

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

GUILHERME SICCA LOPES SAMPAIO

AValiação da perda de peso, da condição higiênico-  
sanitária e tecnológica de meias carcaças e quartos  
bovinos revestidos com polietileno durante o  
resfriamento

UNIVERSIDADE  
FEDERAL  
FLUMINENSE

Niterói, RJ

2013

GUILHERME SICCA LOPES SAMPAIO

AVALIAÇÃO DA PERDA DE PESO, DA CONDIÇÃO HIGIÊNICO-SANITÁRIA E TECNOLÓGICA DE MEIAS CARCAÇAS E QUARTOS BOVINOS REVESTIDOS COM POLIETILENO DURANTE O RESFRIAMENTO

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. Robson Maia Franco

Co-orientadores:

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Ana Beatriz Monteiro Fonseca

Prof. Dr. Zander Barreto Miranda

Niterói, RJ

2013

**S1192 Sampaio, Guilherme Sicca Lopes**

Avaliação da perda de peso, da condição higiênico-sanitária e tecnológica de meias carcaças e quartos bovinos revestidos com polietileno durante o resfriamento / Guilherme Sicca Lopes Sampaio; orientador Robson Maia Franco – 2013.

153f.

Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) — Universidade Federal Fluminense, 2013.

Orientador: Robson Maia Franco

1.Carcaça de bovino. 2.Perda de peso. 3.Análise de alimento. 4.Conservação de alimento. 5.Avaliação higiênico-sanitária. 6.Inspeção sanitária. I. Título

**CDD 664.92**

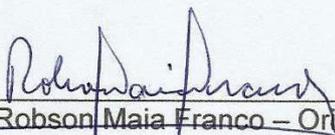
GUILHERME SICCA LOPES SAMPAIO

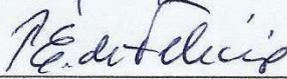
**AVALIAÇÃO DA PERDA DE PESO, DA CONDIÇÃO HIGIÊNICO-SANITÁRIA E TECNOLÓGICA DE MEIAS CARÇAÇAS E QUARTOS BOVINOS REVESTIDOS COM POLIETILENO DURANTE O RESFRIAMENTO**

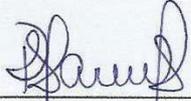
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre. Área de Concentração: Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal.

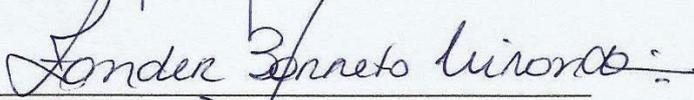
Aprovada em 14 de maio de 2013.

BANCA EXAMINADORA

  
Prof. Dr. Robson Maia Franco – Orientador - UFF

  
Prof. Dr. Pedro Eduardo de Felício - UNICAMP

  
Profa. Dra. Karen Signori Pereira – UFRJ

  
Prof. Dr. Zander Barreto Miranda – UFF

Niterói  
2013

## AGRADECIMENTOS

À minha família em primeiro lugar, meus pais Ivando Sampaio e Aida Maria Sicca Lopes Sampaio, e meu irmão e grande amigo Gustavo Sicca Lopes Sampaio. Exemplos de dedicação, princípios, caráter, dignidade, a quem me orgulho e agradeço pela educação, compreensão, carinho, amizade e por me incentivarem a seguir em frente, independente das dificuldades a serem encontradas durante o caminho percorrido.

Ao meu eterno chefe e amigo Leandro Casagrande e sua bela família. Modelo de pessoa a ser seguida, honesta, justa, culta e bem sucedida. Seus ensinamentos foram um marco em minha trajetória. Sua participação foi *sine qua non* a construção deste trabalho.

À amiga Elaine Aparecida Bedeschi pelo apoio, conselhos e ensinamentos. Sua participação e busca constante pelo conhecimento permitiram o sucesso deste trabalho.

Ao amigo Thiago Félix da Silva e sua família pela amizade, apoio e ensinamentos.

Ao Sr. Henrique Molina Rocha, pela viabilização e dedicação em momentos de dificuldade durante a execução dos trabalhos.

Aos amigos e colegas de trabalho Silvana Konomi Amano, Tassiana Issa Paccini, Paulo Henrique Rodrigues Conrado, Glauzenir de Godoi Moreno e Edson Yoshio Kameya pela dedicação e entusiasmo na execução dos estudos.

Ao amigo, professor e orientador Robson Maia Franco pelo apoio, auxílio e ensinamentos.

Aos amigos e co-orientadores Ana Beatriz Monteiro Fonseca e Zander Barreto Miranda pelo auxílio, correções e lições.

Aos amigos Expedito Tadeu Facco Silveira, Karen Signori Pereira, Pedro Eduardo de Felício e Roberto de Oliveira Roça pelos auxílios, ensinamentos e conselhos.

A todos os professores da Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal da Universidade Federal Fluminense, por dedicarem seu tempo e sua sabedoria, para que a minha formação se tornasse um aprendizado de vida.

A todos os meus amigos, em especial a Bruna Leal Rodrigues, Daniel Lucas, Eduardo Bruno Nogueira, Hugo Oliveira, Letícia Fraga Matos Campos de Aquino, Marion Pereira da Costa e Pedro Henrique Panzenhagen, nossos caminhos se cruzaram em função de um ideal comum. Partilhamos cada descoberta, desafios e conquistas. Somamos entusiasmos, forças e alegrias. Os laços criados serão para toda a vida.

Por fim, e não menos importantes, visto que **ESSE ESTUDO FOI RESULTADO DE UM TRABALHO EM EQUIPE**, agradeço aos colaboradores do Serviço de Inspeção Federal (SIF):

Adão Marcos dos Santos, Ademir Ferreira dos Santos, Adriano da Silva Alencar, Adriano Soares da Silva, Claudemir Pereira de Almeida, Claudio Roberto Santana, Daniella Aparecida Viana Ferreira, Elixandro Neves de Souza, Irineu Gomes Carvalho, Iris Gomes Carvalho, Jandher Dias de Oliveira, Jefferson dos Santos Gomes, Jose Paulo Pereira, Márcia Aparecida da Silva, Marcio de Campos Souza, Marcos Antonio de Almeida, Mauro Sergio de Souza, Miguel do Nascimento, Oberdan Pedroso da Costa Nunes, Silvio Norberto Ribeiro, Tania Fernandes Alves da Silva, Ueliton de Oliveira, Valdir Pires de Paula e Valme da Silva Pereira;

Assim como, aos colaboradores da empresa:

Kelly Cristina Ribeiro da Silva, Gesivânia Pires dos Reis, Elias Camilo da Silva, Claudinéia da Silva.



Figura 01 – Parte da equipe envolvida nos estudos.

*“Unir-se é um bom começo, manter a união é um progresso, e trabalhar em conjunto é a vitória.”*

Henry Ford

*É muito melhor arriscar coisas grandiosas, alcançar triunfos e glórias, mesmo expondo-se a derrotas, do que formar fila com os pobres de espírito que nem gozam e nem sofrem, porque vivem na penumbra cinzenta que não conhece vitória nem derrota.*

Theodore Roosevelt

*O único lugar no mundo aonde sucesso vem antes do trabalho, é no dicionário.*

Albert Einstein

## BIOGRAFIA

Guilherme Sicca Lopes Sampaio, brasileiro, natural de Sinop, Mato Grosso. Nascido em 08 de junho de 1988, filho de Ivando Sampaio e Aida Maria Sicca Lopes Sampaio. Possui um irmão, Gustavo Sicca Lopes Sampaio, nascido em Sinop, Mato Grosso, em 1991. Com três anos foi morar em Guarantã do Norte, Mato Grosso. Em 2005, com dezessete anos, foi para Bauru, São Paulo, realizar cursos preparatórios para o vestibular.

Em 2006 foi aprovado em segundo lugar para Medicina Veterinária na Universidade Federal de Uberlândia. Bolsista FAPEMIG, desenvolveu projetos sobre Produção de embriões *in vitro* (PIV). No sétimo período, apresenta sua monografia intitulada “Influência da seleção por gradiente de Percoll e da capacitação espermática sobre a compactação da cromatina e a morfometria da cabeça de espermatozoides bovinos”. Ainda no sétimo período, mudou o foco e iniciou estágios nas áreas de Inspeção e Tecnologia de Produtos de Origem Animal. Efetuou estágios no Serviço de Inspeção Federal - SIF 3348 – Vale Grande Indústria e Comércio de Alimentos S.A., em Sinop, Mato Grosso; no SIF 3515 - BRF – Brasil Foods S.A., em Lucas do Rio Verde, Mato Grosso; e no SIF 1751 - Marfrig Alimentos S.A., em Tangará da Serra, Mato Grosso.

Graduado em Medicina Veterinária em agosto de 2011.

No final de 2011 foi aprovado em terceiro lugar na seleção para o Mestrado no Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal da Universidade Federal Fluminense, com início em março de 2012. Bolsista CNPq. Em 14 maio de 2013 defendeu dissertação de mestrado intitulada “Avaliação da perda de peso, da condição higiênico-sanitária e tecnológica de meias carcaças e quartos bovinos revestidos com polietileno durante o resfriamento” sob orientação do Prof. Dr. Robson Maia Franco, obtendo assim o do grau de mestre.

Em maio de 2013 foi aprovado na seleção para Doutorado em Medicina Veterinária na Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" – UNESP – Campus Botucatu, na área de Saúde Animal, Saúde Pública Veterinária e Segurança Alimentar, linha de pesquisa Ciência e Tecnologia dos Produtos de Origem Animal, sob orientação do Prof. Dr. Roberto de Oliveira Roça. Início em agosto de 2013.

Guilherme Sicca Lopes Sampaio

[guilhermeslampaio@yahoo.com.br](mailto:guilhermeslampaio@yahoo.com.br) / [guilhermesampaio@id.uff.br](mailto:guilhermesampaio@id.uff.br)

Endereço: Rua dos Mognos, 142 – Centro – CEP: 78520-000 – Guarantã do Norte – MT.

Telefones: (21) 8341-3441 / (66) 3552-4449

## RESUMO

Durante o processo de refrigeração ocorrem expressivas reduções no peso devido principalmente a desidratação superficial. Neste trabalho foi avaliada a condição higiênico-sanitária de meias carcaças bovinas revestidas com filme plástico durante as primeiras 24 horas de resfriamento (Maturação Sanitária). Também foi comparada a perda de peso de meias carcaças e quartos bovinos com e sem revestimento plástico com 24, 48, 72 e 96 horas de resfriamento. No primeiro estudo foram avaliadas 120 meias carcaças bovinas. Antes do resfriamento, foi realizada a mensuração do pH, da Aa, da temperatura e a realização da coleta individual por esponja das regiões anatômicas do coxão, peito e pescoço (400cm<sup>2</sup> de cada) nas 120 meias carcaças quentes. As meias carcaças esquerdas foram revestidas com filme plástico de polietileno e as direitas foram os controles. Após 24 horas de resfriamento a temperatura média de 3,6°C ( $\geq 2^\circ\text{C}$ ) e fluxo de ar médio de 1,3m/s, os filmes plásticos foram retirados e todas as análises foram novamente executadas nas 120 meias carcaças resfriadas. Todas as amostras coletadas por esponja foram avaliadas para ocorrências e contagens de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (BHAM), *Staphylococcus aureus*, Enterobactérias e *Escherichia coli* através de metodologias 3M Petrifilm<sup>TM</sup> aprovadas AOAC. Durante o resfriamento 10 “Data Logges” de temperatura foram instalados em 10 meias carcaças correspondentes (revestidas e controles) para monitorar a redução da temperatura. No segundo estudo 84 meias carcaças foram pesadas antes do resfriamento e dessas, 30 meias carcaças esquerdas foram revestidas com filme plástico de polietileno. Todas foram resfriadas a temperatura  $\geq 2^\circ\text{C}$  e fluxo de ar de 1,3m/s durante as primeiras 24 horas. O revestimento foi retirado e todas as meias carcaças foram serradas em quartos no setor do tendal. Os dianteiros e traseiros especiais das 24 meias carcaças correspondentes não tratadas foram revestidas respectivamente com embalagens e filmes plásticos. Todos os quartos foram pesados após 24, 48 e 72 horas de resfriamento em câmara com temperatura média de 1,5°C e velocidade do ar de 0,6m/s. Em ambas as câmaras temperatura e velocidade do ar da câmara foram monitoradas durante todo o resfriamento. A região do peito foi o ponto com maiores ocorrências e contagens de BHAM, *S. aureus*, Enterobactérias e *E. coli* em todas as condições avaliadas. Foi constatado o efeito injuriante/lesivo do resfriamento sobre as populações de BHAM e *S. aureus*, contudo, não surtiu efeito sobre Enterobactérias e *E. coli*. As meias carcaças revestidas com polietileno permaneceram mais tempo em temperatura favorável ao crescimento, acima de 7°C, sendo que a temperatura das meias carcaças revestidas após 24 horas de resfriamento foi 1°C mais elevada que nas meias carcaças controles. Nas meias carcaças revestidas houve aumento nas ocorrências de Enterobactérias e manutenção das populações de BHAM, *S. aureus* e *E. coli*. Entretanto, as diferenças entre os tratamentos foram inferiores a uma unidade de log e a condição higiênico-sanitária de todas as meias carcaças avaliadas foram consideradas satisfatórias conforme as exigências normativas do Brasil, União Europeia, EUA e Austrália. Com relação às perdas de peso, houve redução em todos os tempos investigados com o uso do revestimento com polietileno. Nas meias carcaças, 2,23% para 1,0% com 24 horas, e de 3,20% para 2,23% após 96 horas de resfriamento. Nos dianteiros e traseiros especiais, respectivamente, 1,22% para 0,04%, e de 0,95 para 0,34% após 72 horas de armazenamento dos quartos. Em síntese, pôde-se concluir que o revestimento plástico, nas condições e variáveis estabelecidas para este estudo, mostrou-se uma boa ferramenta para a redução da perda de peso durante o resfriamento de meias carcaças e quartos bovinos. Algumas alterações bacterianas e térmicas desfavoráveis aconteceram, entretanto, ocorre a manutenção da condição higiênico-sanitária das meias carcaças avaliadas.

Palavras-chave: meia carcaça bovina, resfriamento, revestimento plástico, perda de peso, qualidade higiênico-sanitária.

## SUMÁRIO

**AGRADECIMENTOS**, f.5

**BIOGRAFIA**, f.8

**RESUMO**, f.9

**LISTA DE ILUSTRAÇÕES**, f.12

**LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS**, f.15

**1 INTRODUÇÃO**, f.16

**2 OBJETIVOS**, f.19

2.1 OBJETIVO GERAL, f.19

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS, f.19

**3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**, f.21

3.1 BOVINOCULTURA NACIONAL, f.21

3.2 RESFRIAMENTO, f.23

3.2.1 Comportamento bacteriano frente às injúrias pelo frio, f.26

3.2.2 Perdas de peso das carcaças durante o resfriamento, f.27

3.3 QUALIDADE HIGIÊNICO-SANITÁRIA DE CARCAÇAS BOVINAS, f.32

3.3.1 Fluxograma do abate, f.33

3.3.2 Microrganismos indicadores, f.36

3.3.3 Análises microbiológicas em carcaça bovina, f.42

3.3.4 Controle higiênico-sanitário de carcaças bovinas, f.47

**4 MATERIAL E MÉTODOS**, f.52

4.1 CONDIÇÕES AMBIENTAIS E EXPERIMENTAIS, f.52

4.2 PRIMEIRA ETAPA DO ESTUDO, f.52

4.2.1 Material necessário, f.52

4.2.2 Verificação e calibração dos equipamentos necessários, f.53

4.2.3 Ante morte e abate dos animais selecionados, f.54

4.2.4 Pontos de coleta e mensuração, f.55

4.2.5 Coletas e mensurações, f.56

4.2.6 Controle da temperatura durante o resfriamento, f.63

4.2.7 Resfriamento (Maturação Sanitária), f.64

4.2.8 Retirada do revestimento plástico, f.65

4.2.9 Análises laboratoriais, f.66

4.2.10 Compêndio esquemático do primeiro estudo, f.78

4.3 SEGUNDA ETAPA DO ESTUDO, f.79

4.3.1 Padronização da metodologia, f.79

4.3.2 Material necessário, f.79

4.3.3 Verificação e calibração dos equipamentos necessários, f.80

4.3.4 Animais selecionados, f.80

4.3.5 Revestimento das meias carcaças quentes, f.81

4.3.6 Quarteio, f.81

4.3.7 **Mensuração da velocidade do ar, temperatura e umidade**, f.84

4.3.8 **Pesagem dos quartos**, f.85

4.3.9 **Perdas de peso das meias carcaças**, f.86

4.3.10 **Perdas de peso dos dianteiros e dos traseiros especiais**, f.87

4.3.11 **Compêndio esquemático do segundo estudo**, f.88

4.3 **PROCEDIMENTO ESTATÍSTICO**, f.89

5 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**, f.90

5.1 **PRIMEIRA ETAPA DO ESTUDO**, f.90

5.1.1 **Análises bacterianas como ferramenta para verificação da qualidade operacional do abate**, f.90

5.1.2 **Influências do resfriamento sobre parâmetros físico-químicos e bacterianos de meias carcaças bovinas**, f.93

5.1.3 **Influências do revestimento plástico de meias carcaças bovinas durante o resfriamento sobre parâmetros físico-químicos e bacterianos**, f.96

5.1.4 **Condição higiênico-sanitária de meias carcaças revestidas resfriadas**, f.101

5.2 **SEGUNDA ETAPA DO ESTUDO**, f.103

5.2.1 **Avaliação da perda de peso de meias carcaças e quartos bovinos revestidos durante o resfriamento**, f.103

6 **CONCLUSÕES**, f.107

7 **CONSIDERAÇÕES**, f.108

8 **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**, f.109

9 **APÊNDICES**, f.131

9.1 **PRIMEIRA ETAPA DO ESTUDO**, f.131

9.1.1 **Maturação Sanitária**, f.131

9.1.2 **Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (BHAM)**, f.132

9.1.3 *Staphylococcus aureus*, f.134

9.1.4 **Enterobactérias**, f.136

9.1.5 *Escherichia coli*, f.138

9.1.6 **Estudos das associações**, f.140

9.1.7 **Controle das possíveis variáveis do experimento**, f.142

9.2 **SEGUNDA ETAPA DO ESTUDO**, f.143

9.2.1 **Maturação Sanitária**, f.143

9.2.2 **Resfriamento (estocagem) dos quartos bovinos**, f.144

9.2.3 **Perdas de peso das meias carcaças**, f.149

9.2.4 **Perdas de peso dos dianteiros**, f.150

9.2.5 **Perdas de peso dos traseiros especiais**, f.152

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 01 Equipe envolvida nos estudos, f.6
- Figura 02 Fluxograma de abate com os principais pontos de contaminação e os momentos de coleta, f.37
- Quadro 01 Avaliação dos métodos de suabe e excisão, f.44
- Figura 03 Bovinos: Exemplos de locais de amostragem conforme ISO 17604:2003, f.45
- Figura 04 Rolo de polietileno de baixa densidade usado para revestimento das meias carcaças, f.53
- Figura 05 70 animais selecionados divididos em dois currais (A) e (B), f.54
- Figura 06 Pontos de coleta em cada meia carcaça, f.55
- Figura 07 Identificação das esponjas, f.56
- Figura 08 (A) Suabe das bordas do rolo. (B) Suabe do início do rolo, f.56
- Figura 09 (A) Equipamentos para coleta prévia. (B) Suabe de mãos. (C) Suabe de mangote. (D) Suabe de avental, f.57
- Figura 10 (A) Equipe de mensuração do pH e temperatura. (B) Mensuração da temperatura no forame obturador, f.58
- Figura 11 (A) Mensuração do pH no *M. Longissimus dorsi*. (B) Valor de pH após estabilização de 30 segundos, f.58
- Figura 12 Esquema de marcação da carcaça com o lápis cópia e molde, f.59
- Figura 13 (A) Equipe de delineamento do molde e excisão. (B) Delineamento da área (400cm<sup>2</sup>) de coleta no peito, f.59
- Figura 14 Delineamento da área (400cm<sup>2</sup>) de coleta no coxão (A) e no pescoço (B), f.60
- Figura 15 (A) Demarcação do local de coleta. (B) Excisão. (C) Identificação. (D) Meia carcaça coletada, f.60
- Figura 16 (A) Luva estéril. Esfregaço com esponja estéril umidificada na região do coxão (B), f.61
- Figura 17 Esfregaço com esponja estéril umidificada na região do peito (A) e pescoço (B). (C) Amostra em caixa isotérmica, f.62
- Figura 18 (A) Rolo de película plástica. (B) Adição da película plástica, f.63
- Figura 19 “Data logger” instalado (A) e (B), f.63
- Figura 20 Disposição dos “Data Loggers” (DL) nas meias carcaças dentro da Câmara

- de Resfriamento, f.64
- Figura 21 (A) e (B) Meias carcaças tratamento e controle dentro da câmara, f.64
- Figura 22 Meias carcaças tratamento e controle dentro da câmara, f.65
- Figura 23 Retirada da película plástica (A e B). Comparação entre meias carcaças controle e tratamento após a retirada da película plástica (C, D e E), f.66
- Figura 24 (A) Umidificação das esponjas com 10 ml de APT previamente aos esfregaços. (B) Recebimento de amostras no laboratório para controle interno, f.67
- Figura 25 (A) Trituração da amostra. (B) Preenchimento de recipiente para análise com 5 g da amostra, f.68
- Figura 26 (A) Posicionamento da amostra no aparelho. (B) Conclusão da análise com demonstração do resultado, f.68
- Figura 27 Adição do SSPT, f.70
- Figura 28 (A) Placas novas identificadas. (B) Homogeneização manual da amostra, f.71
- Figura 29 (A) Inoculação de 01 ml a placa. (B) Uso do dispersor acrílico. (C) Placas prontas para incubação, f.71
- Figura 30 (A) Pilhas de no máximo 20 placas na estufa. (B) Estufa de incubação, f.72
- Figura 31 Termômetro de máximo e mínimo, f.72
- Figura 32 Interpretação e contagem, f.73
- Figura 33 Todas as placas de uma amostra (protocolo 2673). (A) AC. (B) EB. (C) EC. (D) STX, f.74
- Figura 34 Colônia EB, f.75
- Figura 35 (A) e (B) Placas com colônias EC, f.76
- Figura 36 (A) Colônias de STX. (B) Colônias STX com *Disco Petrifilm<sup>TM</sup> Staph*, f.77
- Figura 37 Desenho experimental da primeira etapa, f.78
- Figura 38 Resíduos da serragem, f.82
- Figura 39 Dianteiros (DN-R) resfriados revestidos com saco, f.83
- Figura 40 Traseiros especiais (TR-R) resfriados revestidos com filme plástico, f.83
- Figura 41 Câmara de resfriamento (Maturação), f.84
- Figura 42 Câmara de resfriamento (Estocagem), f.84
- Figura 43 Esquema de cálculo das perdas de peso das meias carcaças, f.86

