Otremba, Dikeman e Boyle (1999) e Seydim et al. (2006) e produtos como hambúrguer observados por Fernández-López et al. (2006) e Hoffman e Mellett (2003) e presunto por Fisher, Hoffman e Mellett (2000) provavelmente se deve à utilização de toucinho, que, como afirmaram Fisher, Hoffman e Mellett (2000), por ser branco acarreta em um aumento dessa característica, luminosidade, uma vez que a carne de avestruz é tipicamente escura. Com base nestas afirmações, pode-se pontuar que existe semelhança entre os valores obtidos nas salsichas Viena, elaboradas por estes pesquisadores, e os obtidos nas linguiças puras elaboradas no presente.

Tabela 17: Resultados referentes aos valores de a* (vermelho) dos diferentes tratamentos nos dias de análise

		Dia 1	Dia 4	Dia 8	Dia 12	Dia 16	Dia 20
A	Média	26,24 ^{abc}	22,33 ^a	19,5 ^a	23,96 ^a	20,44 ^a	21,69 ^a
	Desvio padrão	1,01	0,93	1,41	0,58	0,68	0,89
	Mínimo	25	21	18	23	20	21
	Máximo	27	23	21	25	21	23
A'	Média	28,44 ^d	23,6 ^b	24,82 ^b	23,71 ^a	23,16 ^b	23,21 ^{ab}
	Desvio padrão	0,39	0,4	0,62	0,61	0,6	0,89
	Mínimo	28	23	24	23	22	22
	Máximo	29	24	26	24	24	24
B	Média	26,93 ^b	23,08 ^{ab}	24,32 ^b	23,87 ^a	22,71 ^b	24,18 ^b
	Desvio padrão	0,21	0,63	0,65	0,15	1,05	0,49
	Mínimo	27	22	24	24	22	24
	Máximo	27	24	25	24	24	25
C	Média	24,61 ^c	22,15 ^a	23,31 ^b	22 ^b	21,87 ^{ab}	22,99 ^{ab}
	Desvio padrão	0,78	0,29	0,68	0,37	0,74	0,66
	Mínimo	23	22	22	22	21	22
	Máximo	25	23	24	23	23	24

Valores na mesma coluna com diferentes letras são diferentes estatisticamente (P<0,05).

A – 100% carne de avestruz, ar; A' – 100% carne de avestruz, vácuo; B – 75% carne de avestruz, 25% suína, vácuo; C – 50% carne de avestruz, 25% suína e 25% frango, vácuo.

O tratamento A' foi o que obteve maiores valores de a*, se mostrando mais vermelho, seguido do tratamento B e C. O tratamento A não apresentou diferença significativa para os tratamentos B e C. O resultado está em acordo com Fisher, Hoffman e Mellett (2000), ao afirmarem que a carne de avestruz parece ser mais vermelha que a carne suína e de frango e com Fernández-López et al. (2003), ao reportarem que a carne de avestruz parece mais vermelha até que a carne bovina. O resultado também está de acordo com Seydim et al. (2006), que informou que a diminuição do vermelho devido à oxidação da oximioglobina na carne embalada em atmosferas de ar é esperado.

Não houve diferença significativa entre os dias de estocagem, em acordo com resultados observados por Seydim et al. (2006), em carne moída de avestruz embaladas a vácuo. Resultados diferentes foram encontrados por Fernández-López et al. (2006), em hambúrgueres, 100% avestruz; 70% avestruz e 30% bovina; e 70% avestruz e 30% carne suína, Fernández-López et al. (2008), em bifes de carne de

avestruz, Otremba, Dikeman e Boyle (1999), em carne de avestruz inteira e moída, embalada a vácuo, previamente congelada a - 40°C e conservada a 0°C e Seydim et al. (2006), em carne moída de avestruz embaladas em ar. Segundo os autores citados, os valores decresceram durante a estocagem. Seydim et al. (2006) pontuam que a diminuição do vermelho devido à oxidação da oximioglobina na carne embalada em atmosferas de O₂ e ar era uma alteração prevista devido aos efeitos do alto pH da carne ($\geq 6,0$). Fernández-López et al (2006), relataram que o valor de a* decresceu em função do tempo, esta ocorre em razão de na carne estocada se ter predominância de oximioglobina e metamioglobina que são formadas a partir da deoximioglobina, podendo desta forma predispor a carne a se tornar amarronzada mais rapidamente. Fernández-López et al. (2008), afirmaram que os valores foram decrescendo durante a estocagem em todos os tipos de embalagem, e o decréscimo foi maior na carne embalada em vácuo que na carne embalada em ar.