- Figura 44 Esquema de cálculo das perdas de peso dos dianteiros, f.87
- Figura 45 Desenho experimental do segundo estudo, f.88
- Figura 46 Esquemas associações – físico-químico, f.140
- Figura 47 Esquemas das associações – pontos e bactérias, f.141
- Figura 48 Esquemas das associações – peito, f.141
- Figura 49 Velocidade do vento média por ponto investigado, direção do vento, média geral e média por tempo de resfriamento da Câmara 01 durante as 24 horas de Maturação Sanitária das meias carcaças do experimento. Posicionamento das meias carcaças do experimento (linha vermelha em negrito), f. 144
- Figura 50 Velocidade do ar média por ponto investigado, direção do ar e média geral da Câmara 01 durante as 72 horas de estocagem dos quartos do experimento na Câmara Pulmão (equalização), f.148
- Figura 51 Esquema comparativo entre as perdas de peso das meias carcaças controle versus perdas de peso das meias carcaças revestidas, f.149
- Figura 52 Esquema comparativo entre as perdas de peso dos dianteiros. Dianteiro (meia carcaça controle) versus dianteiro (meia carcaça revestida) versus dianteiro revestido, f.151
- Figura 53 (A e B) Líquido (provavelmente exsudato) e resíduos no fundo dos sacos plásticos que revestiram os dianteiros durante a equalização/estocagem, f.151
- Figura 54 Esquema comparativo entre as perdas de peso dos traseiros especiais. Traseiro especial (meia carcaça controle) versus traseiro especial (meia carcaça revestida) versus traseiro especial revestido, f.153

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

Aa	Atividade de água	SIF	Serviço de Inspeção Federal
ABIEC	Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne	SSPT	Solução Salina Peptonada 0,1% Tamponada Estéril
APPCC	Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle	UFC	Uniformidade Formadora de Colônia
AQIS	Serviço de Inspeção e Quarentena Australiano	USDA	Departamento de Agricultura dos Estados Unidos
AUS	Austrália	@	Arroba (equivale a 15kg)
BHAM	Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas	AC	Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas
BPF	Boas Práticas de Fabricação	EB	Enterobactérias
CGPE	Coordenação Geral de Programas Especiais	EC	<i>Escherichia coli</i>
DIF	Departamento de Inspeção Final	STX	<i>Staphylococcus aureus</i>
DIPOA	Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal	MC	Meia carcaça
FAO	Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura	CX	Região do coxão
FSIS	Serviço de Inspeção e Segurança Alimentar do USDA	PT	Região do peito
HACCP	Sigla em inglês para APPCC	PC	Região do pescoço
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento	DN1	Dianteiro da meia carcaça controle
OIE	Organização Mundial de Saúde Animal	DN2	Dianteiro da meia carcaça revestida
PACAC	Programa de Controle de Aspersão de Carcaças	DN-R	Dianteiro revestido
PCC	Ponto Crítico de Controle	PA1	Ponta de agulha da meia carcaça controle
pH	Potencial Hidrogeniônico	PA2	Ponta de agulha da meia carcaça revestida
POP	Procedimento Operacional Padrão	TR1	Traseiro especial da meia carcaça controle
PPHO	Procedimento Padrão de Higiene Operacional	TR2	Traseiro especial da meia carcaça revestida
PSO	Procedimento Sanitário Operacional	TR-R	Traseiro especial revestido
PVC	Policloreto de Vinila	T°C	Temperatura

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui maior rebanho comercial bovino do mundo, com 213 milhões de cabeças, 97% criados a pasto (MAPA, 2012a). A grande variedade de sistemas produtivos em um território tão vasto também reflete na diversificação dos produtos. O Brasil hoje pode atender qualquer mercado no mundo, sejam nichos específicos, com carnes mais nobres (carne gourmet ou culinária) até cortes de menor valor (carne ingrediente), sejam mais magras ou com maior teor de gordura, sob qualquer demanda de volume.

Segundo projeções do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), até 2020, a expectativa é que a produção nacional de carnes suprirá 44,5% do mercado mundial (MAPA, 2012c). O crescimento nas exportações de carne bovina no Brasil reflete maiores investimentos nos setores de sanidade, produção animal, melhoramento genético e manejo nutricional. Atendendo às exigências de mercado internacional, o país investiu em programa de rastreabilidade, visando maior controle e segurança da cadeia produtiva de carnes. Além disso, o país conta com grandes indústrias habilitadas para a exportação com abates em excelentes condições higiênico-sanitárias.

A inocuidade dos alimentos como medida de proteção de saúde coletiva e promoção de desenvolvimento econômico continua sendo um importante desafio, tanto nos países desenvolvidos quanto nos que estão em desenvolvimento. Em muitos países foram alcançados progressos consideráveis no fortalecimento dos sistemas de inocuidade de alimentos, o que coloca em evidencia as oportunidades de redução e prevenção das enfermidades veiculadas por estes. No entanto, continuam a existir taxas inaceitáveis desse tipo de enfermidade e novos perigos estão sendo introduzidos na cadeia produtiva de alimentos (FAO, 2007).

Para atender as exigências do mercado internacional as indústrias frigoríficas foram obrigadas a aprimorar e controlar o processo produtivo. A utilização de novas tecnologias e a implantação de ferramentas de controle de processo, tais como: os programas de Boas Práticas de Fabricação (BPF); Procedimento Padrão de Higiene Operacional (PPHO); Procedimento Sanitário das Operações (PSO) e o programa de Análise de Perigo e Ponto Crítico de Controle (APPCC) foram essenciais para o atendimento destas exigências. As ferramentas utilizadas são empregadas no Programa de Autocontrole, sendo contempladas nas Circulares 175 e 176/2005/CGPE/DIPOA (BRASIL, 2005a; 2005b).

A carne é um alimento perecível e a validade comercial sempre foi uma preocupação. A refrigeração é o método mais comum de estender a validade comercial de carnes de

animais. A extensão do tempo de estocagem é desejável porque facilita a distribuição da carne e muitos consumidores pagam mais pela manutenção do aspecto fresco.

Durante o processo de resfriamento de carcaças bovinas ocorre uma natural perda de peso provocada por exsudação e desidratação superficial. Usando o sistema tradicional de resfriamento de carcaças bovinas, a temperatura no interior da musculatura pode atingir valores inferiores a 7°C, em 24 horas de resfriamento, com uma perda de peso por evaporação na ordem de 2%. Condições que devem ser mantidas para minimizar esse efeito incluem a manutenção de baixas temperaturas, circulação de ar mínima e elevada umidade relativa (SAVELL et al., 2005).

A perda de peso durante o resfriamento de meias carcaças bovinas gera consideráveis perdas econômicas às indústrias, e procedimentos ou técnicas que possam minimizar essas perdas são muito procurados, uma vez que o montante de capital movimentado por indústrias de abate e processamento de carnes bovinas é bastante elevado e as margens de lucro são estreitas.

Com a finalidade de reduzir a perda de peso de carcaças bovinas durante o resfriamento, o sistema de aspersão de carcaças, conhecido também como “*spray-chilling*”, tem sido usado nos Estados Unidos e Canadá desde 1987 (JONES; ROBERTSON, 1988). A legislação da União Européia proíbe o uso do sistema de aspersão de carcaças bovinas (BRASIL, 2003). No Brasil, através da Resolução nº 02, foram determinados os critérios para a utilização do sistema de aspersão aplicado no processo de resfriamento de meias-carcaças bovinas (BRASIL, 2011).

A discussão sobre o uso da aspersão de carcaças no Brasil tem mais de uma década, a grande possibilidade da fraude por adição de água e a dificuldade de implantação de um sistema de fiscalização inviabilizam o uso da técnica. Como também, as restrições ao uso da técnica pelos principais mercados importadores da carne brasileira.

Os cuidados higiênico-sanitários durante abate, processamento e demais etapas de industrialização são fundamentais para a segurança microbiológica do produto. Segundo Labadie (1999), o crescimento de microrganismos nas carnes durante a estocagem resulta do tipo de contaminação introduzida durante o processamento e da influência de fatores físico-químicos aplicados durante a estocagem. O processamento influencia não só a quantidade de microrganismos por unidade de área, mas também os tipos de microrganismos presentes.

As fontes de contaminação da carcaça dependem do nível tecnológico das operações e do processo de higiene do matadouro frigorífico. Assim, para garantir a segurança do produto final, cada estabelecimento deve assegurar um processo de higiene adequado, baseando-se no

sistema APPCC, com verificação da sua efetividade através de testes microbiológicos em carcaças, que geralmente são feitos determinando-se a contagem dos microrganismos indicadores gerais de higiene e a contaminação fecal nas carcaças estão dentro dos limites aceitáveis (ANTONANGELO, 2012).

Considerando os aspectos relativos às perdas de peso de resfriamento, alinhado aos aspectos microbiológicos, faz-se necessário o estudo sobre a validação de outras técnicas que possam reduzir a perda de peso no resfriamento para que as indústrias possam aumentar seus rendimentos e possivelmente diminuir o custo do produto final na mesa do consumidor, mantendo ainda boas margens de lucro. Mas, é de fundamental importância que essa técnica não aumente os riscos de veiculação de agentes causadores de enfermidades alimentares, mantendo assim, a condição de alimento seguro para o consumo.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Objetivou-se avaliar a perda de peso e a condição higiênico-sanitária de meias carcaças e quartos bovinos com revestimento plástico durante o resfriamento.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

#### ESTUDO 01:

- Avaliar a utilidade das análises bacteriológicas em carcaça quente como ferramenta de verificação da qualidade operacional do abate. Comparando contagens e ocorrências de BHAM, *S. aureus*, Enterobactérias e *E. coli* entre:
  - Meias carcaças quentes direitas e esquerdas referentes às respectivas carcaças;
  - Pontos de coleta na região anatômica do coxão, peito e pescoço da mesma meia carcaça, inclusive, determinando a média entre as três regiões para estabelecer a meia carcaça.
- Verificar efeito injuriante/lesivo do resfriamento sobre as respectivas populações bacterianas avaliadas e constatar o efeito desidratante (redução da atividade de água) do resfriamento sobre a superfície de meias carcaças bovinas. Para isso:
  - Estabelecer a influência do resfriamento (Maturação Sanitária) sobre os parâmetros físico-químicos (pH, temperatura superficial e profunda, e atividade de água superficial) e bacterianos (contagens e ocorrências de BHAM, *S. aureus*, Enterobactérias e *E. coli* entre coxão, peito, pescoço e média das meias carcaças).
- Determinar a influência do revestimento plástico de meias carcaças bovinas concomitante as primeiras 24 horas de resfriamento (Maturação Sanitária) sobre os parâmetros físico-químicos (pH, temperatura superficial e profunda, e atividade de água superficial) e bacterianos (contagens e ocorrências de BHAM, *S. aureus*, Enterobactérias e *E. coli* entre as regiões coxão, peito, pescoço e média das meias carcaças), com objetivo de:
  - Verificar a influência negativa do revestimento plástico sobre a redução da temperatura das meias carcaças;

- Determinar o efeito do revestimento plástico sobre a atividade de água da superfície das meias carcaças;
  - Avaliar a influência do revestimento plástico sobre as ocorrências e contagens bacterianas, e a manutenção da condição higiênico-sanitária.
- Verificar existência de associação entre e dentro de cada parâmetro físico-químico e bacteriano avaliado.
  - Determinar se as condições bacteriológicas do filme plástico, como também, das luvas de borracha, mangotes e aventais dos funcionários, luvas estéreis e a própria esponja sem uso podem ter influenciado nos resultados.

#### ESTUDO 02:

- Avaliar diferenças nas perdas de peso com 24, 48, 72 e 96 horas de resfriamento entre meias carcaças bovinas resfriadas convencionalmente e meias carcaças bovinas revestidas com filme plástico apenas durante as primeiras 24 horas com posterior resfriamento em comum.
- Verificar diferenças entre as perdas de peso com 24, 48 e 72 horas de resfriamento (estocagem) de: dianteiros obtidos de meias carcaças após 24 horas de resfriamento (Maturação Sanitária); dianteiros obtidos de meias carcaças com revestimento plástico durante 24 horas de resfriamento (Maturação Sanitária); e, de dianteiros com revestimento plástico obtidos de meias carcaças após 24 horas de resfriamento (Maturação Sanitária).
- Identificar diferenças entre as perdas de peso com 24, 48 e 72 horas de resfriamento (estocagem) de: traseiros especiais obtidos de meias carcaças após 24 horas de resfriamento (Maturação Sanitária); traseiros especiais obtidos de meias carcaças com revestimento plástico durante 24 horas de resfriamento (Maturação Sanitária); e, de traseiros especiais com revestimento plástico obtidos de meias carcaças após 24 horas de resfriamento (Maturação Sanitária).

### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 BOVINOCULTURA NACIONAL

A bovinocultura é um dos principais destaques do agronegócio brasileiro no cenário mundial, gera faturamento de mais de 50 bilhões de reais por ano e oferece cerca de, 7,5 milhões de empregos (LAZIA, 2011). O Brasil possui o segundo maior rebanho efetivo do mundo, com mais de 200 milhões de cabeças. Além disso, desde 2004, assumiu a liderança nas exportações, com um quinto da carne comercializada internacionalmente e vendas em mais de 180 países (MAPA, 2012a).

Rodrigues (2011), citando relatório da FAO, afirma que a demanda por alimentos no mundo crescerá 20%, pela combinação da expansão populacional e da renda *per capita* nos países emergentes, em que 85% do crescimento da população mundial ocorrerem neles. E acrescenta que os aumentos de produção, para atender essa demanda ocorrerão nos países membros da União Europeia (4%); na América do Norte (até 15%); Rússia, China, Índia e Ucrânia (25%). Já o agronegócio do Brasil vai expandir a sua produção nos próximos 10 anos em nada menos do que 40%.

Em 2010, a produção brasileira de carnes (bovina, suína e de aves) foi estimada em 24,5 milhões de toneladas, destas, 75% foram consumidas internamente no país (MAPA, 2012b).

O consumo *per capita* de carnes aumentou em relação à 2010/11 chegando a 37,4 kg para carne bovina; 43,9 kg de carne de aves e 14,1 kg de carne suína, refletindo o bom desempenho da economia brasileira (MAPA, 2012b).

O clima tropical e a extensão territorial do Brasil contribuem para a criação da maioria do gado em pastagens. Além disso, o investimento em tecnologia e capacitação profissional; o desenvolvimento de políticas públicas, que permitem que o animal seja rastreado do seu nascimento até o abate; o controle da sanidade animal e segurança alimentar contribuíram para que o País atendesse às exigências dos mercados rigorosos e conquistasse espaço no cenário mundial (MAPA 2012a).

Segundo o Ministério da Agricultura, até 2020, a expectativa é que a produção nacional de carnes suprirá 44,5% do mercado mundial (MAPA, 2012c).

As exportações de carnes têm sido destinadas a vários países. Em 2011 a carne bovina foi destinada a 135 mercados, sendo o principal a Rússia; a carne de frango foi destinada a 145 países, sendo Japão o principal comprador e, finalmente a carne suína teve 74 países de

destino, tendo como principal a Rússia. De um modo geral, os principais importadores no ano de 2011 foram Rússia com 228.772, seguido do Irã com 130.475, Egito com 96.937 e Hong Kong com 73.851 toneladas. A expectativa é que esses mercados se consolidem de forma crescente para que sejam factíveis as projeções realizadas (ABIEC, 2011; MAPA, 2012d).

O crescimento nas exportações de carne bovina no Brasil reflete maiores investimentos nos setores de sanidade, produção animal, melhoramento genético e manejo nutricional. Atendendo às exigências de mercado internacional, o país investiu em programa de rastreabilidade, visando maior controle e segurança da cadeia produtiva de carnes. Além disso, o país conta com grandes indústrias, que permitem abates em excelentes condições higiênico-sanitárias, habilitadas internacionalmente para exportação (PRADO, 2005).

Segundo Brandão (2011) esse “status” foi atingido graças ao perfil da pecuária de corte nacional e desenvolvimento de relações comerciais com antigos e novos parceiros importadores de carne bovina. A pecuária de corte no Brasil vem gerando lucros significativos todos os anos, além de empregos nos diversos setores envolvidos na cadeia de produção. A manutenção do comércio externo, entretanto está diretamente ligada a exigências de qualidade e inocuidade, cada vez mais restritas e específicas de acordo com os países importadores.

A nova legislação que prevê a fiscalização da qualidade do produto e os esforços empreendidos pelo País para erradicar doenças contribuem para o aumento da produção. Em 2008, por exemplo, aproximadamente 59 % do território nacional foram considerados pela Organização Internacional de Epizootias (OIE), livres da febre aftosa. Além disso, os estados da região sul possuem a menor prevalência de brucelose e tuberculose animal. Segundo dados dos Serviços Veterinários Oficiais de 2011, a população de bovinos em áreas livres é de 189 milhões de cabeça, de um total de 213 milhões (MAPA, 2012b).

O Brasil é classificado pelo Comitê Veterinário da União Europeia como área de risco dois, ou seja, “improvável, mas não desprezível” para Encefalopatia Espongiforme Bovina (EEB), o “mal da vaca louca”, doença que afetou rebanhos inteiros na Europa e atingiu o continente norte-americano (OIE, 2012).

A inocuidade dos alimentos como medida de proteção de saúde coletiva e promoção de desenvolvimento econômico continua sendo um importante desafio tanto nos países desenvolvidos quanto nos que estão em desenvolvimento. Em muitos países foram alcançados progressos consideráveis no fortalecimento dos sistemas de inocuidade de alimentos, o que coloca em evidencia as oportunidades de redução e prevenção das enfermidades veiculadas

por estes. No entanto continuam havendo taxas inaceitáveis desse tipo de enfermidade e novos perigos estão sendo introduzidos na cadeia produtiva de alimentos (FAO, 2007).

Para atender às exigências do mercado internacional as indústrias frigoríficas foram obrigadas a aprimorar e controlar o processo produtivo. A utilização de novas tecnologias e a implantação de ferramentas de controle de processo, tais como: os programas de Boas Práticas de Fabricação (BPF); Procedimento Padrão de Higiene Operacional (PPHO); Procedimento Sanitário das Operações (PSO) e o programa de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) foram essenciais para o atendimento destas exigências. Tais programas são conhecidos como programas de autocontrole e atualmente estão contemplados nas Circulares 175 e 176/2005/CGPE/DIPOA (BRASIL, 2005a; 2005b).

O Departamento Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA) buscando a equivalência de procedimentos, de forma a atender simultaneamente os principais mercados consumidores internacionais e evitar a execução de um número elevado de testes microbiológicos, aumentando desnecessariamente o custo de produção, determinou um programa único e abrangente utilizando como indicadores microbiológicos das condições higiênicas sanitárias do processo de abate de bovinos os resultados dos testes microbiológicos de *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (BHAM) nos estabelecimentos habilitados para exportação para os EUA, Canadá e/ou União Europeia (BRASIL, 2006a).

### 3.2 RESFRIAMENTO

Civilizações antigas conheciam os efeitos da conservação de produtos perecíveis pelo frio. Produtos eram armazenados em cavernas naturais onde as temperaturas eram relativamente baixas durante todo o ano. Já os princípios da formação do gelo artificial e da refrigeração mecânica datam de 1750, mas somente nos últimos 100 anos passou a ser utilizada em escala comercial (LAWRIE; LEDWARD, 2006).

A carne é um alimento perecível e a validade comercial sempre foi uma preocupação. A refrigeração é o método mais comum de estender a validade comercial de carnes de animais, para a higiene da carne, a segurança, a validade comercial, a aparência e a qualidade sensorial (MEDEL; SIERRA, 2001; SAVELL et al., 2005). A extensão do tempo de estocagem é desejável porque facilita a distribuição da carne (SCHOLDT et al., 1992), e muitos consumidores pagam mais pela manutenção do aspecto fresco (BAILEY et al., 1997). A temperatura de resfriamento tem um significativo efeito sobre a preservação da carne.

Incrementos na temperatura de estocagem de  $-1,5^{\circ}\text{C}$  para  $-1,0^{\circ}\text{C}$  e de  $-1,5^{\circ}\text{C}$  para  $2^{\circ}\text{C}$  resultam em reduções no tempo de estocagem em 10% e 50% respectivamente (BAILEY et al., 1997). O princípio básico dá-se pela redução da temperatura, inibindo o desenvolvimento de microrganismos patogênicos e deteriorantes, e retardando atividades enzimáticas que contribuem para alterações físicas e sensoriais, promovendo assim o prolongamento da validade comercial do produto (STEVENSON et al., 1978).

A Refrigeração por ventilação forçada reduz a temperatura da superfície da carcaça e melhora a secagem da carcaça; ambos reduzindo o crescimento de bactérias. Aumento na velocidade do ar e/ou diminuição da temperatura reduzem o tempo de arrefecimento. O fator limitante, no entanto, é a dificuldade em remover o calor rapidamente a partir de tecidos mais profundos das carcaças (OCKERMAN; BASU, 2004).

Existem muitas variáveis que influenciam na taxa de resfriamento, incluindo: tamanho, forma e gordura da carcaça, a temperatura, umidade relativa e o padrão de fluxo do ar (SMULDERS et al., 1992).

Durante o resfriamento a umidade relativa da superfície e o fluxo de ar alteram significativamente a atividade de água da superfície da carne por influenciar diretamente nas taxas de evaporação e secagem da água da superfície (AUS, 2007; DAUDIN, 1986; LEBERT et al., 2005). A umidade relativa determina as taxas de evaporação durante o resfriamento de carcaças, que por sua vez controla a atividade de água da superfície (AUS, 2007; DAUDIN, 1986).

A atividade de água tem significativo efeito sobre o crescimento microbiano. Por exemplo, o crescimento de bactérias Gram-negativas é inibido abaixo de 0,95-0,96 (AUS, 2007; ROSSET, 1982). Valores de  $A_a$  muito mais baixos podem ocorrer durante a refrigeração comercial da carne. Daudin (1986) observou que a uma baixa umidade relativa (83 -88%) e uma baixa velocidade do ar (0,2 m / s), a  $A_a$  inicial (1 a 4 minutos) da superfície da carne bovina pode ser tão baixa quanto 0,6-0,7.

Estudos subsequentes (DAUDIN; SWAIN, 1990) estabeleceram que a baixa umidade relativa (61-70%) e temperaturas entre os  $6^{\circ}\text{C}$  e  $10^{\circ}\text{C}$ , as reduções da  $A_a$  na superfície da carne foram controladas pela taxa de secagem inicial. Por sua vez, a taxa de secagem é significativamente ditada pela velocidade do fluxo de ar através da superfície da carcaça, em vez da temperatura do resfriador ou umidade relativa da câmara. Quanto mais rápido o fluxo de ar, menores são os valores iniciais da  $A_a$  da superfície cárnea (LOVETT et al., 1978).

Vários estudos tem demonstrado a redução das contagens de BHAM e Enterobactérias em ovinos (BISS; HATHAWAY, 1995; GILL; JONES, 1997), bovinos (MCEVOY et al.,

2004) e carcaças de suínos (LENAHAN et al., 2009) como resultado da refrigeração. O processo de refrigeração pode prejudicar as células bacterianas como resultado da baixa atividade de água na superfície da carcaça e da temperatura baixa (CROWLEY et al., 2010).

Durante os primeiros quatro minutos do resfriamento a temperatura da carcaça é elevada ( $< 30^{\circ}\text{C}$ ) e os efeitos da baixa Aa em relação à lesão de células e sua morte são consideradas máximas (CLAVERO; BEUCHAT, 1996; SHADBOLT et al., 1999). No entanto, Crowley et al. (2010) comparando dados de carcaças quentes e frias sugerem que a Aa não é o fator determinante para o crescimento/sobrevivência das células, mas sim a temperatura seria o fator mais significativo.

Kinsella et al. (2006) identificaram redução, na maioria dos casos acima de 1,0 log, de BHAM, coliformes totais e enterobactérias após o resfriamento convencional. Também verificaram redução da atividade de água da superfície após o resfriamento. Para eles a lesão celular encontrada foi resultado da baixa temperatura e baixa Aa. As baixas temperaturas causam um choque térmico, enquanto a Aa, choque osmótico.

Seguindo as instruções da Comissão Europeia 471 de 2001 (UE, 2001), Kinsella et al. (2006) encontraram para Aeróbios Mesófilos  $1,70 \log \text{ UFC/cm}^2$  na região do coxão,  $2,83 \log \text{ UFC/cm}^2$  no peito e  $2,97 \log \text{ UFC/cm}^2$  no pescoço. E, logo após o resfriamento por 24 horas, as contagens reduziram de forma significativa respectivamente para  $1,19 \log \text{ UFC/cm}^2$ ,  $1,15 \log \text{ UFC/cm}^2$  e  $2,52 \log \text{ UFC/cm}^2$ .

Youssef et al., (2013) verificaram redução superior a uma unidade log para BHAM após resfriamento por 3 dias. Para coliformes e *E. coli* a redução foi superior a duas unidades de log. Eles associaram essa diferença a maior sensibilidade das Gram Negativas ao arrefecimento e secagem em relação as Gram Positivas (STOPFORTH; SOFÁS, 2005). Resultados semelhantes foram encontrados em carcaças de bovinos inoculados avaliando o resfriamento (CROWLEY et al., 2009).

Okraszka-Lasica et al. (2012) encontraram maiores reduções de enterobactérias e coliformes totais na contagem aérea das câmaras frigoríficas em relação a BHAM. Eles relacionaram esse resultado a maior sensibilidade de Gram Negativas para as condições dos resfriadores (Okraszka-Lasica et al., 2012). O que pode ser vantajoso pensando na redução de agentes patogênicos como *Salmonella* spp. e *Escherichia coli*, que são encontrados no ambiente aéreo de matadouros (CONSENZA-SUTTON, 2004; LUES et al., 2006).

Vários pesquisadores têm verificado reduções nas contagens de BHAM, enterobactérias e coliformes totais em contagens realizadas para determinar a contaminação do ar de circulação entre as etapas de processamento de matadouros frigoríficos

(CONSENZA-SUTTON, 2004; OKRASZSKA-LASICA et al., 2012, WHYTE et al., 2001 ). Essa redução pode ser devido a: menores contagens aéreas bacterianas nas câmaras antes de iniciar o resfriamento (HEIDELBERG et al., 1997; OKRASZSKA-LASICA et al., 2012; PEARCE et al., 2006), ou a inativação de bactérias por dessecação e redução da temperatura (CLIFTON et al., 2008; OKRASZSKA-LASICA et al., 2012; TANG, 2009), ou mesmo danos nas células pelo impacto nas superfícies (OKRASZSKA-LASICA et al., 2012; STEWART et al., 1995;. TANG, 2009).

Estudos para detectar BHAM e Enterobactérias em carcaças de bovinos, ovinos e suínos têm verificado alto grau de variação entre os números bacterianos encontrados na superfície das meias carcaças (HUTCHISON et al., 2005;. ZWEIFEL et al., 2008). Essas variações têm sido atribuídas às diferenças entre sistemas de refrigeração entre os estabelecimentos (SHERIDAN, 2000).

### 3.2.1 Comportamento bacteriano frente às injúrias pelo frio

A dinâmica bacteriana frente à injúria pelo frio depende, entre outros fatores, do tipo celular (Gram-positivas ou Gram-negativas) em relação à condição resfriamento ou congelamento, rápido ou lento. A injúria ou morte de microrganismos por resfriamento abrupto é chamado choque térmico (“cold shock”) e foi primeiramente descrito por Sherman e Albus em 1923 (SHERMAN; ALBUS, 1923). Em geral, bactérias Gram-positivas são mais resistentes ao choque térmico do que bactérias Gram-negativas (BROWN, 1991; GOLDEN; ARROYO-GALLYOUN, 1997), isso devido principalmente a sua espessa membrana glicoproteica (ROSE, 1968). Dessas, os gêneros *Staphylococcus* e *Listeria* apresentam maior resistência (DEMCHICK et al., 1982; EL-KEST; MARTH, 1992; MASTRONICOLIS et al., 2006). Partmann (1975) verificou essa característica após identificar 15% de Gram-positivas e 85% de Gram-negativas de  $3,85 \times 10^5$  células/g em carne crua fresca, e após o congelamento, a proporção passou para 70% de Gram-positivas e 30% de Gram-negativas e a contagem reduziu para  $7,7 \times 10^4$  células/g.

As bactérias Gram-negativas, particularmente em fase exponencial de crescimento, são as mais susceptíveis aos efeitos deletérios das abruptas reduções de temperatura (congelamento principalmente). Durante esse processo ocorrem alterações na permeabilidade celular, desidratação (cristais de gelo intra e extracelulares), modificação das concentrações de solutos (efeitos tóxicos) e estresse osmótico (INGRAM; MACKEY , 1976; MAZUR, 1970).

Entretanto, esses efeitos podem ser minimizados pelo chamado “Efeito de Matriz” verificado nos estudos de Jackson et al. (1995), este observou que o tipo de matriz alimentar altera significativamente a habilidade de *E. coli* O157:H7 em resistir ao choque térmico. Além disso, outros estudos demonstraram que bactérias na fase estacionária possuem maior capacidade de resistir às injúrias do frio (MARTIN et al., 1989; SMITH, 1995).

Após a redução abrupta da temperatura, muitas bactérias são capazes de sintetizar pequenas proteínas (7kDa), chamadas proteínas do choque térmico (VIDOVIC et al., 2011; YAMANAKA; INOUE, 2001; WEBER et al., 2005). Estas proteínas partilham um grau elevado de semelhança entre uma variedade de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, como: *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Salmonella Enteritidis*, *Salmonella Typhimurium* e *Lactobacillus plantarum*. É sugerido que essas proteínas tenham a função de acompanhantes RNA, facilitando a iniciação da tradução em baixas temperaturas (ABEE; WOUTERS, 1999).

Embora mais sensíveis ao choque térmico que ocorre principalmente durante o congelamento, bactérias Gram-negativas possuem maior habilidade adaptativa às condições injuriantes do resfriamento (estocagem) (LOWRY; GILL, 1985). Lowry e Gill (1984) verificaram que em temperaturas acima de  $-3^{\circ}\text{C}$  há um predomínio de bactérias psicrotróficas Gram-negativas que ocasionam os odores e sabores desagradáveis da carne estragada dentro de duas a três semanas. Mas, em temperatura de  $-5^{\circ}\text{C}$ , apesar de haver algum crescimento de bactérias Gram-positivas, a microbiota é composta basicamente por leveduras.

Dentre os fatores verificados para esse incremento adaptativo das Gram-negativas estão: maiores sínteses de lipídeos neutros e fosfolipídios, encurtamento de ácidos graxos e aumento da proporção de lipídeos insaturados. Esses fatores reduzem o ponto de fusão e permitem maior fluidez da membrana em baixas temperaturas - teoria da solidificação de lipídeos (ALLEN, 1953; RUSSELL, 1971; VIDOVIC et al., 2011). Entretanto, pesquisadores verificaram que mudanças na composição lipídica da membrana de *Listeria monocytogenes* tem importante função em sua habilidade de crescimento em baixas temperaturas (CHIHIB et al., 2003; MASTRONICOLIS et al., 2006), demonstrando que algumas Gram-positivas também possuem essa habilidade.

### 3.2.2 Perdas de peso das carcaças durante o resfriamento

A perda de peso da carne antes da venda no varejo tem importantes implicações econômicas para a indústria da carne. Ocorre em todas as fases, desde o matadouro até o

consumidor (WINSTANLEY, 1981). A perda durante o abate e nas primeiras horas de resfriamento é alta, mas é sucedida por uma taxa mais lenta durante o armazenamento em condições refrigeradas. Quando iniciam os cortes a taxa se eleva novamente pela exsudação (FISHER; BAYNUM, 1983).

Perdas no *post mortem* são resultados da evaporação, perda por gotejamento de água na lavagem de carcaça e exsudação pelos componentes da carcaça (SMITH; CARPENTER, 1973).

A perda de peso representa uma séria preocupação econômica para a indústria de carnes. Condições que devem ser mantidas para minimizar esse efeito incluem a manutenção de baixas temperaturas, circulação de ar mínima e elevada umidade relativa (SAVELL et al., 2005). Durante as primeiras 24 horas de resfriamento convencional, as perdas de peso por evaporação variam de 0,75 a 2% na América do Norte, e de 1,2 a 1,7% no Reino Unido (JONES; ROBERTSON, 1988). No Brasil, Mesquita et al. (2003), observaram em carcaças bovinas médias de perdas de peso por evaporação de 1,39 e 1,54% em dois abates, respectivamente, em sistema de resfriamento convencional, com ventilação forçada, durante 24 horas.

Em um estudo realizado com 1000 carcaças de borrego, durante as primeiras 36 horas das 72 horas de resfriamento avaliadas, 92% da perda de peso já havia ocorrido, e nesse mesmo estudo verificou-se que a perda continua a aumentar ao longo do tempo, mas a uma taxa mais reduzida (SMITH; CARPENTER, 1973).

Fisher e Bayntun (1983) avaliaram a perda de peso, composição da carcaça e conteúdo de água dos tecidos de 20 meias carcaças bovinas durante 20 dias de armazenamento a 1°C com umidade relativa de 84%. Eles verificaram que a perda de peso nas primeiras 24 horas foi de 2%, e a partir do vigésimo dia declinou a uma taxa linear de 0,17% por dia. Ao fim dos 20 dias a perda total foi de 5%.

Usando o sistema tradicional de resfriamento de carcaças bovinas, a temperatura no interior da musculatura pode atingir valores inferiores a 7°C, em 24 horas de resfriamento, com uma perda de peso por evaporação na ordem de 2% (JAMES, 1996).

Estudos demonstram que carcaças mais gordas tem menor perda de peso (CALLOW, 1962). Fisher e Bayntun (1983) observaram alta correlação (-0,79,  $p \leq 0,01$ ) entre a porcentagem total de gordura dissecada e a taxa de perda de peso pela meia carcaça, isto é, carcaças gordas tiveram menores perdas. A justificativa estaria no menor percentual de água nos tecidos e/ou na barreira a evaporação formada pela cobertura de gordura.

O peso de carcaça e sua composição são fatores que influenciam na taxa de arrefecimento (KASTNER, 1981). Em um estudo de Hippe et al. (1991), meias carcaças de vacas magras tiveram maior perda de peso percentual do que novilhos após 24 horas de resfriamento. Maior perda de umidade ocorre a partir de tecidos magros do que tecidos gordos (JOHNSON et al., 1988). As variáveis mais incriminadas na perda de peso são o tamanho da área de superfície e a cobertura de gordura subcutânea (SMITH; CARPENTER, 1973). Maior proporção de gordura pode reduzir a perda de peso servindo como barreira contra a perda de umidade (impede evaporação da carne magra) ou reduzindo o teor de umidade total da carcaça (SMITH; CARPENTER, 1973).

Muela et al. (2010) observaram que a queda de peso é altamente influenciada pelo peso da carcaça quente em ovinos. Também foi verificado maior perda de peso em temperaturas de 0-2°C (2,5%), menor em 2-4°C (2,19%) e menores ainda em 4-6 °C (1,95%), em carcaças ovinas após 90 horas de estocagem. Mesmo assim, essa perda em 90 horas ainda é muito inferior a encontrada pelas indústria de carne com 24 horas de resfriamento (2 a 4%). Contudo, 54% da perda de peso ocorreu nas primeiras 18 horas.

Por outro lado, Fernández e Vieira (2012), encontraram uma menor perda de peso (1,6%) em carcaças ovinas submetidas a ultra resfriamento (-20±2°C por 3,5h com ar a 2 m/s e posteriormente, mais 24 horas a 2-4°C também com velocidade do ar de 2 m/s), em relação ao resfriamento convencional (24 horas a 2-4°C e 2 m/s) e o resfriamento lento (7 h a 12±2°C e posteriormente mais 24 horas a 2-4°C), em que as perdas foram respectivamente de 2,7 e 2,2%.

Fatores como manutenção da baixa temperatura, circulação de ar mínimo e alta umidade relativa são pontos chave para controlar a perda de peso (SMITH; CARPENTER, 1973). Crowley et al. (2010) verificaram que a perda por evaporação ocorre mais rapidamente nos primeiros minutos de refrigeração, que é também o momento com mais significativas reduções na atividade de água da superfície. Reduções tão abruptas na Aa são improváveis nos estágios posteriores do ciclo de frio, quando a taxa de evaporação está diminuindo. A influencia negativa da ventilação sobre a perda de peso de ovinos foi verificada em alguns estudos (FERNÁNDEZ; VIEIRA, 2012; McGEEHIN et al., 2002).

Perdas de peso desta magnitude possuem consideráveis consequências econômicas, uma vez que o montante de capital movimentado por indústrias de abate e processamento de carnes bovinas é bastante elevado. Neste sentido, o uso do sistema de aspersão de água em carcaças bovinas durante o resfriamento (“water spray-chilling”), tem sido adotado por

abatedouros norte-americanos desde 1987, com significativa redução das perdas por evaporação (ALLEN et al., 1987; JAMES, 1996; JONES; ROBERTSON, 1988).

### 3.2.2.1 Aspersão de água em carcaça durante o resfriamento

Por muitos anos a indústria de carnes tem ciência de que o resfriamento eficaz, essencial para limitar o crescimento de bactérias e a deterioração da carcaça, também pode levar à perda de peso da carcaça comercialmente indesejável. Há vários relatos que tais perdas podem ser reduzidas em até 75% pulverizando-se carcaças com água (HEITTER, 1975). Plantas de abate na América do Norte têm estabelecido protocolos de aspersão de água em ciclos cronometrados em carcaças de bovinas desde 1987 (JONES; ROBERTSON, 1988; USA, 1993).

O sistema consiste de tubos de PVC dotados de bicos aspersores, dispostos paralelamente aos trilhos nas câmaras de resfriamento, que fazem a aspersão intermitente de água sobre as carcaças em ciclos programáveis, durante o processo de resfriamento. A velocidade de redução da temperatura das carcaças resfriadas pelo sistema de aspersão tem sido uma preocupação citada por muitos autores, pois influencia na qualidade final da carne. A maioria dos sistemas de aspersão utiliza água em temperaturas muito baixas, em torno de 2°C, o que pode provocar uma redução mais rápida da temperatura nos músculos (PRADO, 2005).

Kinsella et al. (2006) encontraram perda de peso de 1,55% em 24 horas de resfriamento, com a aspersão, a perda foi de 1,36%. Para eles essa pequena vantagem em relação a maiores vantagens encontradas em outros estudos se deve a duração e intervalos dos ciclos de aspersão.

No Brasil, Prado e Felício (2010) avaliaram os efeitos da taxa de resfriamento e da aspersão de carcaça sobre a perda de peso de 40 machos inteiros. No resfriamento convencional (0°C e ventilação a 2m/s) por 48 horas eles encontraram perda de peso de 1,67%. Quando nas 12 primeiras horas foi utilizada a temperatura de 10°C com subsequente resfriamento convencional não foi identificada alteração na perda de peso. Contudo, adicionando aspersão de água fria a 2°C em ciclos de 30 segundos entre intervalos de 10 minutos nas primeiras seis horas do resfriamento convencional, a perda de peso reduziu para -0,28%. Quando essa aspersão foi associada a 12 horas a 10°C com posterior resfriamento convencional, a perda com 48 horas foi de 0,34%. Os pesquisadores observaram que o provável ganho de peso pela carcaça por absorção de água caso o sistema de aspersão não

esteja bem ajustado. Verificaram também que há maiores perdas por exsudação durante a estocagem dos cortes embalados a vácuo de carcaças que foram aspergidas. Entretanto, constataram que carcaças aspergidas perdem calor mais rapidamente durante o resfriamento, isto é, possuem curva de redução da temperatura mais acentuada, e atribuíram esse fato as trocas por condução através da água aspergida a 2°C.

Os benefícios da aspersão de carcaças estão bem estabelecidos, mas os efeitos deletérios sobre a qualidade bacteriana da carne ainda são incertos (KINSELLA et al., 2006). Hamby et al. (1987) indicaram que a aspersão de água não afetou as contagens de mesófilos aeróbios em carcaças e cortes primários embalados a vácuo, mas Greer e Dilts (1988) verificaram que a atividade de água aumentou na superfícies da carne, o que pode promover o crescimento bacteriano. Tal crescimento pode, no entanto, ser inibido pela relativamente rápida redução da temperatura da superfície das carcaças durante refrigeração comercial (GREER; DILTS, 1988).

No “United States Department of Agriculture” (USDA) foi determinado que o peso das carcaças após o resfriamento com a aspersão não pode ser superior ao peso das carcaças quentes, antes da pré-lavagem. No “Food Safety and Inspection Service” (FSIS) consta a regulamentação do uso do sistema de aspersão através da Diretiva nº 6330.1 de 26 de maio de 1993 (USA, 1993).

A legislação da União Europeia proíbe o uso do sistema de aspersão de carcaças bovinas, pois, segundo técnicos que vieram ao Brasil em missão veterinária da U.E., o sistema aumenta a condensação nas câmaras de resfriamento, o que aumentaria, conseqüentemente, o surgimento de ferrugem e mofos. Ainda, segundo os técnicos, a água que se forma no teto das câmaras e em outras estruturas e instalações aéreas não é potável, e sua precipitação ou contato com a superfície das carcaças bovinas aumentaria a contaminação das carnes (BRASIL, 2003).

No Brasil, para atender à legislação da União Europeia, os estabelecimentos que desejassem manter a exportação para países da Comunidade Europeia deveriam retirar imediatamente os equipamentos de aspersão (BRASIL, 2003). Entretanto, em 09 de agosto de 2011, o MAPA, através da Resolução nº 02, determinou critérios para a utilização do sistema de aspersão aplicado no processo de resfriamento de meias-carcaças bovinas. Os estabelecimentos que pretendem usar o sistema devem criar um Programa de Controle de Aspersão de Carcaças (PCAC), assegurando que as meias-carcaças não apresentem ganho de peso, de modo a evitar a fraude econômica, como também prevenir a introdução de perigos microbiológicos (BRASIL, 2011).

### 3.3 QUALIDADE HIGIÊNICO-SANITÁRIA DE CARCAÇAS BOVINAS

No Regulamento Industrial de Inspeção Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) são estabelecidas definições para carne de açougue (massas musculares maturadas e demais tecidos que as acompanham, incluindo ou não a base óssea correspondente, procedentes de animais abatidos sob inspeção veterinária oficial), carcaça (animais abatidos, formados das massas musculares e ossos, desprovidos da cabeça, mocotós, cauda, couro, órgãos e vísceras torácicas e abdominais, tecnicamente preparados) e meia carcaça (divisão da carcaça ao longo da coluna vertebral) (BRASIL, 1952). Entretanto, a padronização dos cortes de carne bovina é estabelecida pela Portaria n° 5, de 8 de novembro de 1988 (BRASIL, 1988) e o sistema nacional de tipificação de carcaças bovinas pela Portaria n° 612, de 5 de outubro de 1989 (BRASIL, 1989).

A diversidade de nutriente na composição da carne a torna um ambiente ideal para o crescimento e propagação microrganismos deteriorativos e agentes patogênicos. Por isso, é essencial que as tecnologias de preservação adequadas sejam aplicadas para manter a sua segurança e qualidade (AYMERICH et al., 2008).

Vários fatores inter-relacionados influenciam a validade comercial e a qualidade da carne, especificamente temperatura de manutenção, tensão de oxigênio (O<sub>2</sub>), enzimas endógenas, umidade (desidratação), e, mais importante, os microrganismos. Todos esses fatores, sejam sozinhos ou em associação, podem resultar em mudanças prejudiciais na cor, odor, sabor e textura da carne (FAUSTMANN; CASSENS, 1990). Embora a deterioração de carne possa ocorrer na ausência de microrganismos (por exemplo, a proteólise da lipólise e oxidação), o crescimento microbiano é, de longe, o fator mais importante no que se refere à manutenção da qualidade de carne fresca (LAMBERT et al., 1991).

Os processos usados na conservação de carne visam a inibição da deterioração microbiana, embora outros métodos de preservação sejam procurados para minimizar outras alterações deteriorativas como cor e alterações oxidativas (ZHOU et al., 2010). A adição de várias formas de conservação contra a proliferação microbiana é chamado “Sistema de Barreiras” e pode ser concebido para atingir objetivos específicos em termos de qualidade tanto microbiana quanto sensorial (LAWRIE; LEDWARD, 2006).

Os microrganismos contaminantes podem ser saprófitas e/ou patogênicos, colocando em risco a saúde do consumidor, ou deteriorando o alimento, diminuindo desta forma a qualidade e o período de conservação. Conhecer os microrganismos encontrados na carne um

ambiente propício para sua proliferação constitui um dos fatores determinantes para a preservação de sua qualidade (FONTOURA, 2006).