Os valores de a* observados no presente trabalho foram superiores aos encontrados por Fernández-López et al. (2003), em mortadela Bolonha a base de carne de avestruz e carne bovina, Fernández-López et al (2006), em hambúrgueres, 100% avestruz; 70% avestruz e 30% bovina; e 70% avestruz e 30% carne suína, Fernández-López et al. (2008), em bifos de carne de avestruz, Fisher, Hoffman e Mellett (2000), em presuntos e salsichas Viena elaboradas com carne de avestruz, Hoffman e Mellett (2003), em hambúrgueres elaborados com carne de avestruz, Otremba, Dikeman e Boyle (1999), em carne de avestruz e Seydim et al. (2006), em carne de avestruz moída e inteira.

Tabela 18: Resultados referentes aos valores de b* (amarelo) dos diferentes tratamentos nos dias de análise

		Dia 1	Dia 4	Dia 8	Dia 12	Dia 16	Dia 20
A	Média	10,39 ^{ab}	7,8 ^{ab}	7,38 ^a	7,96 ^a	7,7 ^{ab}	8,4 ^a
	Desvio padrão	0,2	0,39	0,25	0,19	0,65	0,48
	Mínimo	10	7	7	8	7	8
	Máximo	11	8	8	8	9	9
A'	Média	10,53 ^{ab}	8,07 ^a	8,27 ^b	8,22 ^a	7,36 ^b	7,65 ^{ab}
	Desvio padrão	0,24	0,27	0,24	0,45	0,47	0,47
	Mínimo	10	8	8	7	7	7
	Máximo	11	8	9	9	8	8
B	Média	10,73 ^a	8,66 ^c	8,76 ^{bc}	8,42 ^{ab}	8 ^{ab}	7,3 ^b
	Desvio padrão	0,35	0,17	0,23	0,49	0,83	0,4
	Mínimo	10	9	9	8	7	7
	Máximo	11	9	9	9	9	8
C	Média	9,94 ^b	8,45 ^{bc}	8,86 ^c	8,75 ^b	8,46 ^a	8,44 ^a
	Desvio padrão	0,21	0,17	0,15	0,18	0,21	0,51
	Mínimo	10	8	9	9	8	8
	Máximo	10	9	9	9	9	9

Valores na mesma coluna com diferentes letras são diferentes estatisticamente (P<0,05).

A – 100% carne de avestruz, ar; A' – 100% carne de avestruz, vácuo; B – 75% carne de avestruz, 25% suína, vácuo; C – 50% carne de avestruz, 25% suína e 25% frango, vácuo.

No primeiro dia, o tratamento B obteve os maiores valores de b*, sendo mais amarelo, e o tratamento C obteve os menores. Os tratamentos A e A' obtiveram valores intermediários e não apresentaram diferença significativa em relação a ambos. Fernández-López et al. (2003), também encontrou diferença entre fórmulas, no caso, mortadela Bolonha a base de carne de avestruz e a base de carne bovina. Também foram observados por Fernández-López et al. (2006), em hambúrgueres, entretanto os hambúrgueres 100% avestruz e 70% avestruz e 30% bovina apresentaram valor menor que o 70% avestruz e 30% suína, contrariamente ao presente estudo, quando comparadas com linguiças frescas a base de carne de avestruz.

Não houve diferença significativa entre os dias de análise, em acordo com Otremba, Dikeman e Boyle (1999) em carne de avestruz inteira e moída, embalada a vácuo, previamente congelada a - 40°C e conservada a 0°C e Seydim et al. (2006),

em carne moída de avestruz embaladas a vácuo. Resultado diferente do obtido por Seydim et al. (2006), em carne moída de avestruz embaladas em ar.