Contagens de bactérias na carne estão na faixa  $10^2$  a  $10^5$  UFC/cm<sup>2</sup>, mas apenas 10% são capazes de iniciar crescimento (NYCHAS et al., 1988). A fase de latência inicial (fase LAG) é atribuída à adaptação microbiana às novas condições (baixa temperatura e dessecação da superfície). Segue para o crescimento logarítmico (fase LOG) que ocorre após as células se adaptarem seu metabolismo ao novo ambiente. Quando os números excedem  $10^7$  células por cm<sup>2</sup>, os primeiros sinais de deterioração são detectados como maus odores. Outro sinal de deterioração típica, limo bacteriano, é perceptível com a densidade celular em torno de  $10^8$  células por cm<sup>2</sup> (GILL, et al., 1982).

Estatísticas internacionais apontam as carnes e derivados como os principais alimentos envolvidos em surtos de toxi-infecções alimentares, sendo os alimentos de origem animal mais frequentemente implicados do que os de origem vegetal. As carnes e aves são responsáveis por 23,3% do total de surtos de toxi-infecções alimentares provocados por bactérias nos Estados Unidos (USA, 1994).

### 3.3.1 Fluxograma do abate

Os cuidados higiênico-sanitários durante abate, processamento e demais etapas de industrialização são fundamentais para a segurança microbiológica do produto. Segundo Labadie (1999), o crescimento de microrganismos nas carnes durante a estocagem resulta do tipo de contaminação introduzida durante o processamento e da influência de fatores físico-químicos aplicados durante a estocagem. O processamento influencia não só a quantidade de microrganismos por unidade de área, mas também os tipos de microrganismos presentes.

A obtenção adequada de carnes bovinas em abatedouros deve ser realizada através de procedimentos padronizados e definidos pela legislação vigente, incluindo aspectos relacionados à higiene das instalações, equipamentos e utensílios, além da qualidade da água utilizada nas diferentes etapas do abate (BRASIL, 1997a).

A contaminação cruzada durante o abate é considerada inevitável (GRAU, 1987). Essa pode ser devido a facas contaminadas, mãos e/ou contato direto com a carcaça. Transferências pelo ar também tem sido sugeridas como uma via potencial para contaminação das carcaças em abatedouros (RAHKIO; KORKEALA, 1997).

Nos estabelecimentos de abate, a contaminação fecal de carcaças é a principal rota de contaminação por patógenos. Se cuidados não forem tomados durante os procedimentos de

abate, manipulação, esfolagem e processamento, as porções das carcaças que são utilizadas para a produção de alimentos podem ser contaminadas com bactérias. Uma vez introduzidos no ambiente industrial, os organismos podem crescer e se alastrarem de carcaça a carcaça ou por outros meios (USA, 2004).

Vários estudos tem sugerido a pele do bovino como uma importante fonte de contaminação da carcaça, inclusive como fonte primária de contaminação durante o abate e esfolagem (ARTHUR et al., 2007; BARKOCY-GALLAGHER et al., 2003; BOSILEVAC et al., 2005; ELDER et al., 2000; LAHR, 1996; NOU et al., 2003). Entretanto, o grau de contaminação durante a esfolagem depende da técnica operacional, do treinamento e habilidade do operador e dos equipamentos e instalações, principalmente do extrator mecânico da pele (Gill, 2004).

Elevado número de microrganismos são comumente encontrados em peles de gado (MCCLEERY et al., 2008; REID et al., 2002), com carga microbiana total variando de 6 a 10 e 4,5 a 8 log UFC/cm<sup>2</sup> em peles visualmente sujas e limpas, respectivamente (ANTIC et al., 2010; HAUGE et al., 2012). Mcevoy et al. (2000) mostraram que a região mais contaminada da pele de bovinos é o jarrete e o peito e Ridell e Korkeala (1993) verificaram em amostras de carne do peito vindas de animais extremamente sujos que mesmo abatidos e processados com cuidados extras, apresentam contaminação por BHAM além dos animais mais limpos abatidos normalmente.

Avaliando o abate de 100 animais em dois matadouros (50% em cada) da Sérvia, Blagojevic et al. (2011) encontraram presença de *E. coli* O157 na pele de 52% e 64% dos animais dos abatedouros A e B, respectivamente. Na carcaça, 12% e 14% respectivamente. Essas ocorrências foram consideradas relativamente altas.

Hauge et al. (2012) demonstraram através de análise de regressão linear que os níveis de *E. coli* em superfícies de carcaça foram afetadas pelo local da amostragem (início ou fim da linha de abate) e o tipo de animal (idade/gênero). Também verificaram que animais visualmente limpos antes do abate produzem carcaças com menor contaminação bacteriana fecal. Neste mesmo estudo observaram que o peito foi a localização anatômica com maior potencial de contaminação, devido à abertura inicial da pele com a faca e ao processo de esfolagem. (GILL, 2004; HAUGE et al., 2012).

Tamanho o grau da importância, na França, Bélgica e Grã-Bretanha foram definidos critérios de avaliação para a limpeza da pele dos animais anteriormente ao abate. Foi estabelecido que quando os animais estão excessivamente sujos devem ser rejeitados para o abate (AFSCA, 2006b; BASTIEN et al., 2006; UK, 2004).

Entretanto, há grande divergência entre estudos que avaliam a contaminação oriunda da pele (ANTIC et al., 2010; BYRNE et al., 2000; HAUGE et al., 2012; MCEVOY et al., 2000; VAN DONKERSGOED et al., 1997). Essa divergência é resultado de variáveis metodologias, tais como características do material abrasivo, técnicas de amostragem, locais de amostragem, bem como fatores intrínsecos, como os níveis de contaminação inicial da pele, velocidade de linha de abate, e intervenções descontaminantes (ANTIC et al., 2010).

O potencial para provocar contaminação durante a evisceração pode ser observado quando se identifica que no momento do abate, o rúmen pode conter (log<sub>10</sub> UFC/g) 6,0 a 8,0 de aeróbios mesófilos; 2,0 a 5,0 de psicrotróficos; 3,0 a 7,0 de *E. coli* e *Enterobacteriaceae*; e 3,0 de *Salmonella* spp.. As fezes podem conter (log<sub>10</sub> UFC/g) 7,0 a 9,0 de aeróbios; 2,0 a 5,0 de psicrotróficos; 6,0 a 9,0 de *E. coli* e *Enterobacteriaceae*; em torno de 6,0 de *Clostridium perfringens*; e 4,0 a 5,0 de *Salmonella* spp. (ROÇA; SERRANO, 1995).

O ar também é um importante veículo para a disseminação de contaminação bacteriana em ambientes de processamento de alimentos (JERICHO et al., 2000; PRENDERGAST et al., 2004). Podem ser transportadas em partículas sólidas (poeira) ou em aerossóis líquidos, isto é, sistemas de duas fases de condensação (SHALE; LUES, 2007) gerados durante as operações tais como a esfolagem e lavagem de carcaças (JERICHO et al., 2000).

Vários pesquisadores demonstraram que o “layout” do matadouro afeta significativamente a distribuição da contaminação do ar (RAHKIO; KORKEALA, 1997; WORFEL et al., 1996). Mais especificamente, a separação da área “limpa” e “suja” na linha de abate para reduzir a contaminação de carcaças pela população bacteriana presente no ar (RAHKIO; KORKEALA, 1997; WHYTE et al., 2001; WORFEL et al., 1996).

Prendergast et al., (2004) identificaram expressiva diferença entre as contagens de BHAM na área “limpa” (2,42 log UFC/m<sup>3</sup>) em relação a área “suja” (3,44 log UFC/m<sup>3</sup>). Jerico et al. (2000) calcularam que a contaminação de carcaças bovinas a partir de fontes aéreas variou de 1,69 a 2,0 log UFC/m<sup>2</sup>.

No final de um abate higiênico, o teor de BHAM na superfície de carcaças de bovinos, pequenos ruminantes e suínos é de 10<sup>2</sup> a 10<sup>4</sup> ufc/cm<sup>2</sup>. Quando os teores de BHAM na superfície de carcaças de bovinos e pequenos ruminantes são superiores a 10<sup>5</sup> ufc/cm<sup>2</sup>, quer dizer que o abate decorreu em más condições de higiene. A grande maioria destas bactérias são Gram positivas (*Micrococcus*, *Staphylococcus* e *Coryneformes*). *Enterobacteriaceae* e coliformes podem estar presentes, mas normalmente em número reduzido (GIL; JONES, 2000).

O método mais eficiente de se reduzir a contaminação e o desenvolvimento microbiano em produtos cárneos é o estabelecimento de programas preventivos de controle de qualidade, como BPF e APPCC, que podem ser validados e verificados pela pesquisa de microrganismos indicadores de higiene que além de remeterem as práticas adequadas de processamento (BRANDÃO, 2011).

As fontes de contaminação da carcaça dependem do nível tecnológico no processo de higiene do abatedouro. Assim, para garantir a segurança do produto final, cada estabelecimento deve assegurar um processo de higiene adequado, baseando-se no sistema APPCC, com verificação da sua efetividade através de testes microbiológicos em carcaças, que geralmente é feito determinando se a contagem dos microrganismos indicadores gerais de higiene nas carcaças está dentro dos limites aceitáveis (Figura 02) (ANTONANGELO, 2012).

### 3.3.2 Microrganismos indicadores

Segundo Franco e Landgraf (2008) microrganismos indicadores são grupos ou espécies de microrganismos que, quando presentes em um alimento, podem fornecer informações sobre a contaminação de origem fecal, sobre a provável presença de patógenos ou sobre a deteriorização potencial do alimento além de poder indicar condições sanitárias inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento.

Na Comissão Internacional de Especificações Microbiológicas para Alimentos (ICMSF, 1986) foram agrupados os microrganismos indicadores em duas categorias:

- Microrganismos que não oferecem risco direto à saúde, mas oferecem uma estimativa acerca de uma condição: como a contagem padrão de mesófilos, as contagens de psicrotróficos, de termófilos, de bolores e leveduras.
- Microrganismos que oferecem um risco baixo ou indireto à saúde e cuja presença pode indicar condições indesejáveis: como as estimativas de coliformes totais, de coliformes fecais ou termotolerantes, de enterococos, enterobactérias totais e de *E. coli*.

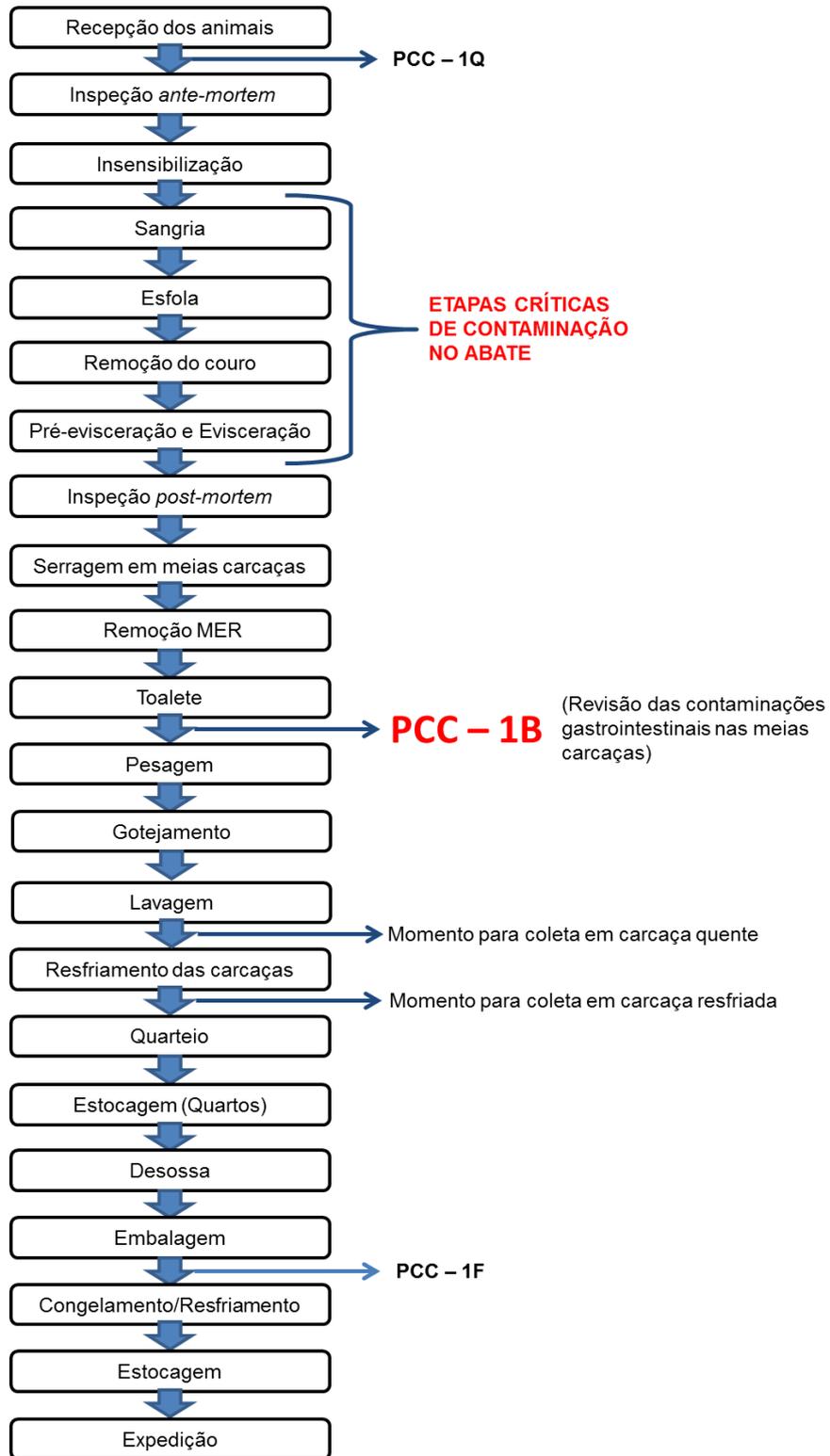


Figura 02 - Fluxograma de abate com os principais pontos de contaminação e os momentos de coleta (ANTONANGELO, 2012).

De forma geral, a qualidade microbiológica de produtos ou da validade comercial são microrganismos e/ou produtos de seu metabolismo cuja presença em determinados alimentos e em certos níveis costuma ser utilizada para avaliar a qualidade; ou melhor; prever a validade comercial do produto. Quando utilizado desta forma, o microrganismo indicador deve apresentar as seguintes características (JAY, 2005):

- Estar presente e ser detectável em todos os alimentos cuja qualidade (ou sua ausência) deva ser avaliada;
- Sua concentração e seu crescimento devem ter uma correlação inversamente proporcional à qualidade do produto;
- Deve ser facilmente detectável, quantificado e claramente distinguível de outros microrganismos;
- Deve ser quantificado em um curto período de tempo, de preferência em um dia;
- Seu crescimento não deve ser afetado por outros microrganismos da flora do alimento.

A utilização de grupos de indicadores mais específicos, como os coliformes, enterobactérias e/ou *E.coli*, mostraram-se bons na caracterização da contaminação ao longo do processo de abate, uma vez que a pesquisa destes pode fornecer informações mais concretas sobre a ocorrência de contaminação por fezes e contaminações cruzadas (BRANDÃO, 2011).

### 3.3.2.1 Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (BHAM.)

Segundo Jay (2005), a temperatura ótima de multiplicação das BHAM é de 25°C e 40°C, mínima entre 5°C e 25°C, e máxima entre 40°C e 50°C. As BHAM correspondem à grande maioria daqueles de importância em alimentos, inclusive a maior parte dos patógenos de interesse.

A contagem Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (BHAM) em placas, “Aerobic Plate Count”, também denominada contagem padrão em placas, é o método mais utilizado como indicador geral de populações bacterianas em alimentos. Não diferencia tipos de bactérias, sendo utilizado para obter informações gerais sobre a qualidade dos produtos, práticas de manufatura, matérias primas utilizadas, condições de processamento, manipulação e vida de prateleira. Não é um indicador de segurança, pois não está diretamente relacionado à presença de patógenos ou toxinas. Dependendo da situação, pode ser útil na avaliação da qualidade, porque populações altas de bactérias podem indicar deficiências na sanitização ou falha no controle do processo ou dos ingredientes (SILVA, et al., 2007).

A quantificação da população de BHAM das superfícies das carcaças é comumente utilizada para fornecer dados que indiquem o grau de cuidados higiênico-sanitários durante as operações de abate, particularmente esfola e evisceração (ZWEIFEL et al., 2004). A avaliação de riscos baseada apenas em dados de contagem de BHAM na superfície de carcaças é limitada, pois não há correlação entre o número destas bactérias com a presença de patógenos (GILL, 1995).

Sua presença em grande número indica matéria prima excessivamente contaminada, limpeza e desinfecção de superfícies inadequadas, higiene insuficiente na produção e condições inapropriadas de tempo e temperatura durante a produção ou conservação dos alimentos (CARDOSO, et al., 1998).

Tergney e Bolton (2006) também demonstraram que não há correlação entre a contagem de bactérias aeróbias mesófilas com a incidência de contaminação fecal em carcaças, e consideraram a contagem dessas bactérias como um bom indicador de higiene em geral.

#### 3.3.2.2 Bactérias da Família *Enterobacteriaceae*

As enterobactérias compreendem um grupo de microrganismos classicamente utilizados na determinação de contaminações causadas por fezes, por serem encontradas no intestino, mas também são encontradas em regiões extraintestinais. São bacilos Gram negativos e são amplamente distribuídos no solo, água, planta e intestino dos homens e dos animais (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

O grupo das enterobactérias incluem os gêneros *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Morganella*, *Providencia* e *Yersinia* (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Historicamente, coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Enterococcus* e *E. coli* tem sido usados como organismos indicadores de contaminação fecal. Os coliformes são definidos como enterobactérias Gram-negativas fermentadoras de lactose com produção de gás. Os coliformes termotolerantes (vulgarmente chamados de “coliformes fecais”), os quais podem crescer em temperaturas elevadas (44,5°C), foram inicialmente recomendados como os indicadores mais específicos para fezes. Entretanto, alguns membros dos coliformes termotolerantes, como *Klebsiella*, podem ser originados de fontes não fecais (ISHII; SAWDOSKY, 2008).

A Comunidade Europeia (CE), através do Regulamento CE 1441/2007, item 3, menciona que em 24 de janeiro de 2007, o “Scientific Panel on Biological Hazard” (BIOHAZ) da Autoridade Europeia para Segurança dos Alimentos (EFSA), emitiu um parecer sobre as *Enterobacteriaceae* como indicadores de *Salmonella* e de *Enterobacter sakazakii*. Eles concluíram não ser possível estabelecer uma correlação entre as *Enterobacteriaceae* e a *Salmonella* spp. (UE, 2007).

Enterobactérias não são uma escolha apropriada como indicador de contaminação fecal (HUTCHISON et al., 2005; STUIJK; MOSSEL, 2005; ZWEIFEL et al., 2008). *Escherichia coli* é utilizada como o organismo indicador obrigatório na Austrália e nos EUA (JORDAN et al., 2006; RUBY et al., 2007). O regulamento europeu não permite o uso de *E. coli* sem aprovação por autoridade competente e estabelecimento de critérios adequados (UE, 2001; EU, 2005a). A família *Enterobacteriaceae* compreende um grande número de organismos, e nem todos os de origem fecal, estes são mais úteis como indicadores da higiene no processo global do estabelecimento (LENAHAN, 2009). *E. coli* é considerada a escolha mais adequada por ser uma espécie especificamente associada às fezes (DELHALLE et al., 2008; GHAFIR et al., 2008; MCEVOY et al., 2004). Estudos comprovam que a presença de *E. coli* em carcaças são um índice confiável para indicar a presença de patógenos entéricos zoonóticos, como a *Salmonella* spp. (DELHALLE et al., 2008; GHAFIR et al., 2008).

As Enterobactérias são indicadores úteis de higiene e contaminação pós processamento. Além disso, contagens de enterobactérias podem ser tomadas como um indicador de possível contaminação entérica na ausência de coliformes (AL-MATUIRI, 2011).

### 3.3.2.3 *Escherichia coli*

Dentro dos diversos agentes patogênicos, *E. coli* é um dos bacilos Gram negativos pertencentes à família *Enterobacteriaceae* encontrados compondo a microbiota intestinal humana e animal. Este microrganismo coloniza o trato intestinal do hospedeiro já a partir das primeiras horas de vida e, em seguida estabelece uma relação de simbiose com o hospedeiro permanecendo confinado ao intestino grosso (RIBEIRO, 2005).

A presença de *E. coli* significa uma pressuposição mais positiva de perigo que a presença de outro coliforme. A não detecção de *E. coli* nos alimentos, entretanto, não assegura a ausência de patógenos entéricos (NATIONAL RESEARCH CONCIL, 1985).

Segundo Jordan et al. (2006), a *E. coli* biotipo I é provavelmente o indicador mais específico de contaminação fecal, porque seus requisitos de crescimento tornam improvável que elevadas densidades surgiram de fontes não fecais (ou do conteúdo intestinal). Entretanto, embora a *E. coli* biotipo I esteja geralmente presente em elevadas concentrações nas fezes de bovinos, existe uma variação individual entre os animais na concentração presente nas fezes. Assim, a *E. coli* biotipo I pode não ser uma medida sensível de contaminação fecal quando uma pequena quantidade de material fecal é transferida para a superfície da carcaça ou quando o material fecal por si só possui uma baixa concentração de *E. coli* biotipo I.

A análise quantitativa de *E. coli* para a verificação do processo de abate seria mais eficiente do que a análise qualitativa de *Salmonella* spp. pois uma vez que o processo está sob controle em relação a *E. coli*, a possibilidade de ocorrência de *Salmonella* spp. é minimizada (USA, 1996). Entre as características deste microrganismo que permitiram esta conclusão estão: a forte associação de *E. coli* com a presença de bactérias enteropatogênicas no processo de abate e a presença de contaminação fecal; a maior ocorrência de *E. coli* do que de *Salmonella* spp., dessa forma os testes quantitativos para *E. coli* permitiriam um ajuste mais rápido e mais frequente dos controles de processos; as suas características de crescimento e sobrevivência são semelhantes às de bactérias enteropatogênicas como *E. coli* O157:H7 e *Salmonella* spp.; a análise para *E. coli* requer menos preocupações com segurança e é mais factível nos laboratórios dos estabelecimentos do que para *Salmonella* spp.; e há grande aceitação por parte da comunidade científica internacional do seu uso com indicador da presença de microrganismos enteropatogênicos (CASAGRANDE, 2011).

#### 3.3.2.4 *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* é um versátil patógeno de seres humanos e animais. Suas manifestações clínicas vão de uma infecção de pele leve até doenças mais graves, como pneumonia e septicemia. De particular relevância para a indústria de processamento de alimentos, devido à capacidade de algumas estirpes de *S. aureus* em produzirem enterotoxinas termoestáveis, que causam a intoxicação alimentar estafilocócica, tida como uma das causas mais prevalentes de gastroenterite no mundo inteiro (DINGES et al., 2000; GUVEN et al., 2010).