Os valores de b^* observados no presente trabalho são semelhantes aos observados por Fernández-López et al. (2003), 9,38 e 10,92 para as fórmulas a base de carne de avestruz e 11,14% para a fórmula a base de carne bovina e Fernández-López et al (2006), 10,15 e 9,96 em hambúrgueres, 100% avestruz; 70% avestruz e 30% bovina, respectivamente.

7 CONCLUSÕES

Com a realização do presente trabalho pode-se concluir que:

7.1 ANÁLISES BACTERIOLÓGICAS

Os quatro tratamentos apresentaram contagens iniciais de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e psicotróficas altas, que pode ser devido a diversos fatores, e reduz a validade comercial no que se refere a deterioração do produto. Pontua-se ainda que os tratamentos não apresentaram diferença significativa entre si, apenas em alguns dias, e que não houve diferença significativa entre os dias de tratamento, possivelmente devido à alta contagem inicial.

Com relação às bactérias patogênicas, só houve aparecimento de *Clostridium* sulfito redutor ao final da estocagem das linguiças, sendo este, em contagens muito inferiores ao limite previsto na RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL,2001). A média da contagem de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva leva à interpretação de que a validade comercial da linguiça pura, embalada em ar, foi menor que quatro dias e que a validade comercial das linguiças mistas foi menor que oito dias, pois do quarto para o oitavo dia a contagem diminuiu. A enumeração inicial de coliformes termotolerantes foi menor para a formulação 100% avestruz e a validade comercial da linguiça pura, embalada a vácuo foi menor que 12 dias. O isolamento e identificação de *Salmonella* spp. ocorreu em uma das 120 amostras estudadas, essa amostra foi do dia um da linguiça mista de carne de avestruz e suína, sendo esta, baseada na legislação vigente, considerada imprópria para o consumo.

Com base nas análises bacteriológicas pode-se concluir que seria importante uma pesquisa nas matérias primas, ingredientes, aditivos, bem como, nas etapas do processamento tecnológico, de modo a estabelecer a possível fonte de contaminação. Caso fossem obtidos nos tratamentos contagens iniciais de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e psicrotólicas menores possivelmente seriam observadas diferenças estatísticas entre as embalagens em ar e a vácuo e entre os dias de estocagem, pois possivelmente se observariam as fases lag e log, porque inicialmente se teria menos competição microbiana e haveria um maior crescimento bacteriano. Ademais, os tratamentos provavelmente apresentariam maior validade comercial.

7.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As três formulações de linguiças frescas elaboradas com carne de avestruz não apresentaram diferença significativa entre si, quanto a sua caracterização físico-química, com exceção do teor de cinzas que foi mais alto nas linguiças mistas. As formulações se apresentaram físico-quimicamente dentro dos padrões estipulados para linguiças frescas no Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Linguiça, Anexo III da Instrução Normativa nº 4, de 31 de março de 2000, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2000). Acrescenta-se que as formulações apresentaram maiores teores de proteínas e menores teores de lipídeos que os padrões estabelecidos pela Instrução Normativa.

Na análise do teor de pH observou-se diferença significativa entre os tratamentos, com pH aumentando a proporção que aumentou percentual de carne de avestruz na formulação. Este deve-se, provavelmente à carne de avestruz possuir um pH mais elevado comparado a outras carnes utilizadas nas formulações. Com base nos dados apresentados pode-se configurar que, não houve diferença estatística entre os dias de estocagem, apenas tendência de queda. Quanto ao teor de TBARS, só foi possível a realização desta análise no primeiro dia, e esta mostrou que o maior teor de oxidação foi no tratamento embalado em ar, provavelmente em razão do oxigênio contido no interior da embalagem, entretanto foram valores normais, de acordo com o achado de outros pesquisadores.