É uma intoxicação leve que ocorre após a ingestão de alimentos que contenham de 20 a <1 ng de enterotoxina estafilocócica, para determinar sintomas em seres humanos. Os sintomas aparecem dentro de algumas horas (1-6 h) após a ingestão de alimentos

contaminados, dependendo da susceptibilidade individual e dose tóxica ingerida. Incluem náuseas, cólicas abdominais, diarreia e vômitos (NORMANNO et al., 2007).

O habitat primário do *S. aureus* é nas passagens nasais, pele e cabelo de animais de sangue quente e, portanto, as fontes das quais este organismo entra alimentos são principalmente de origem humana ou animal. Manipuladores de alimentos são uma importante fonte de contaminação, pela má higiene ou contaminação cruzada (LUES; VAN TONDER 2007).

### 3.3.3 Análises microbiológicas em carcaça bovina

Há mais de duas décadas, métodos rápidos vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de complementar a metodologia tradicional, oferecendo resultados mais rápidos e sensíveis, aumentando a agilidade do laboratório. Os métodos rápidos surgiram a partir da década de 70, como consequência da necessidade de se abreviar o tempo necessário para a obtenção de resultados analíticos e melhorar a produtividade laboratorial. Além desses objetivos, a aplicação desses métodos visa, também, a simplificação do trabalho e a redução de custos. Para alguns métodos, a essas vantagens aliam-se outras como maior sensibilidade e especificidade (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Um dos métodos rápidos mais utilizados para detecção de B.H.A.M., coliformes, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* em alimentos é o 3M Petrifilm™ (3M, 2012a). As placas Petrifilm™, desenvolvidas na década de 80, constituem em um método alternativo para enumerar microrganismos indicadores higiênicos em alimentos (BELOTI et al., 2003). Alguns países como Estados Unidos, Canadá, Austrália, Coreia, Portugal, Noruega, Itália, entre outros, desenvolveram trabalhos e estudos colaborativos para avaliar a eficiência das placas Petrifilm e de outros métodos rápidos em relação aos métodos convencionais (SILVA et al., 2006).

#### 3.3.3.1 Metodologias de coleta destrutiva e não destrutiva

Em conformidade com a Decisão 2001/471/CE, a técnica de suabe (não-destrutiva) retira apenas uma porção (frequentemente 20% ou menos) da microbiota total presente na superfície da carne. Por isso, trata-se apenas de um indicador da higiene superficial. Sempre que se utilizam outros métodos que não o destrutivo, os critérios de desempenho microbiológico devem ser individualmente estabelecidos para cada método aplicado, no

sentido de relacioná-lo com o método destrutivo e de ser aprovado pela autoridade competente (UE, 2001).

Vieira-Pinto et al. (2003) verificaram que no método de excisão (destrutivo) foram revelados valores de BHAM e *Enterobacteriaceae* superiores comparativamente ao método de esponja, sendo que a diferença foi altamente significativa ( $P < 0,001$ ). Também se constatou a existência de uma boa correlação entre os valores obtidos pelo método de esponja e pelo da excisão, o que nos indica que a análise de regressão pode ser utilizada como base para o estabelecimento de equações de regressão que permitam estimar os valores esperados através do método de excisão a partir dos valores obtidos pelo método da esponja. Os autores verificaram também que a superfície interna da carcaça pode ser considerada como um local de amostragem alternativo para a aplicação do método de excisão.

Diferenças estatisticamente significativas entre as contagens obtidas pelos métodos de coleta destrutivo (excisão) e não destrutivo (esponja) tem sido descritos por inúmeros trabalhos (DORSA et al., 1996; GILL et al., 2001; GILL; JONES, 2000; MCEVOY et al., 2004; PEARCE; BOLTON, 2005). Alguns verificaram que a excisão recupera maiores quantidades de microrganismos (DORSA et al., 1996), mas outros estudos tem relatado que métodos não destrutivos, usando esponja ou gaze, para a detecção de BHAM, *E. coli* e Enterobactérias fornecem resultados tão confiáveis quanto os obtidos pela excisão (GILL; JONES, 2000; LINDBLAD, 2007). Métodos não destrutivos (esponja) são rápidos e mais adequados a estudos comerciais onde as velocidades operacionais são elevadas (ARTHUR et al., 2004).

Segundo Schwach (2007), a variável metodológica entre o suabe (zaragatoa) molhado e seco e a excisão de amostras é de menor importância se comparada com a enorme variação da contagem de colônias que ocorre entre carcaças do mesmo dia de abate. Por esta razão, faz mais sentido examinar um grande número de amostras com a técnica de suabe, no lugar de um baixo número de amostras pela técnica da excisão.

A recuperação bacteriana utilizando técnicas de suabe podem ser influenciadas por vários fatores, tais como a capacidade do instrumento abrasivo de remover microrganismos a partir da superfície, a sua efetiva liberação e recuperação do instrumento abrasivo para posterior análise por plaqueamento ou outra técnica (MOORE; GRIFFITH, 2002a). A remoção de bactérias a partir de superfícies secas pode ser melhorada utilizando substâncias abrasivas umedecidas. Inclusive foi verificado que abrasões úmidas melhoram a viabilidade e recuperação microbiana (MOORE; GRIFFITH, 2002b).

Na ISO 17604:2003 foi determinada a metodologia de amostragem de carcaças para análises microbiológicas. Estão descritos os métodos de amostragem destrutivos e não destrutivos, a escolha dos pontos de amostragem e as normas de armazenagem e transporte. Em seu Anexo A estão descritos os locais de amostragem a serem escolhidos dependendo das operações no matadouro e da espécie animal. Para os bovinos foram estabelecidos 15 pontos para amostragem na carcaça (Figura 03), dentre estes, peito (“brisket”), “forerib”, flank (“flank”), virilha flank (“flank groin”) e lateral da perna posterior (“round, lateral”) foram considerados os pontos com maior prevalência de contaminação, sendo ilustrados respectivamente pelos números 02, 03, 04, 06 e 08 na Figura 03 (ISO, 2003).

O Anexo C dessa mesma normativa faz uma comparação entre o método destrutivo (excisão) e o método não destrutivo (esponja). As vantagens na utilização do método destrutivo são: a excisão da superfície coleta todas as bactérias na superfície enquanto outros métodos não; o método resulta em contagens elevadas; nem todas as bactérias na superfície podem ser removidas por qualquer método ou crescer em meios e condições de incubação utilizadas; a repetibilidade e reprodutividade dos métodos destrutivos são menos variáveis, pois o método de amostragem usado no método não destrutivo apresenta uma maior variabilidade do operador.

Ainda segundo esse anexo às desvantagens do método destrutivo são: somente uma pequena porção da carcaça é amostrada pelo método destrutivo, o que pode resultar em uma imprecisão significativa quando contaminação total é baixa e distribuída heterogeneamente, ou quando a presença de um patógeno alvo é escasso; a excisão causa danos na carcaça, o que pode ser comercialmente inaceitável. O Quadro 01 resume a avaliação comparativa executada entre as duas técnicas (ISO, 2003).

Quadro 01 - Avaliação dos métodos de suabe e excisão.

<b>Método de avaliação</b>	<b>Excisão</b>	<b>Suabe</b>
Sensitividade	79%	50%
Especificidade	100%	100%
Valor preditivo positivo	100%	100%
Valor preditivo negativo	84%	70%
Precisão	90%	77%
Prevalência aparente	37%	23%
Prevalência verdadeira	47%	47%

Fonte: ISO 17604: 2003.

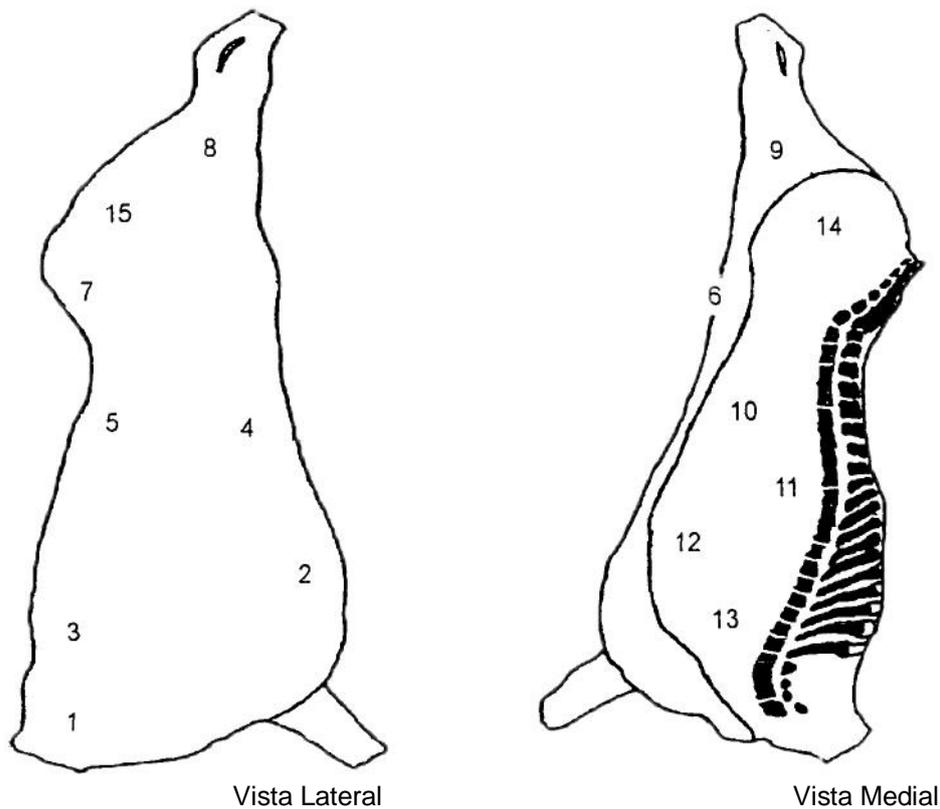


Figura 03 – Bovinos: Exemplos de locais de amostragem conforme ISO 17604:2003.

### 3.3.3.2 Placas 3M Petrifilm™

As placas de contagem 3M Petrifilm™ são frequentemente utilizadas pela indústria de alimentos para a enumeração de BHAM, *L. monocytogenes*, *S. aureus* e bactérias da família *Enterobacteriaceae* em alimentos ou superfícies de contato, com recuperações comparáveis aos tradicionais métodos de plaqueamento bacteriano (FEDIO et al., 2008; FERRAZ et al., 2007; PAULSEN et al., 2008; SILVA et al., 2005; TASSINARI et al., 2006; VIÇOSA et al., 2010).

As Placas 3M Petrifilm™ são sistemas prontos de meio cultura que contém diferentes tipos de nutrientes, géis hidrossolúveis a frio, corantes e indicadores adequados à recuperação de cada tipo de microorganismo pesquisado. Constituem um método conveniente e seguro para detecção de contaminação microbiana em produto e ambiente. São constituídas de forma a permitir sua utilização para amostragem de ar e também monitoramento de superfícies por contato direto ou através do uso de suabe. Garantem eficiência, pois reduzem as análises microbiológicas a 3 simples, padronizadas e rápidas etapas, fornecendo resultados consistentes e de fácil leitura (3M, 2012a).

Foram desenvolvidas as placas para contagem: aeróbios (“3M™ Petrifilm Aerobic Count Plates (AC)”), coliformes (“3M™ Petrifilm™ Coliform Count Plates (CC)”), enterobactérias (“3M™ Petrifilm™ Enterobacteriaceae Count Plates (EB)”), *E. coli* (“3M™ Petrifilm™ E. coli Count Plates (EC)”), fungos e leveduras (“3M™ Petrifilm™ Yeast and Mold Count Plates (YM)”), *S. aureus* (“3M™ Petrifilm™ Staph Express Count Plates (STX)”) e *Listeria monocytogenes* (“3M™ Petrifilm™ Environmental Listeria Plates (EL)”). Todas são metodologias reconhecidas como “AOAC™ INTERNATIONAL *Official Methods of Analysis*” (3M, 2012b).

O método de contagem de BHAM em Petrifilm™ (AOAC 990.12/989.10/986.33) é uma modificação da contagem de células viáveis em placas. É composto por dois filmes estéreis, reidratáveis, impregnados por substâncias geleificantes solúveis em água fria, pelo meio de cultura (similar ao Agar Padrão para Contagem – PCA) e por um indicador de tetrazólio (torna as colônias vermelhas, facilitando a contagem) (SILVA et al., 2010).

A contagem de enterobactérias pelo método Petrifilm™ se assemelha a contagem para aeróbios, a inoculação é feita no filme inferior que, depois de inoculado, é coberto pelo filme superior. O inóculo é espalhado com um difusor de plástico, por leve pressão manual e, depois da solidificação do gel, as placas são incubadas para desenvolvimento das colônias. O meio de cultura é o Vermelho Violeta Bile Glicose (VRBG) suplementado com cloreto de trifeniltetrazolium (indicador que, ao sofrer redução, confere coloração vermelha as colônias) e com um indicador de pH (para detectar a fermentação com produção de ácido, com ou sem produção de gás). As colônias típicas são vermelhas, com um halo amarelo e associadas ou não com bolhas de gás (SILVA et al., 2010).

A AOAC validou vários tipos de Petrifilm™ para coliformes totais e *E. coli*, com diferentes escopos de aplicação. O “Petrifilm E. coli Count Plate” (AOAC Official Methods 991.14 e 998.08) para coliformes totais e *E. coli* em alimentos. O meio de cultura base é o Vermelho Violeta Bile (VRB), seletivo para enterobactérias, suplementado com cloreto de trifeniltetrazolium (TTC). O meio contém lactose que, fermentada pelos coliformes ou *E. coli*, produz bolhas de gás em torno das colônias. Contém ainda BCIG, substrato cromogênico para  $\beta$ -glicuronidase (ou,  $\beta$ -glucuronidase), 5-bromo-4-cloro-3-indolil- $\beta$ -D-glicuronídeo (BCIG), que permite diferenciar *E. coli* pela formação de um precipitado azul em torno das colônias (SILVA et al., 2010).

A maioria das cepas de *E. coli* (cerca de 97%) possui beta-glucuronidase na qual forma um precipitado azul associado a colônia. O filme retém o gás formado pelos coliformes

e *E. coli* que são fermentadores da lactose. Cerca de 95% das *E. coli* são associadas à produção de gás e formação de colônias azuis a vermelho-azuladas (3M, 2012e).

Na AOAC e “U.S. Bacteriological Analytical Manual (BAM)” os coliformes são definidos como bacilos Gram-negativos produtores de ácido e gás a partir da lactose durante a fermentação metabólica. Colônias de coliformes que crescem na placa para *E. coli* produzem ácido, fazendo com que o indicador de pH torne a cor do gel vermelho mais escuro. O gás retido ao redor das colônias vermelhas indica coliformes confirmados (AOAC, 2005).

A placa “3M Petrifilm™ Staph Express” é um sistema de meio de cultura que contém um agente geleificante solúvel em água fria. O meio cromogênico, Baird-Parker modificado na placa, é seletivo e diferencial para *Staphylococcus aureus*. Colônias vermelho-violetas na placa são *S. aureus*. Quando somente colônias vermelho-violetas são observadas, contar as colônias; o teste está finalizado (3M, 2012c).

Quando for encontrado uma microbiota contaminante, o Disco Petrifilm™ Staph Express deve ser usado para identificar *S. aureus* entre as colônias suspeitas. O disco deve ser usado quando colônias diferentes das vermelho-violetas estão presentes na placa: por exemplo, colônias pretas ou azuis-esverdeadas. O Disco Petrifilm™ Staph Express contém um indicador e um ácido desoxirribonucleico (DNA). O *S. aureus* produz desoxirribonuclease (DNase) e a DNase reage com o indicador para formar halos rosados. O Petrifilm™ Staph Express contém azul de toluidina que facilita a visualização de desoxirribonucleases. Quando o disco é inserido na placa, *S. aureus* (e ocasionalmente, *Staphylococcus hyicus* e *Staphylococcus intermedius*) produz um halo rosado. Outros tipos de bactérias não produzem halos rosados. *S. aureus*, *S. hyicus* e *S. intermedius* compreendem a maioria do grupo de microrganismos comumente conhecidos como estafilococos coagulase-positivos (3M, 2012c).

### 3.3.4 Controle higiênico-sanitário de carcaças bovinas

A produção de alimentos seguros é uma prioridade para as autoridades e consumidores em todo o mundo. Os objetivos da produção de alimentos seguros e a utilização do APPCC estão sendo lançados mundialmente. Na união europeia pacotes legislativos de higiene estão em vigor (EU, 2002; 2004a; 2004b; 2004c; 2004d), como também, critérios microbiológicos (EU, 2005a; 2005b).

A metodologia de amostragem, coleta e análise para avaliação higiênico-sanitária de carcaças bovinas tem sido regida pela norma ISO 17604:2003 (ISO, 2003). Contudo, os

parâmetros para avaliação dos resultados variam de acordo com o país e a metodologia de coleta utilizada.

Recentemente na Comissão Europeia foi adotado novo regulamento relativo a critérios microbiológicos para produtos alimentares. Este regulamento introduz dois tipos diferentes de critérios; critérios de segurança e critérios de higiene dos processos. O UE Critérios de Segurança dos Alimentos, “EU Food Safety Criteria”, define a aceitabilidade dos alimentos colocados no mercado, se o critério não for atendido, o produto/lote deve ser retirado. O UE Critério de Processo Higiênico, “Process Hygiene Criteria” (PHC), é um indicador do funcionamento aceitável da Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) baseado no sistema de produção, manuseio e distribuição de processos, por isso é aplicável no nível do processo. Estabelece um valor de contaminação indicativo acima do qual as ações corretivas são exigidas, se o critério não for atendido, o processo deve ser revisto e melhorado (EU, 2005a; UE, 2007).

Na União Europeia foi estabelecido BHAM, Enterobactérias e *Salmonella* spp. para o controle microbiano de carcaças quentes (UE, 2001; EU, 2005a). Os critérios de desempenho são compostos por um plano de três classes, as amostras são atribuídas a uma das três categorias (aceitável, marginal ou inaceitável) com base no nível médio de contaminação presente a partir de quatro locais diferentes da carcaça. Para BHAM,  $m = 3,5 \log \text{UFC/cm}^2$ ,  $M = 5,0 \log \text{UFC/cm}^2$ . Para Enterobactérias,  $m = 1,5 \log \text{UFC/cm}^2$ ,  $M = 2,5 \log \text{UFC/cm}^2$ . As amostras podem ser coletadas por excisão (recomendado) ou esfregaço (esponja). Os critérios variam de acordo com o método de coleta, visto que as amostras coletadas por esfregaço arrastam apenas 20% ou menos da população bacteriana geralmente recuperada pelo método destrutivo (UE, 2001). Nesses mandatos são regulamentados BHAM, Enterobactérias e *Salmonella* spp como indicadores bacterianos de higiene e contaminação fecal em carcaças antes do resfriamento, mas não monitoram o efeito do frio sobre condição higiênico sanitária da carcaça (UE, 2001; EU, 2005a) e nem estabelecem a avaliação de *Escherichia coli*.

No Comitê Científico da Agência Federal de Segurança da Cadeia Alimentar foi estabelecido que quando for utilizada a metodologia não destrutiva deve-se partir de uma fração de células recuperadas de 0,5 log (20-50%), inferior ao número de células que poderiam ser obtidas com o método destrutivo. Deste modo, os limites para o método não destrutivo são: BHAM,  $m = 3,0 \log \text{UFC/cm}^2$ ,  $M = 4,5 \log \text{UFC/cm}^2$ . Para Enterobactérias,  $m = 1,0 \log \text{UFC/cm}^2$ ,  $M = 2,0 \log \text{UFC/cm}^2$ . O comitê também recomenda que se utilize o limite de detecção dividido por dois para o cálculo de médias diárias inferiores ao limite de detecção (AFSCA, 2006a).

Nos Estados Unidos (EUA) e Austrália a refrigeração é usada como um Ponto Crítico de Controle (PCC), como parte do programa de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) para melhorar a segurança da carcaça (USA, 1996; AUS, 2004).

A base do sistema APPCC em relação à carne fresca é que o número de organismos patogênicos na superfície das carcaças deve ser reduzido ou seu crescimento cessado, uma vez que a total eliminação não é possível (SHERIDAN, 2000). Para a implantação da refrigeração como um Ponto Crítico de Controle (PCC) para controlar o crescimento de agentes patogênicos em carcaças, limites críticos devem ser estabelecidos e validados em cada estabelecimento. Parâmetros de temperatura de refrigeração, espaçamento de carcaça, velocidade do ar e umidade relativa devem ser estabelecidos para cada planta (AUS, 2004; AUS, 2007; GILL; JONES, 1997; SHERIDAN, 2000).

Em 2004, o FSIS reforça através da Diretiva 6420.2 o padrão de tolerância zero para contaminação visível de conteúdo fecal, ingesta ou leite em carcaças, com enfoque em verificações na linha dos pontos cabeças, bochecha e carne do refile da traqueia nos estabelecimentos inspecionados que abatem bovinos. A mesma diretiva, além de fornecer a metodologia para ausência de contaminação visível de conteúdo fecal na linha de abate, preconiza que carcaças, órgãos ou outras partes devem ser manuseadas de maneira sanitária para prevenir contaminações por conteúdo fecal, urina, bile, cabelo ou corpos estranhos, entretanto, se a contaminação ocorrer, deve ser removida imediatamente de forma satisfatória pelo inspetor (USA, 2004).

Em julho de 1996, foi publicado pelo FSIS nos EUA o “Pathogen Reduction; Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP) Systems; Final Rule”, que estabeleceu requisitos para os estabelecimentos de abate a fim de: reduzir a ocorrência de microrganismos patogênicos nos produtos; reduzir a incidência de doenças associadas ao consumo desses alimentos; e fornecer subsídios para a modernização do sistema de inspeção (USA, 1996).

Os Estados Unidos estipularam critérios microbiológicos com base em estudo do histórico microbiológico de seus estabelecimentos e definiram critérios de amostragem e limites para *E. coli* ( $n = 13, c = 3, m = 0$  e  $M = 100 \text{ UFC/cm}^2$ ) e *Salmonella* spp. ( $n = 82; c = 1$ ) pelo método não destrutivo (USA, 1996).

O FSIS verificou que utilizar probabilidades de ocorrências de resultados aceitáveis ( $m = 0$ , isto é, limite de detecção da análise) inferiores a 80% permite maior frequência de falhas no processo, por outro lado probabilidades acima de 80% dificultam a diferenciação de desvios pontuais de efetivos, determinando uma tomada de ações excessivas ou desnecessárias. Portanto, ficou definido que um resultado inaceitável ( $>M = 100 \text{ UFC/cm}^2$ ) ou

mais de três resultados marginais (entre  $m$  e  $M$ ) em 13 análises consecutivas devem disparar (alertar) ações imediatas para rever o controle do processo. Assim, encontrar mais de três resultados marginais no intervalo de 13 amostras, isto é, mais de 23,07% de presença, é um indicativo da ocorrência de falhas nos processos de abate e resfriamento. Esse sistema é também chamado de “Janela Móvel” (ANTONANGELO, 2012; CASAGRANDE, 2011; USA, 1996).

Sistemas de controle contínuo dos processos operacionais, chamados de “Janelas Móveis”, são exigidos pelos EUA (*E. coli* →  $n = 13$ ,  $c = 3$ ,  $m = 0$  e  $M = 100$  UFC/cm<sup>2</sup>) (USA, 1996) e Austrália (*E. coli* →  $n = 15$ ,  $c = 3$ ,  $m = 0$  e  $M = 20$  UFC/cm<sup>2</sup>; BHAM →  $n = 15$ ,  $c = 3$ ,  $m = 3$  log UFC/cm<sup>2</sup> e  $M = 4,5$  log UFC/cm<sup>2</sup>) (AUS, 2000; AUS 2003; AUS, 2007) e visam a manutenção e garantia da qualidade higiênico-sanitária de meias carcaças bovinas nos matadouros frigoríficos. Estes sistemas consistem em análises bacterianas de meias carcaças em frequências estabelecidas utilizando métodos analíticos rápidos que com base em limites estabelecidos ( $m$  e  $M$ ) os resultados podem ser classificados em aceitáveis, marginais ou inaceitáveis. Esses sistemas variam de acordo com a legislação e a bactéria indicadora utilizada, mas de um modo geral três resultados marginais ou um inaceitável em  $n$  análises consecutivas “disparam” a janela para a necessidade de ações corretivas e preventivas a serem tomadas pelo controle de qualidade das indústrias. Essas ações ocorrem sobre operações e/ou planos (descrições escritas dos programas de autocontrole) para que novos alertas não aconteçam. A cada novo resultado analítico o último das  $n$  análises é desconsiderado (ANTONANGELO, 2012; CASAGRANDE, 2011; USA, 1996; AUS, 2000; AUS 2003; AUS, 2007).

Austrália e os EUA têm incorporado com sucesso a refrigeração no plano APPCC (JORDAN et al., 2006; SUMNER et al., 2003). Na Austrália, três estudos de base executados durante 11 anos mostraram uma melhoria na qualidade microbiológica das carcaças de bovinos e esta melhora foi atribuída em parte ao investimento em sistemas de refrigeração (PHILIPS et al., 2006). O terceiro e último levantamento australiano da condição bacteriana de carcaças bovinas foi concluído em 2004. As 1155 carcaças resfriadas avaliadas por todo o país mostraram uma prevalência absoluta de BHAM de 96% com contagem média de 1,3 log UFC/cm<sup>2</sup> (mediana de 1,2 log UFC/cm<sup>2</sup>). Para *E.coli*, 8% e -0,8 log UFC/cm<sup>2</sup> de média (mediana de -1,1 log UFC/cm<sup>2</sup>). Enterobactérias tiveram ocorrência de 20,5% e média das contagens de -0,6 log UFC/cm<sup>2</sup>, sendo a mediana -0,8 log UFC/cm<sup>2</sup>. Já *S. aureus* teve uma prevalência de 28,7%, com média de contagem de 0,3 UFC/cm<sup>2</sup>, sendo a mediana de 0,3 log UFC/cm<sup>2</sup> (PHILLIPS et al., 2006).

Na Austrália foi adotado o sistema da “Janela Móvel” adequando-se a legislação americana, contudo, adaptou o sistema a sua realidade criando um novo limite para *E. coli* ( $n = 15$ ,  $c = 3$ ,  $m = 0$  e  $M = 20$  ufc/ cm<sup>2</sup>). No AQIS foi adotado uma janela móvel de 15 análises consecutivas, mantendo assim uma probabilidade de 20% de encontrar resultados insatisfatórios, muito semelhante ao americano. Adicionaram também o “reset” da janela móvel, isto é, após o alerta pela ocorrência de três marginais ou um inaceitável, será reiniciada a contagem das análises mesmo que não tenha sido atingido um total de 15 resultados. Baseado nos resultados dos estabelecimentos nacionais, também foi implantado a pesquisa de *Salmonella* sp equivalente ao EUA ( $n = 82$ ,  $c = 1$ ) e aprimorado o programa de contagem BHAM baseado na frequência de amostragem e critério de avaliação dos resultados no seu programa preestabelecido para *E. coli* e *Salmonella* spp, adotando os limites  $n = 15$ ,  $c = 3$ ,  $m = 3$  log UFC/cm<sup>2</sup> e  $M = 4,5$  log UFC/cm<sup>2</sup> (AUS, 2000; AUS 2003; AUS 2007).

No Brasil foram estipulados os critérios microbiológicos baseados na legislação americana e europeia nos estabelecimentos habilitados para estes países, estabelecendo critérios para *Salmonella* pela técnica não destrutiva ( $n = 82$ ;  $c = 1$ ) e BHAM (limite aceitável, marginal e inaceitável, respectivamente  $< 3,5 \times 10^3$ ,  $\geq 3,5 \times 10^3 < 10^5$  e  $\geq 10^5$  UFC/cm<sup>2</sup>) independente da técnica de coleta. Para *E. coli* os limites não são pré-estabelecidos, para cada estabelecimento devem ser calculados em função dos resultados de uma série histórica (BRASIL, 2006a; BRASIL 2006b).

Nos estabelecimentos de mercado interno e exportação para os demais países são utilizados os testes para BHAM e *E. coli* através de um programa oficial de controle microbiológico em carcaças bovinas com a finalidade estabelecer uma referencia nacional para avaliar a efetividade dos programas de autocontrole (BRASIL, 2012).

No Brasil, na RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001, foi estabelecido o Regulamento Técnico Sobre Padrões Microbiológicos Para Alimentos, nele são determinados os limites para contagem de estafilococcus coagulasse positiva em produtos cárneos crus, refrigerados ou congelados (amostra indicativa  $\rightarrow 5 \times 10^3$ ; amostra representativa  $\rightarrow n = 5$ ,  $c = 2$ ,  $m = 10^3$  e  $M = 5.10^3$ ), carnes embaladas a vácuo (amostra indicativa  $\rightarrow 3 \times 10^3$ ; amostra representativa  $\rightarrow n = 5$ ,  $c = 2$ ,  $m = 5 \times 10^2$  e  $M = 3.10^3$ ), produtos cárneos fracionados ou fatiados (amostra indicativa  $\rightarrow 3 \times 10^3$ ; amostra representativa  $\rightarrow n = 5$ ,  $c = 1$ ,  $m = 10^2$  e  $M = 3.10^3$ ) (BRASIL, 2001).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 CONDIÇÕES AMBIENTAIS E EXPERIMENTAIS

Os estudos foram realizados em um matadouro-frigorífico de bovinos localizado no Estado do Mato Grosso (Brasil) sob fiscalização permanente do Serviço de Inspeção Federal (SIF). O estabelecimento é habilitado para comércio nacional e internacional (União Europeia, Estados Unidos da América). Possui, também, todos os programas de autocontrole implantados e funcionais, conforme estabelecido nas circulares: nº 175/2005 e nº 176/2005 do Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal - DIPOA (BRASIL, 2005a; 2005b).

As análises bacterianas e físico-químicas foram realizadas em laboratório credenciado pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) localizado dentro da própria unidade.

O estudo foi realizado em duas etapas, a primeira (avaliação higiênico-sanitária) foi realizada com 60 animais no período de 21 de março a 03 de abril de 2012. A segunda etapa (avaliação da perda de peso) ocorreu com 42 animais no período de 17 a 22 de novembro de 2012.

### 4.2 PRIMEIRA ETAPA DO ESTUDO

Para o pré-experimento foram selecionadas aleatoriamente duas meias carcaças quentes e duas meias carcaças resfriadas para estabelecer a estratégia de operacionalização, padronização das técnicas, quantificação de material e pessoal, definição das equipes de trabalho e respectivas funções, posicionamento de plataformas, equipamentos e pessoal, como também, tempo necessário para realização das coletas e mensurações.

As possíveis alterações no fluxograma de abate, quarteio e desossa como também, no gerenciamento das câmaras de resfriamento, foram estudadas para minimizar impactos nas atividades rotineiras do estabelecimento.

#### 4.2.1 Material necessário

Para a execução do experimento foram utilizados “Data loggers”, peagômetros, termômetros “tipo espeto”, caixas isotérmicas, gelo reciclável, pissetas de álcool 70%, rolos

de papel toalha de primeiro uso, luvas esterilizadas, esponjas estéreis próprias para coleta em carcaça, sacos plásticos, Solução Salina Peptonada Tamponada Estéril (SSPT), microtubos do tipo “Eppendorf” com 1,5 ml de solução salina 0,1%, hastes flexíveis com ponta de algodão estéril, lápis cópia, pissetas de água destilada, três canetas para retroprojeto, máscaras descartáveis, aventais, mangotes, luvas de borracha, lâminas de bisturi, pinças dente de rato, cabos de bisturi esterilizados, trena de 5 m, filmadora, máquina fotográfica, pilhas alcalinas (AA).

Foram utilizadas plataformas de aço inox e luminária específica para coleta em meia carcaça. Moldes de 10 cm x 10 cm, 15 cm x 27 cm e 10 cm x 40 cm (aço inox) foram fabricados, revestidos e auto clavados para a demarcação das regiões de coleta. Suportes de bandeja, bandejas brancas e lixeiras também foram utilizados. Todos estes materiais foram devidamente higienizados. Os moldes, cabos de bisturi, pinças e soluções utilizadas foram esterilizadas em autoclave vertical.

Foram utilizados cinco rolos de polietileno de baixa densidade linear de 2,5kg e 0,5m de largura nominal, de nome comercial Filme Winpack 50cm da marca Ag-remy Stretch Film do Brasil Ltda para revestimento das meias carcaças. São filmes plásticos incolores, sem impressão, com reforço triplo e margens dobradas para reforço de bordas.

Estas bobinas (Figura 04) possuíam certificado de análise microbiológica para contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (BHAM), coliformes a 35°C e coliformes a 45°C. Todas estas análises tiveram como resultado < 5 UFC est.



Figura 04 - Rolo de polietileno de baixa densidade usado para revestimento das meias carcaças

#### 4.2.2 Verificação e calibração dos equipamentos necessários

Os termômetros “tipo espeto” são calibrados anualmente por empresa terceirizada e sofrem verificação diária. Tolera-se uma variação máxima de  $\pm 0,5^\circ\text{C}$ . Os peagômetros passam por calibração externa (padrão) anualmente por empresa terceirizada e sofrem calibração interna diariamente antes de sua utilização e ao término de cada

câmara de resfriamento de bovinos finalizada. As calibrações internas são realizadas com soluções padrões de pH 4,0 e pH 7,0. Utiliza-se água destilada para limpeza e papel toalha branco e neutro para secar a sonda. Os “Data Loggers” também são calibrados anualmente e a sua verificação é quinzenal através de um banho padrão por comparação. Tolera-se uma variação máxima de  $\pm 1,0^{\circ}\text{C}$ . O aparelho mensurador da atividade de água também estava calibrado e ajustado.

#### 4.2.3 Ante mortem e abate dos animais selecionados

Foi utilizado o segundo lote de animais do abate do dia 28 de março de 2012, de 234 machos inteiros. Destes, foram utilizados 70 animais (Figura 05), sendo 38 mestiços e 32 da raça nelore. As carcaças desses animais tiveram peso médio de  $288,63 \pm 22,48$  kg. Esses foram considerados aptos para o mercado da União Europeia, Estados Unidos e Chile.

Esse lote (Figura 05) pertencia a propriedade distante 50km (20km pavimentado) do matadouro. O jejum e dieta hídrica para esse lote foi de aproximadamente 19 horas.



Figura 05 - (A) e (B) 70 animais selecionados divididos em dois currais.

No dia do abate, a movimentação dos animais iniciou às 08h57min, o primeiro animal foi insensibilizado às 09h13min (seqüência de abate 193) e o último às 09h55min (seqüência de abate 262).

O abate destes animais ocorreu dentro do padrão desejado, insensibilização bem executada, tempo insensibilização/sangria inferior a um minuto e mais de três minutos de sangria. Os Procedimentos Sanitários Operacionais (PSO) do abate foram monitorados e não houve inconformidades, como também o ponto crítico de controle 1B (PCC-1B) para contaminação gastrointestinal não teve desvios.

Na verificação da cronologia dentária na calha de sangria um animal não apresentava dentes permanentes (até 17 meses), 57 tinham dois dentes permanentes (18 a 24 meses), oito com quatro dentes (25 a 30 meses), dois com seis dentes permanentes (31 a 42 meses) e dois tinham oito dentes permanentes (mais de 42 meses de idade).

Nenhuma das 70 carcaças foi desviada para o Departamento de Inspeção Final (DIF), todas, até este ponto, mantiveram seus mercados de destino e não foram desclassificadas para a exportação.

As carcaças pesaram  $288,63 \pm 22,48\text{kg}$ . Todas as carcaças possuíam conformação retilínea. Sendo que 38 carcaças tinham acabamento de gordura ausente, 31 carcaças com acabamento escasso e apenas uma com acabamento mediano.

#### 4.2.4 Pontos de coleta e mensuração

A Figura 06 ilustra os pontos de coleta e mensuração executados nas 120 meias carcaças da primeira etapa, essas tiveram pH e temperatura aferidos, material para excisão em uma área de  $100\text{cm}^2$  coletados, como também, foram realizados esfregaços em três áreas de  $400\text{cm}^2$  com esponjas distintas. Os três pontos de coleta foram determinados com base nas instruções da ISO 17604:2003 (ISO, 2003) no que tange as áreas mais contaminadas em meias carcaças bovinas e nas três áreas de coleta exigidas pela legislação americana (USA, 1996). O tamanho da área foi definido através de comparativo com os  $300\text{cm}^2$  exigidos por amostra na legislação americana (USA, 1996) mais  $100\text{cm}^2$  de segurança.

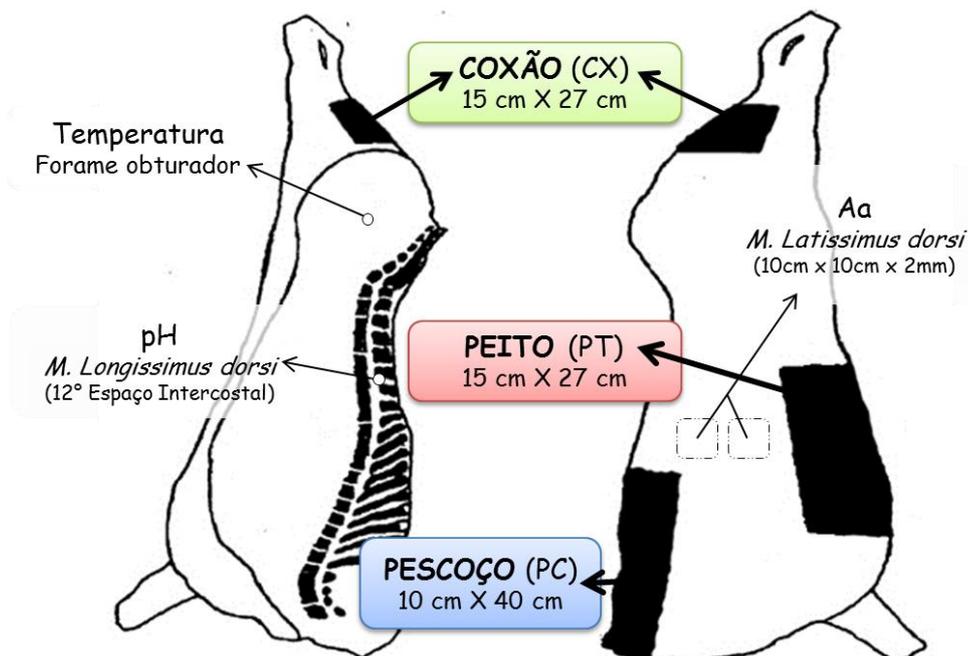


Figura 06 - Pontos de coleta em cada meia carcaça.

#### 4.2.5 Coletas e mensurações

Nos dias anteriores as coletas, todos os materiais e equipamentos necessários foram separados, identificados (Figura 07) e verificados. Imediatamente antes do início das operações, todas as esponjas necessárias para aquele dia de trabalho foram umedecidas com 10 ml de SSPT cada em câmara com fluxo laminar.



Figura 07 - Identificação das esponjas.

Todas as coletas e mensurações descritas abaixo foram realizadas nos dois dias de trabalho (meias carcaças quentes e resfriadas), com exceção das demarcações das áreas de coleta com lápis cópia.

##### 4.2.5.1 Coletas prévias

O uso de máscaras descartáveis e luvas estéreis, com exceção da equipe de adição da película plástica que colocou máscaras descartáveis, aventais, mangotes e luvas de borracha, foi obrigatório a todos os colaboradores do estudo.

A equipe que manipulou e revestiu as meias carcaças foi submetida, antes e depois das operações de cada dia, a suaves das mãos, mangotes e aventais. A coleta da mão foi realizada sobre a face palmar e entre os dedos, sendo considerada uma área de 150cm<sup>2</sup> (10cm x 15cm). Para o antebraço (mangotes) 250cm<sup>2</sup> (25cm x 10cm) e 400 cm<sup>2</sup> na região do peito para os aventais (20cm x 20cm), conforme Figura 09.



Figura 08 - (A) Suabe das bordas do rolo. (B) Suabe do início do rolo.

Posteriormente, foram executados suabes nas bordas dos cinco rolos plásticos, sendo coletadas amostras de ambas as bordas do rolo (diâmetro maior de 8,5cm e menor de 3,4cm), cada uma com 127cm<sup>2</sup>, somando ao todo uma área de 250cm<sup>2</sup> (Figura 08). Para a superfície da película foi analisada uma área de 4900cm<sup>2</sup> do início do rolo (1,0 m x 0,49 m).



Figura 09 - (A) Equipamentos para coleta prévia. (B) Suabe de mãos. (C) Suabe de mangote. (D) Suabe de avental.

#### 4.2.5.2 Mensuração do pH e temperatura

Para estabelecer as condições rotineiras de resfriamento e densidade de meias carcaças na câmara de resfriamento, foi escolhida uma câmara padrão, nova e com histórico de poucas oscilações na temperatura. A câmara escolhida tinha capacidade para 140 meias carcaças. Foram colocadas 140 meias carcaças na câmara, contudo, foram utilizadas no estudo apenas 120 meias carcaças (sequencial de 198A a 257B). Na sequência de entrada, as dez primeiras e as dez últimas meias carcaças foram desconsideradas. Isso foi realizado para manter a densidade de meias carcaças padrão da câmara.

A temperatura foi aferida na íntima muscular do coxão (*M. Obturatorius internus*, *M. Semimembranosus*) com termômetro “tipo espeto” digital da marca Texto, modelo 106, através do forame obturado. Todo o sensor do termômetro foi penetrado na musculatura, aguardou-se 30 segundos e travou-se o aparelho para posterior registro em planilha (Figura 10).

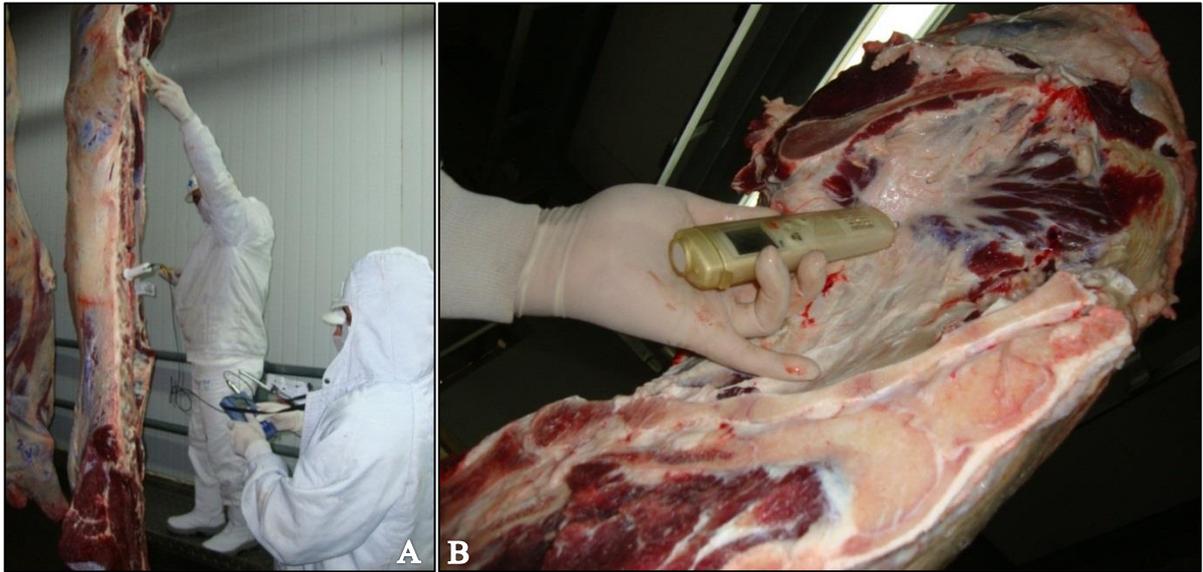


Figura 10 - (A) Equipe de mensuração do pH e temperatura. (B) Mensuração da temperatura no forame obturador.

O pH foi mensurado no *M. Longissimos dorsi* na altura entre a 12<sup>a</sup> e 13<sup>a</sup> costela (Figura 11) utilizando um peagômetro portátil da marca Mettler Toledo, modelo 1140, com agulha de 7 cm, eletrodo a 2cm da ponta da faca. Toda a agulha do peagômetro estava penetrada na musculatura, aguardou-se 30 segundos e travou-se o aparelho para posterior registro em planilha Os peagômetros foram calibrados antes e após o experimento, não foi constatada variação de leitura acima da variação aceitável.