7.3 ANÁLISE SENSORIAL

As formulações foram bem aceitas do ponto de vista sensorial nos dias em que foi feita a análise, dia 1 para a linguiça pura, embalada em ar, e dias 1 e 4 para as linguiças embaladas em vácuo. Não houve diferença significativa entre os tratamentos nem entre os dias. Pontua-se ainda que as linguiças frescas puras ou mistas elaboradas com carne de avestruz se apresentam como uma opção viável de produção e comercialização, bem aceitas pelo consumidor e que podem ser colocadas no mercado e disputar com as linguiças tradicionais, com perspectiva de êxito.

7.4 ANÁLISE INSTRUMENTAL DA COR

As linguiças puras foram mais escuras e vermelhas que as mistas, sendo a mista de carne de avestruz, suína e frango a mais clara e menos vermelha, como esperado, pois tem menor quantidade de carne de avestruz, que é mais escura e vermelha que as demais carnes utilizadas no presente estudo. Registra-se que não houve influência significativa em relação as três formulações em relação a aceitabilidade.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALONSO-CALLEJA, C.; MARTÍNEZ-FERNÁNDEZ, B.; PRIETO, M.; CAPITA, R. Microbiological quality of vacuum-packed retail ostrich meat in Spain. *Food Microbiology*, v. 21, n. 2, p. 241-246, 2004.

ANDREWS, L.; GILLESPIE, J.; SCHUPP, A.; TAYLOR, G. Ratite meat sensory scores compared with beef. *Journal of Food Quality*, v. 23, n 3, p. 351-359, 2000.

ANGEL, C. R. A review of ratite nutrition. *Animal Feed Science Technology*, v. 60, p. 241-246, 1996.

BARBOSA, C. A.; CAMPELO, E. H. R.; PEREIRA, M. C.; MICHELS, I. L. Sistemas agroalimentares e cadeias agroindustriais: panorama da cadeia de estrutiocultura no Brasil. In. CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, 40, 2007, Londrina. Disponível em: <<http://www.sober.org.br/palestra/6/1055.pdf>>. Acesso em 19/05/2009.

BALOG, A.; MENDES, A. A.; ALMEIDA PAZ, I. C. D. L.; SILVA, M. D. C.; TAKAHASHI, S. E.; KOMIYAMA, C. M. Ostrich meat: Carcass yield and physical and chemical characteristics | [Carne de avestruz: Rendimento de carcaça e aspectos físicos e químicos]. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 28, n. 2, p. 400-407, 2008.

BÖHME, H. M.; MELLETT, F. D.; DICKS, L. M. T.; BASSON, D. S. Production of Salami from Ostrich Meat with Strains of *Lactobacillus sake*, *Lactobacillus curvatus* and *Micrococcus* sp. *Meat Science*, v. 44, n. 3, p. 173-180, 1996.

BRAND, T. S.; GOUS, R. M.; HORBAÑCZUK, J. O.; KRUGER, A. C. M.; AUCAMP, B. B.; BRAND, Z. The effect of dietary energy and protein (amino acid) concentrations on the end products of slaughter ostriches. *South African Journal of Animal Science*, v. 34, n. 2, p. 107-109, 2004.

BRASIL. Decreto nº. 30.691, de 29 de março de 1952. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Alterado pelo Decreto nº. 1.255, de 25.06.1962, alterado pelo Decreto nº. 1.236, de 02.09.1994, alterado pelo Decreto nº. 1.812, de 08.02.1996, alterado pelo Decreto nº. 2.244, de 04.06.1997, alterado pelo Decreto nº. 6385 de 27/02/2008. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, p.10785, 07 jul. 1952. Seção 1.

_____. Instrução Normativa nº 20 de 21 de julho de 1999. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. Ministério da Agricultura e Abastecimento. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, p.10, 27 jul. 1999. Seção 1.

_____. Instrução Normativa nº 4, de 31 de março de 2000. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Linguiça e de Salsicha. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, p. 6, 05 abr. 2000. Seção 1.

_____. Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php>>. Acesso em: 29/11/2009.

_____. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, p. 14, 18, set. 2003. Seção 1.

CAMPO & CULTURA. Especial On line: Estutiocultura. 2008. Disponível em: <<http://www.revistacampoecultura.com.br/OBJ/prodView.asp?idProduct=5>>. Acesso em: 20/11/2008.