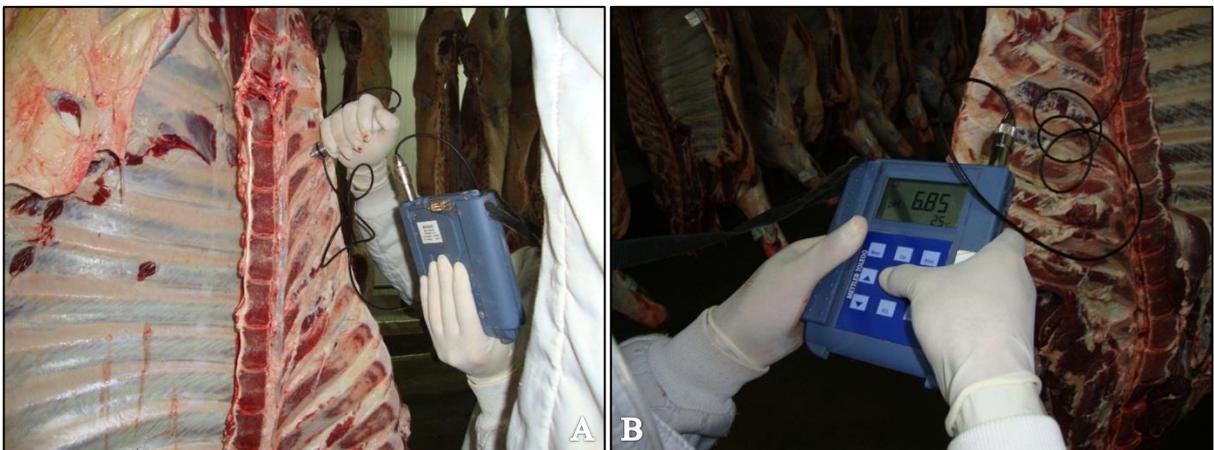


Figura 11 - (A) Mensuração do pH no *M. Longissimus dorsi*. (B) Valor de pH após estabilização de 30 segundos.

#### 4.2.5.3 Excisões para mensurar a atividade de água

O molde metálico de 15cm por 27cm foi utilizado para demarcar a região do coxão (*M. Semimembranosus*, *M. Semitendinosus*, *M. Biceps femoris*) e do peito (*M. Cutaneous trunci*, *M. Pectoralis superficialis*, *M. Pectoralis profundus*) com auxílio de lápis cópia (Figura 13 e 14). O molde de 10cm por 40cm foi utilizado para demarcar a região do pescoço (*M. Trapezius*, *M. Brachiocephalicus*, *M. Rhomboideus*) (Figura 14). Desta forma, foram delimitadas três regiões de 400 cm<sup>2</sup>, totalizando 1200cm<sup>2</sup> por meia carcaça.

O objetivo foi demarcar a área de coleta para posterior esfregação por esponja em carcaça quente e resfriada. Foram realizados pontos e pequenos traços, tamanho suficiente para ser visto, nos cantos e ao redor do perímetro para demarcar a área do molde (Figura 12). Foi importante sempre manter o lápis umidificado, caso contrário, não demarcava com clareza. Durante a demarcação manteve-se uma distância de 1 a 2 cm entre o molde e a meia carcaça durante a marcação, evitando assim o contato. Os moldes foram dobrados conforme a região para facilitar a demarcação sem o contato.

Quando foram elaborados os tamanhos dos moldes, foi acrescentada uma área de segurança de 0,5 cm ao redor dos 400cm<sup>2</sup>, justamente para evitar as contaminações oriundas da demarcação com o lápis cópia e do possível contato dos moldes com a superfície das meias carcaças. Durante os esfregaços, evitou-se que a esponja esfregasse por cima do tracejado.

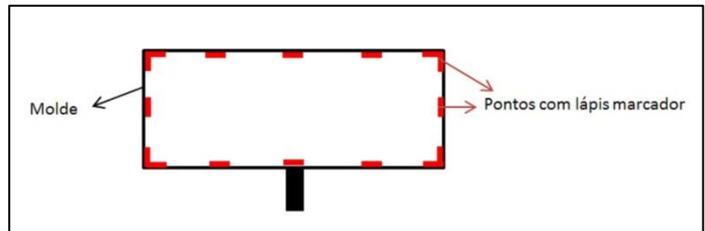


Figura 12 - Esquema de marcação da carcaça com o lápis cópia e molde.

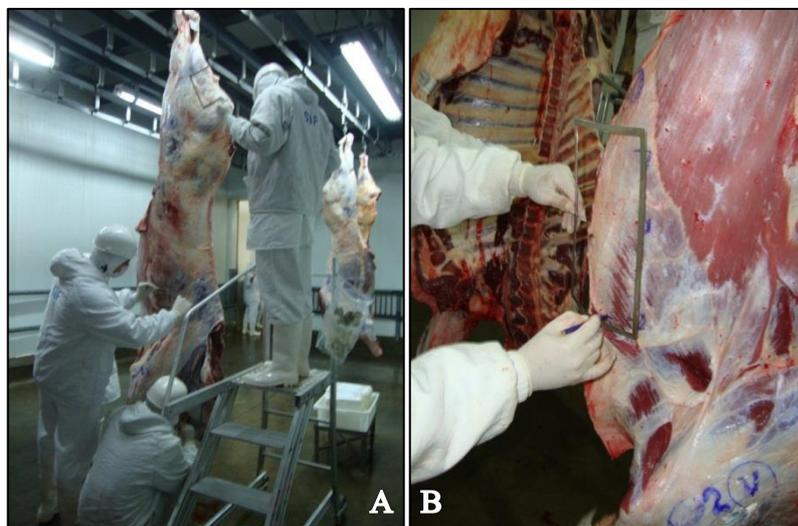


Figura 13 - (A) Equipe de delineamento do molde e excisão. (B) Delineamento da área (400cm<sup>2</sup>) de coleta no peito.



Figura 14 - Delineamento da área (400cm<sup>2</sup>) de coleta no coxão (A) e no pescoço (B).

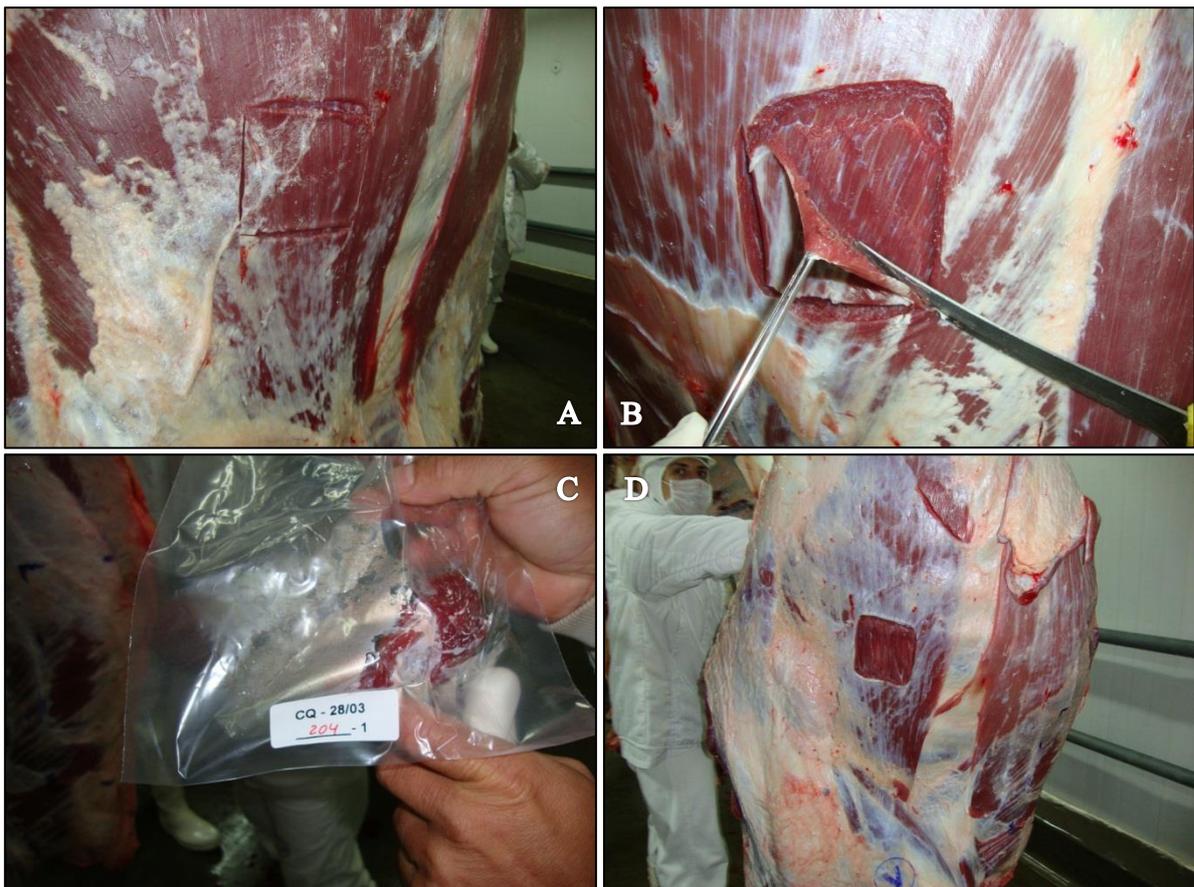


Figura 15 - (A) Demarcação do local de coleta. (B) Excisão. (C) Identificação. (D) Meia carcaça coletada.

Com um molde de aço inox de 10 cm por 10 cm e bisturi, foi executada demarcação ao redor da borda interna do molde sobre a superfície da carcaça na região do músculo grande

dorsal (*M. Cutaneous trunci*, *M. Latissimus dorsi*), caudal a paleta (Figura 15). Logo em seguida, com faca e pinça, retirou-se a amostra de 100 cm<sup>2</sup> tentando manter uma espessura de aproximadamente 2mm. Essa amostra foi colocada em saco devidamente identificado. Não foram realizadas excisões próximas das regiões de esfregaço por esponja.

A segunda excisão, com mesmas características, foi realizada ao lado da primeira, deixando um espaço aproximado de 01 cm entre elas.

#### 4.2.5.4 Esfregaços com esponja para análise bacteriológica

Considerada o ponto crucial para o sucesso do estudo, essa etapa foi executada com todos os cuidados antissépticos. Cada ponto de coleta teve um colaborador específico, como também, um auxiliar específico, mais duas pessoas para garantir a identificação e rastreabilidade das amostras coletadas, totalizando assim oito pessoas.

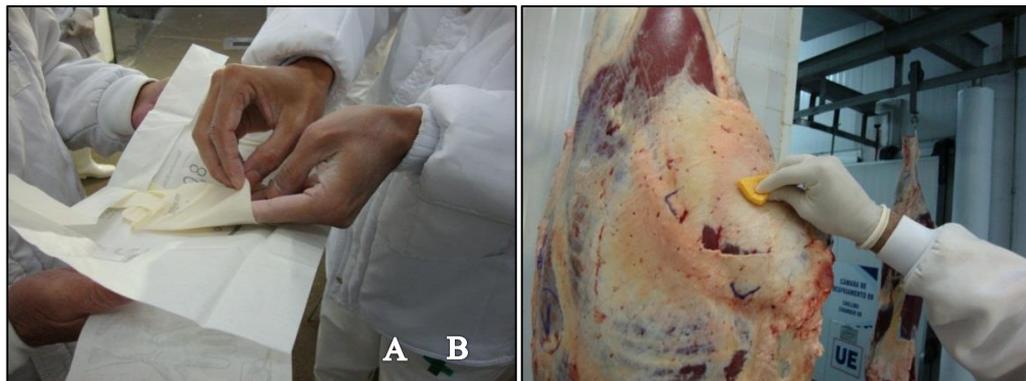


Figura 16 - (A) Luva estéril. Esfregaço com esponja estéril umidificada na região do coxão (B).

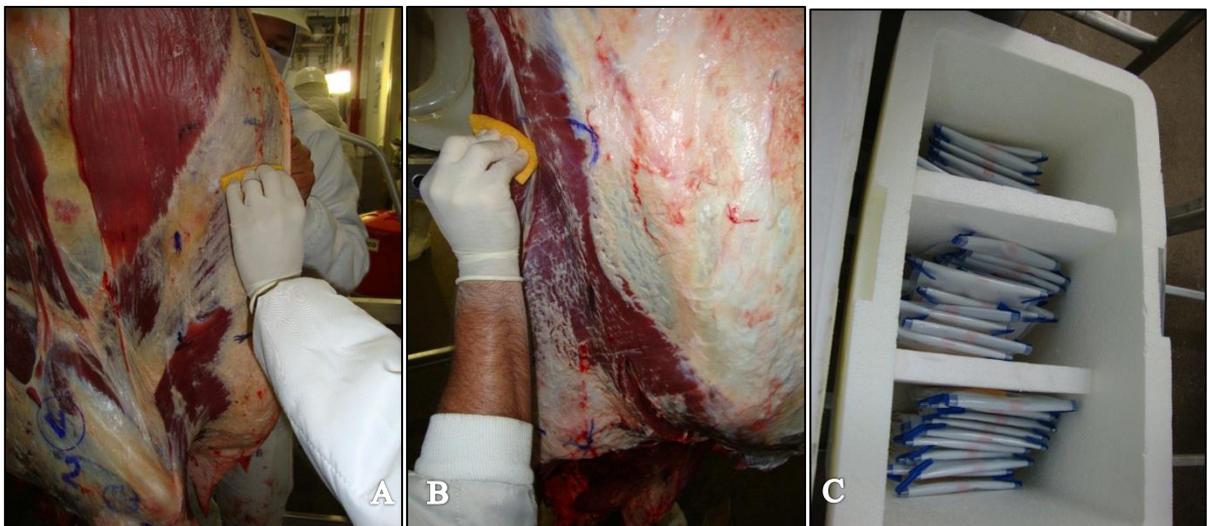


Figura 17 - Esfregaço com esponja estéril umidificada na região do peito (A) e pescoço (B). (C) Amostra em caixa isotérmica.

Utilizando uma luva estéril devidamente fornecida pelo auxiliar, e esponja previamente umedecida (10 ml de SSPT) oferecida de forma correta (asépticamente), cada colaborador fez o esfregão da área já demarcada, tentando sempre manter o mesmo padrão de pressão, sendo, 10 vezes no sentido vertical com um lado da esponja e 10 vezes no sentido horizontal com o outro lado da esponja. Foi tomado muito cuidado para que a esponja não ultrapassasse a área demarcada, como também, não passasse por cima dos pontos, fazendo com que a esponja se sujasse com a tinta (Figura 16 e Figura 17).

Após o esfregão, a esponja foi colocada na embalagem de coleta com a ajuda do auxiliar que posicionou o saco aberto para facilitar a colocação da esponja no seu interior, sem encostá-la na face externa da embalagem. O auxiliar retirou o excesso de ar existente no saco e fechou o mesmo. Essas esponjas (amostras) foram mantidas em refrigeração (4°C) até o momento da análise laboratorial.

Apenas para a coleta na região do coxão foi utilizada plataforma previamente higienizada. Durante o dia de coleta foram enviadas três remessas de amostras ao laboratório.

Em alguns momentos durante as operações, cada um dos três colaboradores responsáveis pela coleta tiveram um suabe realizado da luva estéril recém-colocada. Foi utilizado uma haste flexível com ponta de algodão estéril umidificada com Solução Salina Peptonada 0,1% Tamponada (SSPT). O suabe foi realizado por toda a superfície da luva e entre os dedos. O objetivo foi avaliar a condição de esterilidade da esponja e a técnica de colocação da luva.

Posteriormente, em laboratório, foi executada a análise microbiológica de cinco esponjas umidificadas com 10 ml de SSPT para verificar a esterilidade inicial.

#### 4.2.5.5 Revestimento das meias carcaças esquerdas

Após a conclusão das coletas do primeiro dia, as meias carcaças esquerdas foram transferidas a equipe responsável pelo revestimento devidamente paramentada com luvas de borracha, mangote e avental e munida de plataforma específica. Somente as meias carcaças esquerdas, ou bandas um (sem o cupim), foram revestidas por uma volta do filme plástico de forma que as bordas do filme se sobrepusessem em torno de 15 cm umas sobre as outras. A meia carcaça direita não foi envolvida, sendo considerada o grupo controle (Figura 18).

As 10 meias carcaças esquerdas que ficaram de fora das coletas também foram revestidas com o filme plástico.



Figura 18 - (A) Rolo de película plástica. (B) Adição do filme plástico.

Cada rolo de filme plástico possuía 4 kg e tinha capacidade para envolver 30 meias carcaças bovinas. Foi necessário aproximadamente 13,20m deste filme para envolver cada meia carcaça corretamente.

#### 4.2.6 Controle da temperatura durante o resfriamento

Para realizar o controle das temperaturas das meias carcaças tratamento e controle durante o resfriamento foram instalados 10 “Data logger” da marca Akso modelo 8835 (Figura 19). Estes foram dispostos nas duas meias carcaças de uma mesma carcaça, de forma que a meia carcaça tratamento e a meia carcaça controle da mesma carcaça fossem analisadas. Os “Data Loggers” das meias carcaças esquerdas foram colocados antes do revestimento na superfície do *M. Triceps branchii* (cabeça longa), logo abaixo da aponeurose do músculo. A disposição dos aparelhos é demonstrada na Figura 20.

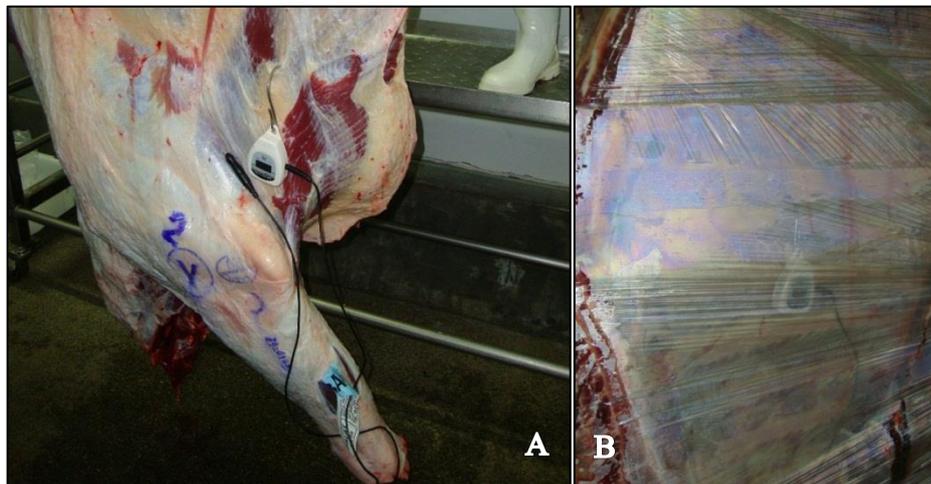


Figura 19 - (A) e (B) “Data logger” instalado.

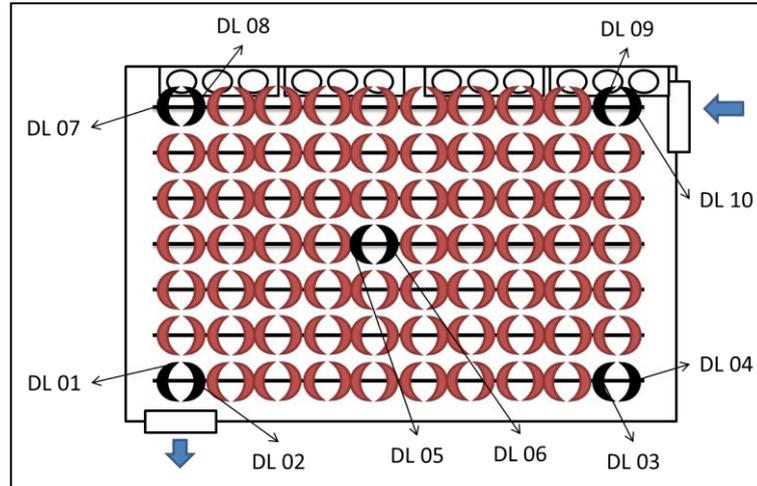


Figura 20 - Disposição dos "Data Loggers" (DL) nas meias carcaças dentro da Câmara de Resfriamento.

#### 4.2.7 Resfriamento (Maturação Sanitária)

A primeira meia carcaça (193A) entrou na câmara de resfriamento de carcaças às 10h03min (temperatura da câmara de 8,3°C) e a última meia carcaça (262B) às 10h56min (temperatura da câmara de 5,2°C). Foram colocadas 70 carcaças (140 meias carcaças), o espaçamento entre as meias carcaças foi de 0,375m (Figura 21 e Figura 22).



Figura 21 - (A) e (B) Meias carcaças tratamento e controle dentro da câmara.



Figura 22 - Meias carcaças tratamento e controle dentro da câmara.

Após a conclusão das coletas e revestimento da última meia carcaça esquerda com o filme plástico fez-se o fechamento da câmara, esta foi trancada e aberta após a conclusão da maturação sanitária.

A maturação sanitária consiste em submeter às meias carcaças a um resfriamento com temperatura sempre superior a 2°C por um período mínimo de 24 horas. Essa condição visa a manutenção de uma glicogenólise anaeróbia ideal, fazendo com que o pH da carcaça decline a níveis satisfatórios para a inativação do vírus da Febre Aftosa, menor que 6,0. Esse baixo pH da carne é uma exigência de alguns mercados importadores.

Com a conclusão do resfriamento, a primeira meia carcaça saiu da câmara às 14h28min (temperatura da câmara de 3,2°C), a última meia carcaça do experimento às 17h02min (temperatura da câmara de 5,3°C).

#### 4.2.8 Retirada do revestimento plástico

Após a conclusão da maturação sanitária e liberação da câmara para o quarteio (tendal), as meias carcaças esquerdas tiveram os filmes plásticos retirados pela mesma equipe responsável pelo revestimento na meia carcaça quente. Todos devidamente paramentados com

luvas de borracha, mangote, avental e munidos de plataforma específica. Após a retirada, as carcaças foram liberadas para as novas coletas e mensurações (Figura 23).



Figura 23 - Retirada da película plástica (A e B). Comparação entre meias carcaças controle e tratamento após a retirada da película plástica (C, D e E).

#### 4.2.9 Análises laboratoriais

Todas as amostras coletadas na dentro da fábrica foram encaminhadas ao óculo da sala de recepção do laboratório, nesse momento foi feita a organização sequencial das mesmas e registros de entrada, criando-se um número de protocolo de cada amostra para rastreabilidade interna do laboratório.

O laboratório possui rigorosas regras de biossegurança, como o uso de vestuário apropriado, como também, máscara, touca, avental e pró-pé descartáveis. Apresenta salas específicas e isoladas para cada função (sala de recepção, inoculação, incubação, contagem, almoxarifado e outras).

Como todas as análises realizadas fazem parte das de rotina do laboratório, seguindo inclusive metodologias aprovadas AOAC, os protocolos de execução foram mantidos (Figura 24) (AOAC, 2005).



Figura 24 - (A) Umidificação das esponjas com 10 ml de SSPT previamente aos esfregaços. (B) Recebimento de amostras no laboratório para controle interno.

#### 4.2.9.1 Determinação da atividade de água

Para a determinação da atividade de água, as amostras excisadas de cada meia carcaça foram trituradas individualmente por três minutos em um triturador doméstico da marca Britânia. Entre cada amostra o triturador era lavado com água e detergente comum, posteriormente seco com papel toalha branco de primeiro uso.