CAPITA, R.; DÍAZ-RODRÍGUEZ, N.; PRIETO, M.; ALONSO-CALLEJA, C. Effects of temperature, oxygen exclusion, and storage on the microbial loads and pH of packed ostrich steaks. *Meat Science*, v. 73, p. 498–502, 2006.

CAVALHEIRO, C.P.; TERRA, N.N.; FRIES, L.L.M.; MILANI, L.I.G.; REZER, A.P.S.; CAVALHEIRO, C.V., MANFIO, M. Características físico-químicas de embutido curado fermentado com adição de carne de avestruz associada à de suíno. *Ciencia Rural*, v. 40, n. 2, p. 447-452, 2010.

CLOETE, S. W. P.; SCHALKWYK, S. J.; HOFFMAN, L. C.; MEYER, A. Effect of age on leather and skin traits of slaughter ostriches. *South African Society for Animal Science*, v.34, n. 2, p.80-86, 2004.

CLOETE, S. W. P.; SCHALKWYK, S. J.; ENGELBRECHT, A.; HOFFMAN, L. C. Genetic variation in nodule size at different sites on the skins of slaughter ostriches. *South African Society for Animal Science*, v.36, n.3, p.160-164,2006.

COOPER, R. G.; HORBAÑCZUK, J. O. Anatomical and physiological characteristics of ostrich (*Struthio camelus* var. *domesticus*) meat determine its nutritional importance for man. *Animal Science Journal*, v. 73, p. 167-173, 2002.

- FDA. *Bacteriological Analytical Manual*, Chapter 4, Enumeration of ***Escherichia coli*** and the Coliform Bacteria, 2002. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/ucm064948.htm>>. Acesso em: 29/11/2009.
- FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; SAYAS-BARBERÁ, E.; NAVARRO, C.; SENDRA, E.; PÉREZ-ALVAREZ, J. A. Physical, Chemical, and Sensory Properties of Bologna Sausage Made with Ostrich Meat. *Journal of Food Science*, v. 68, n. 4, p. 1511-1515, 2003.
- FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; JIMÉNEZ, S.; SAYAS-BARBERÁ, E.; SENDRA, E.; PÉREZ-ALVAREZ, J.A. Quality characteristics of ostrich (*Struthio camelus*) burgers. *Meat Science*, v. 73, p. 295-303, 2006.
- FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; SAYAS-BARBERÁ, E.; MUÑOZ, T.; SENDRA, E.; NAVARRO, C.; PÉREZ-ALVAREZ, J.A. Effect of packaging conditions on shelf-life of ostrich steaks. *Meat Science*, v. 78, n. 1-2, p. 143-152, 2008.
- FISHER, P.; HOFFMAN, L. C.; MELLETT, F. D. Processing and nutritional characteristics of value added ostrich products. *Meat Science*, 55, p. 251-254, 2000.
- FRANCO, R.M.; MANTILLA, S.P.S. *Escherichia coli* em cortes de carne bovina (acém): Avaliação de metodologia e sensibilidade antimicrobiana aos sorovares predominantes. *XIV Seminário de Iniciação Científica e Prêmio UFF Vasconcellos Torres de Ciência e Tecnologia*. 2004 – 08 a 12/11/2004 -1º lugar na Área de Ciências Agrárias.
- GILL, C.O. Microbiological conditions of meats from large game animals and birds. *Meat Science*, v.77, p. 149–160, 2007.
- GONZÁLES-MONTALVO, B.; CAPITA, R.; GUEVARA-FRANCO, J. A.; PRIETO, M.; ALONSO-CALLEJA, C. Influence of oxygen exclusion and temperature on pathogenic bacteria levels and sensory characteristics of packed ostrich steaks throughout refrigerated storage. *Meat Science*, v.76, p. 201–209, 2007.
- HAUTRIVE, T.P.; DE OLIVEIRA, V.R.; DA SILVA, A.R.D.; TERRA, N.N.; CAMPAGNOL, P.C.B. Análise físico-química e sensorial de hambúrguer elaborado com carne de avestruz. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 28, n. suplemento, p. 95-101, 2008.
- HIDAKA, A.; HOKYO, T.; ARIKAWA, K.; FUJIHARA, S.; OGASAWARA, J.; HASE, A.; HARA-KUDO, Y.; NISHIKAWA, Y. Multiplex real-time PCR for exhaustive detection of diarrhoeagenic *Escherichia coli*. *Journal of Applied Microbiology*, v. 106, n. 2, p. 410-420, 2009.
- HOFFMAN, L. C. The yield and nutritional value of meat from African ungulates, camelidae, rodents, ratites and reptiles. *Meat Science*, v. 80, p. 94–100, 2008.

HOFFMAN, L.C.; FISHER, P. Comparison of meat quality characteristics between young and old ostriches. *Meat Science*, v.59, p. 335-337, 2001.

HOFFMAN, L.C.; MELLETT, F.D. Quality characteristics of low fat ostrich meat patties formulated with either pork lard or modified corn starch, soya isolate and water. *Meat Science*, v. 65, n.2, p. 869-875, 2003.

HOFFMAN, L.C.; MULLER, M.; CLOETE, S.W.P.; BRAND, M. Physical and sensory meat quality of South African Black ostriches (*Struthio camelus* var. *domesticus*), Zimbabwean Blue ostriches (*Struthio camelus australis*) and their hybrid. *Meat Science*, v. 79, n. 2, p. 365-374, 2008.

JAY, J.M. *Modern Food Microbiology*. 6 ed. Gaithersburg: Aspen Publishers, 2000. 635.

JUNEJA, V. K.; MARKS, H.; THIPPAREDDI, H. Predictive model for growth of *Clostridium perfringens* during cooling of cooked ground chicken. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, v. 10, n. 2, p. 260-266, 2009

LISERRE, A. M.; LANDGRAF, M.; DESTRO, M. T.; FRANCO, B. D. G. M. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by a bacteriocinogenic *Lactobacillus sake* strain in modified atmosphere-packaged Brazilian sausage. *Meat Science*, v. 61, n. 4, p. 449-455, 2002.

LUCINI, M. A.; DE FARIÑA, L. O.; FALCONI, F. A.; DRUNKLER, D. A. Evaluation of the technological quality of natural pork casings used for manufacture of Toscana sausage | [Avaliação da qualidade tecnológica de envoltório natural suíno utilizado no processamento de linguiça toscana]. *Ciencia e Agrotecnologia*, v. 33, n. 3, p. 831-836, 2009.

KARAKÖK, S.G.; OZOGUL, Y.; SALER, M.; OZOGUL, F. Proximate analysis. Fatty acid profiles and mineral contents of meats: A comparative study. *Journal of Muscle Foods*, v. 21, n. 2, p. 210-223, 2010.

MASTROMATTEO, M.; LUCERA, A.; SINIGAGLIA, M.; CORBO, M.R. Microbiological characteristics of poultry patties in relation to packaging atmospheres. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 44, n. 12, p. 2620-2628, 2009.

MCGUINNESS, S.; MCCABE, E.; O'REGAN, E.; DOLAN, A.; DUFFY, G., BURGESS, C.; FANNING, S.; BARRY, T.; O'GRADY, J. Development and validation of a rapid real-time PCR based method for the specific detection of *Salmonella* on fresh meat. *Meat Science*, v. 83, n. 3, p. 555-562, 2009.

MCKENNA, D.R.; MORRIS, C.A.; KEETON, J.T.; MILLER, R.K.; HALE, D.S.; HARRIS, S.D.; SAVELL, J.W. Consumer acceptability of processed ostrich meat products. *Journal of Muscle Foods*, v. 14, n. 2, p. 173-179, 2003.

MEYER, A.; CLOETE, S.W.P.; BROWN, C.R.; SCHALKWYK, S.J. Declawing ostrich (*Struthio camelus domesticus*) chicks to minimize skin damage during rearing. *South African Society for Animal Science*, v.32, n.3, p.191-200, 2002.

MERCK. *Microbiology Manual*. ed. 12. 2005. CD-ROOM.

MILANI, L. I. G.; FRIES, L. L. M.; PAZ, P. B.; BELLÉ, M.; TERRA, N. N. Bioproteção de linguiça de frango. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 23, n. 2, p. 161-166, 2003.

MINE, O. M.; MOCHAKANA, M. E.; MPAPHO, T.; MOTLHANKA, D. T. M.; KGWATALALA, P. Application of a sex identification technique in juvenile ostriches and its potential application in Botswana. *South African Society for Animal Science*, v.32, n.3, p.160-163, 2002.

MIYASAKI, K.N.; CHIARINI, E.; SANTANA, A.D.S.; DESTRO, M.T.; LANDGRAF, M.; FRANCO, B.D.G.D.M. High prevalence, low counts and uncommon serotypes of *Listeria monocytogenes* in linguiça, a Brazilian fresh pork sausage. *Meat Science*, v. 83, n. 3, p. 523-527, 2009.

MOTZER, J. A.; CARPENTER, A.E.; REYNOLDS, A.E.; LYON, C.E. Quality of restructured hams manufactured with PSE pork as affected by water binders. *Journal of Food Science*, v.63, n. 6; p.1007-1011, 1998.

MUSHI, E.Z.; ISA, J.F.W.; CHABO, R.G.; MODISA, L.; KONO, P. Commercial ostrich farming in Botswana. *South African Journal of Animal Science*, v. 29, n. 3, p.262-266, 1999.

OLIVEIRA, M. J.; ARAÚJO, W. M. C.; BORGIO, L. A. Quantificação de Nitrato e Nitrito em Linguiças do Tipo Frescal. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 25, n. 4, p. 736-742, 2005.

OTREMBA, M.M.; DIKEMAN, M.E.; BOYLE, E.A.E. Refrigerated shelf life of vacuum-packaged, previously frozen ostrich meat. *Meat Science*, v. 52, n. 3, p. 279-283, 1999.

PALEARI, M.A.; CAMISASCA, S.; BERETTA, G.; RENO, P.; CORSICO, P.; BERTOLOB, G.; CRIVELLIB, G. Ostrich Meat: Physico-chemical Characteristics and Comparison with Turkey and Bovine. *Meat Science*, v. 48, n. 3/4, p.205-210, 1998.

PIGNATO, S.; MARINO, A.M.; EMANUELE, M.C.; IANNOTTA, V.; CARACAPPA, S.; GIAMMANCO, G. Evaluation of New Culture Media for Rapid Detection and Isolation of *Salmonellae* in Foods. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 61, n. 5, p. 1996-1999, 1995.

SALES, J.; HAYES, J.P. Proximate, amino acid and mineral composition of ostrich meat. *Food Chemistry*, v. 56, n. 2, p. 167-170, 1996.

SEYDIM, A.C.; ACTON, J.C.; HALL, M.A.; DAWSON, P.L. Effects of packaging atmospheres on shelf-life quality of ground ostrich meat. *Meat Science*, v. 73, n. 3, p. 503-510, 2006.

SONGER, J.G. Clostridia as agents of zoonotic disease. *Veterinary Microbiology*, Article in Press, 2009

TARLADGIS, B. C.; WATTS, B.M.; YOUNATHAN, M.T.; DUGAN JR., L. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *Journal of the American Oil Chemists Society*. v. 37, p. 44-48, 1960.

VALERO, A.; PÉREZ-RODRÍGUEZ, F.; CARRASCO, E.; FUENTES-ALVENTOSA, J.M.; GARCÍA-GIMENO, R.M.; ZURERA, G. Modelling the growth boundaries of *Staphylococcus aureus*: Effect of temperature, pH and water activity. *International Journal of Food Microbiology*, v. 133, n. 1-2, p. 186-194, 2009.

YOON, S.-Y.; CHUNG, G.T.; KANG, D.-H.; RYU, C.; YOO, C.-K.; SEONG, W.-K. Application of real-time PCR for quantitative detection of *Clostridium botulinum* type A toxin gene in food. *Microbiology and Immunology*, v. 49, n. 6, p. 505-511, 2005.