Um recipiente próprio que acompanha o aparelho foi colocado em uma balança da marca Ohaus, a balança foi tarada e logo em seguida foram pesados 5 g da amostra triturada (Figura 25).

Essa amostra foi colocada no analisador de atividade de água da marca Aqualab, modelo Series 3TE, após aproximadamente 10 minutos o aparelho emitiu o resultado da atividade de água da amostra como também a temperatura de execução da análise (Figura 26), os resultados foram registrados. Esse mesmo procedimento foi realizado com todas as amostras.

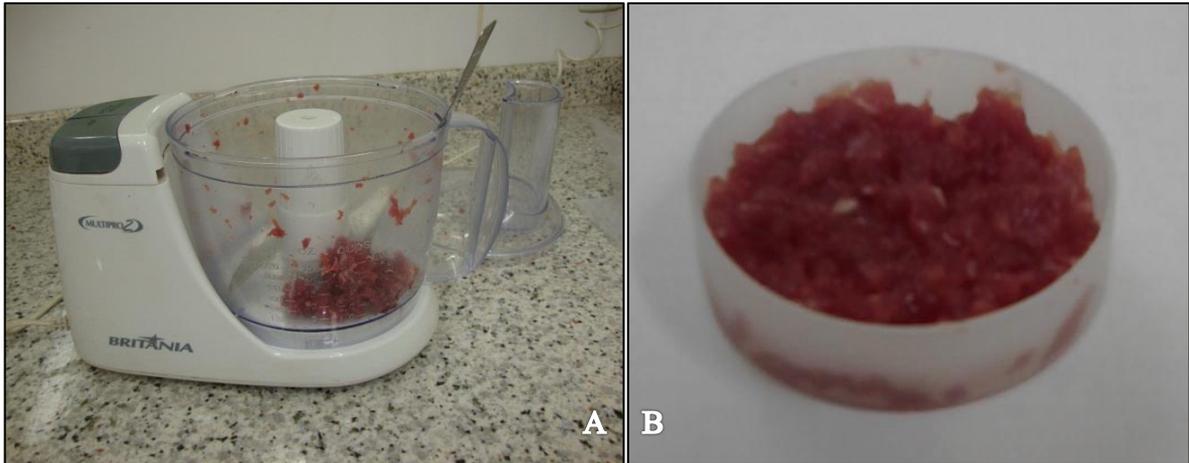


Figura 25 - (A) Trituração da amostra. (B) Preenchimento de recipiente para análise com 5 g da amostra.

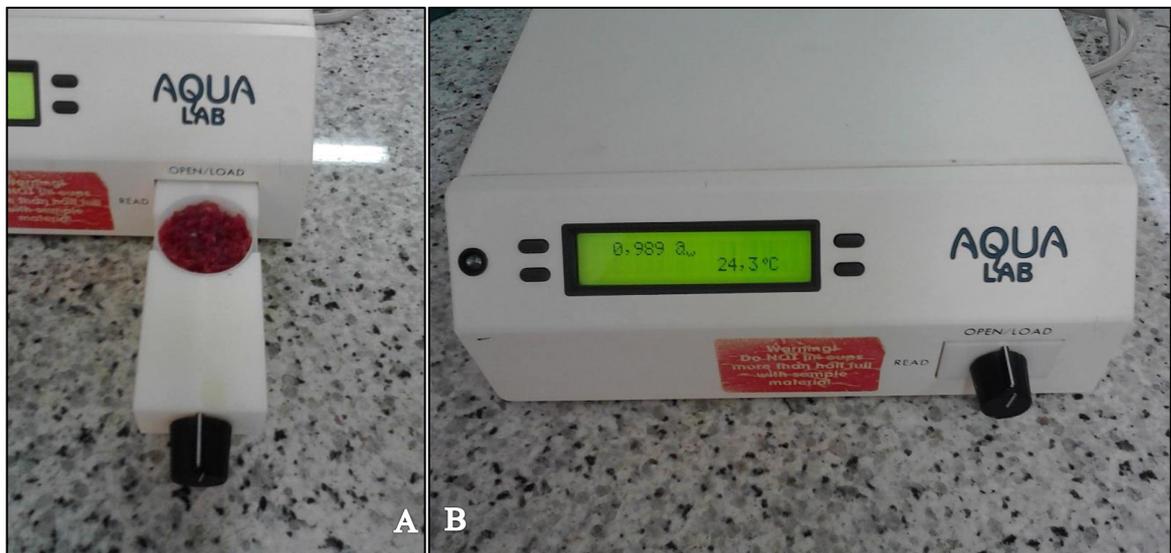


Figura 26 - (A) Posicionamento da amostra no aparelho. (B) Conclusão da análise com demonstração do resultado.

#### 4.2.9.2 Análise das amostras para contagens bacterianas

As análises iniciaram aproximadamente uma hora após o início das coletas dentro da do estabelecimento no primeiro dia e continuaram ininterruptamente até o término das amostras. Conforme as amostras eram coletadas eram enviadas em remessas para o laboratório. No dia anterior, todo o material necessário (instrumentos, vidrarias, meios) foi preparado.

Dentre os materiais utilizados estão placas 3M Petrifilm™, pipetas automáticas, difusores acrílicos, câmara de fluxo laminar, estufas de incubação, contadores de colônias.

As etapas basicamente consistiram em posicionar e identificar as placas 3M Petrifilm™, preparar a amostra, inocular a amostra, aplicar difusor, incubar, efetuar leitura, descontaminar as placas e, em seguida, descartar.

Duas análises microbiológicas seguiram as orientações da Decisão da Comissão Européia 471, de 21 de junho de 2001. Nessa normativa consta a instrução referente a contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (BHAM), também chamado de Contagem Total de Viáveis (CTV) e contagem de bactérias da família *Enterobacteriaceae* para avaliação microbiológica da superfície de meias carcaças bovinas (UE, 2001).

Segundo o “Pathogen Reduction; Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP) Systems; Final Rule” publicado pelo FSIS nos Estados Unidos em julho de 1996, e incrementado pelas Circulares nº 245/1996/DCI/DIPOA, 121/1997/DCI/DIPOA, 273/1997/DIPOA, 463/2004/DCI/DIPOA, 835/2006/CGPE/DIPOA e 1058/2008/CGPE/DIPOA, adota-se a *E. coli* como microrganismo indicador padrão de contaminação fecal, fundamental para verificação do sistema APPCC (USA, 1996b; BRASIL, 1996a, 1997a, 1997b, 2004, 2006b, 2008).

O *Staphylococcus aureus* é um importante indicador de manipulação operacional sem as devidas condições de boas práticas de fabricação. A RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001, Regulamento Técnico Sobre Padrões Microbiológicos Para Alimentos, estipula a contagem de estafilococo coagulase positiva em carne crua fresca e resfriada (BRASIL, 2001).

#### 4.2.9.3 Preparo das amostras

Após a coleta em carcaça, já no laboratório, dentro da capela de fluxo laminar com todos os requisitos de biossegurança e higiene seguidos, as amostras (esponja) receberam mais 15 ml de SSPT, totalizando assim 25 ml. Portanto, cada amostra possui 25 ml com a carga bacteriana do esfregaço de uma região de 400cm<sup>2</sup>. Logo em seguida, foi homogeneizada manualmente com vigor. Esse mesmo procedimento foi executado com todas as amostras de esponja. Já as amostras de suabe com haste flexível de algodão receberam 25 ml de SSPT, em seguida foram homogeneizadas manualmente com vigor.

Um litro de SSPT é basicamente composto por 1 g de peptona de carne, 0,9 g de cloreto de sódio, 3,5 g de fosfato de sódio bibásico anidro (NaHPO<sub>4</sub>) e 1,5 g de fosfato de potássio monobásico anidro (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) e um litro de água destilada (UE, 2001).

Cada amostra foi dividida em quatro análises microbiológicas, ou seja, quatro placas 3M Petrifilm™:

- ✓ Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (BHAM) utilizando a placa “Petrifilm™ Aerobic Count Plates (AC)”.
- ✓ Contagem de bactérias da família *Enterobacteriaceae* utilizando a placa “Petrifilm™ Enterobacteriaceae Count Plates (EB)”.
- ✓ Contagem de *Escherichia coli* utilizando a placa “Petrifilm™ *E. coli* Count Plates (EC)”.
- ✓ Contagem de *Staphylococcus aureus* utilizando a placa “Petrifilm™ Staph Express Count Plates (STX)” e quando necessário, o “Disco Petrifilm™ Staph Express”.



Figura 27 – Adição do SSPT.

#### 4.2.9.4 Inoculação

As inoculações foram realizadas imediatamente após o preparo das amostras dentro da capela de fluxo laminar. Ainda dentro da capela, em superfície lisa e plana, a partir de cada amostra homogeneizada foi adicionado 01 ml na placa EB, EC e STX (Figura 28). Para a placa AC foi adicionado um ml da amostra diluída homogeneizada a  $10^{-1}$  com SSPT (Figura 29). Para preparar a diluição  $10^{-1}$  transferiu-se 1 ml da amostra para um tubo com 9 ml de SSPT.

As inoculações nas quatro placas seguiram um mesmo princípio. Levantou-se o filme superior e com a pipeta perpendicularmente a placa, dispensou-se 01 ml da amostra homogeneizada no centro do filme inferior. Após, soltou-se o filme superior, deixando-o cair. Não se deve deslizar o filme. Colocou-se o difusor plástico, com o lado rebaixado para baixo, no centro da placa. Pressionou-se delicadamente o centro do difusor para distribuir a amostra uniformemente. Essa operação foi coordenada e rápida para poder espalhar o inoculo sobre toda a área de crescimento da placa Petrifilm™ antes do gel se formar. Não se deve girar nem arrastar o difusor sobre o filme. Com a completa dispersão, removeu-se o difusor e deixou-se a placa em repouso durante, pelo menos, um minuto para permitir a formação do gel (Figura 29).

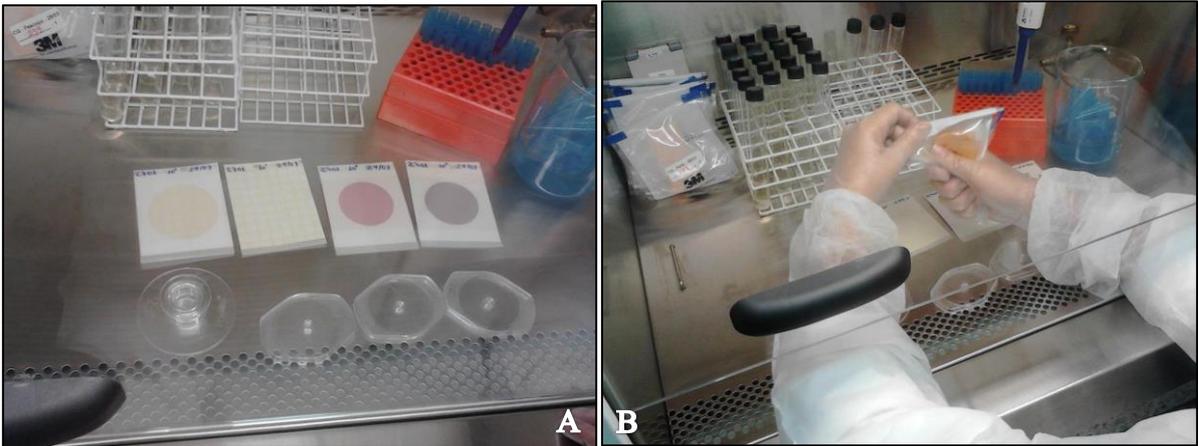


Figura 28 - (A) Placas novas identificadas. (B) Homogeneização manual da amostra.

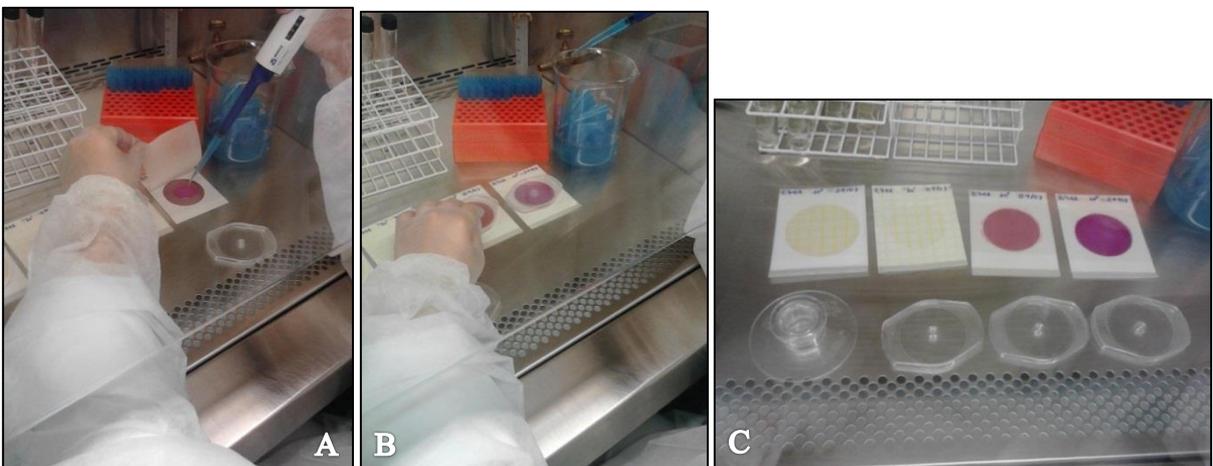


Figura 29 - (A) Inoculação de 01 ml na placa. (B) Uso do dispensor acrílico. (C) Placas prontas para incubação.

Ao término da inoculação das quatro placas da mesma amostra, passou-se aos trabalhos da próxima amostra. Ao término lote (determinado por intervalos horários), as placas foram dispostas em pilhas com no máximo 20 placas para seguirem às estufas de incubação.

#### 4.2.9.5 Incubação

Os quatro tipos de placas foram incubadas na posição horizontal com o lado transparente para cima em pilhas que não ultrapassem 20 placas, dispostas por amostras e não por tipo de placa (Figura 30). Foi fixada uma temperatura de  $36,5 \pm 1^\circ$  para a incubação de todos os tipos de placas (Figura 31). O tempo total foi variável para cada tipo de placa.



Figura 30 – (A) Pilhas de no máximo 20 placas na estufa. (B) Estufa de incubação.

BHAM seguiram a metodologia AOAC<sup>®</sup> Official Methods<sup>SM</sup> 990.12, “Aerobic Plate Count in Foods, Dry Rehydratable Film Methods”, em que as placas foram incubadas por  $48h \pm 3h$ .

Para as bactérias da família *Enterobacteriaceae* seguiu-se a metodologia AOAC<sup>®</sup> Official Methods<sup>SM</sup> 2003.01. “Enumeration of *Enterobacteriaceae* in Selected Foods”, sendo as placas incubadas por  $24h \pm 2h$ .

Para contagem de *Escherichia coli* seguiu-se a metodologia AOAC<sup>®</sup> Official Methods<sup>SM</sup> 998.08, “Confirmed *Escherichia coli* Counts in Poultry, Meats and Seafood. Dry Rehydratable Film Method”, as placas foram incubadas por  $24h \pm 2h$ .

Para *Staphylococcus aureus* usou-se a metodologia AOAC<sup>®</sup> Official Methods<sup>SM</sup> (2003.11), Método para a contagem de *Staphylococcus aureus* em carnes, pescados e aves, as placas foram incubadas por  $24h \pm 2h$ .



Figura 31 – Termômetro de máximo e mínimo.

#### 4.2.9.6 Interpretação e contagem

Para todas as análises bacteriológicas em meias carcaças o limite de detecção foi de 0,0625 UFC/cm<sup>2</sup>. Esse limite foi calculado pela seguinte conta: 400cm<sup>2</sup> por área amostrada e 25ml de SSPT. Logo, 01ml corresponde a 16cm<sup>2</sup>. Dividindo o valor mínimo possível de contagem em uma placa (01 UFC) por 16cm<sup>2</sup>/ml, obtêm-se 0,0625 UFC/cm<sup>2</sup>, que é o limite de detecção. A contagem da amostra (placa) dividida por 16 (cm<sup>2</sup>/ml) determina a contagem em UFC/cm<sup>2</sup> para aquela amostra.

Após a conclusão do tempo de incubação preconizado para cada placa, essas quando não interpretadas e contadas imediatamente, foram resfriadas (5°C) para posterior contagem, nunca excedendo 24 horas. Essas contagens e interpretações foram procedidas por funcionários do laboratório acostumados com a rotina de interpretação e contagem das placas 3M Petrifilm<sup>TM</sup> (Figura 32).

Após a interpretação e contagem, todas as placas de todas as amostras foram fotografadas para garantia dos dados caso houvesse algum erro durante a plotagem, estatística e edição dos dados. Na Figura 33 estão ilustradas as quatro placas (AC, EB, EC e STX) da amostra 2673.



Figura 32 - Interpretação e contagem.

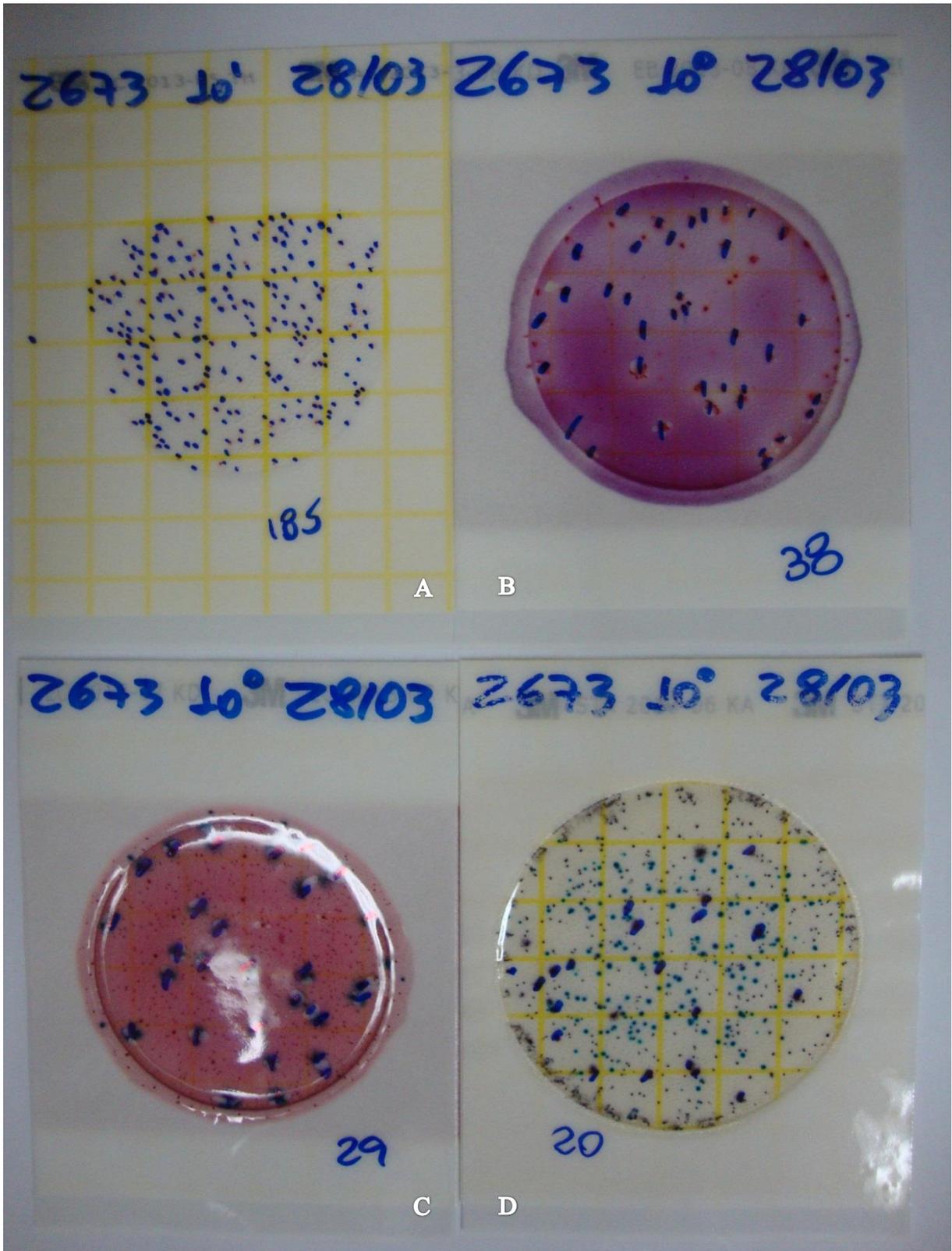


Figura 33 - Todas as placas de uma amostra (protocolo 2673). (A) AC. (B) EB. (C) EC. (D) STX.

#### 4.2.9.6.1 *Petrifilm™ Aerobic Count Plates (AC)*

A Placa Petrifilm™ 3M™ para contagem de aeróbios é um sistema pronto de meio de cultura que contém nutrientes do Ágar Padrão, um agente gelificante solúvel em água fria e um indicador tetrazólio, um corante indicador vermelho na placa que fornece cor às colônias (3M, 2012d).

A faixa ideal de contagem nesta placa é de 25 a 250 colônias. Quando o número de colônias foi superior a 250, a contagem foi estimada determinando o número médio de colônias em dois ou mais quadrados representativos (1cm<sup>2</sup> cada) e determinando-se o número médio por quadrado. Multiplicando-se esse valor por 20 (área inoculada de aproximadamente 20cm<sup>2</sup>) obtém-se a contagem total (estimada) por placa.

Quando as contagens foram muito altas, toda a área de crescimento ficou avermelhada. Este resultado foi considerado incontável. Como também, quando as bordas da placa mostraram uma grande concentração de colônias. Nestes casos, foi realizada uma diluição da amostra e nova inoculação, incubação, interpretação e contagem.

#### 4.2.9.6.2 *Petrifilm™ Enterobacteriaceae Count Plates (EB)*

A Placa Petrifilm™ 3M™ para contagem de *Enterobacteriaceae* é um sistema pronto de meio de cultura que contém um indicador que tingem as colônias de vermelho. O filme superior retém o gás produzido por algumas bactérias (3M, 2012e).

A faixa ideal de contagem nesta placa é de 15 a 100 colônias. Bactérias produtoras de ácido e/ou gás foram consideradas *Enterobacteriaceae* e tiveram uma das seguintes características: colônias associadas com bolhas de gás e sem zona ácida, colônias com zonas ácidas amarelas, mas sem produção de gás, ou colônias produzindo ambos, gás e ácido (Figura 34).



Figura 34 - Colônia EB.

#### 4.2.9.6.3 *Petrifilm™ E. coli Count Plates (EC)*

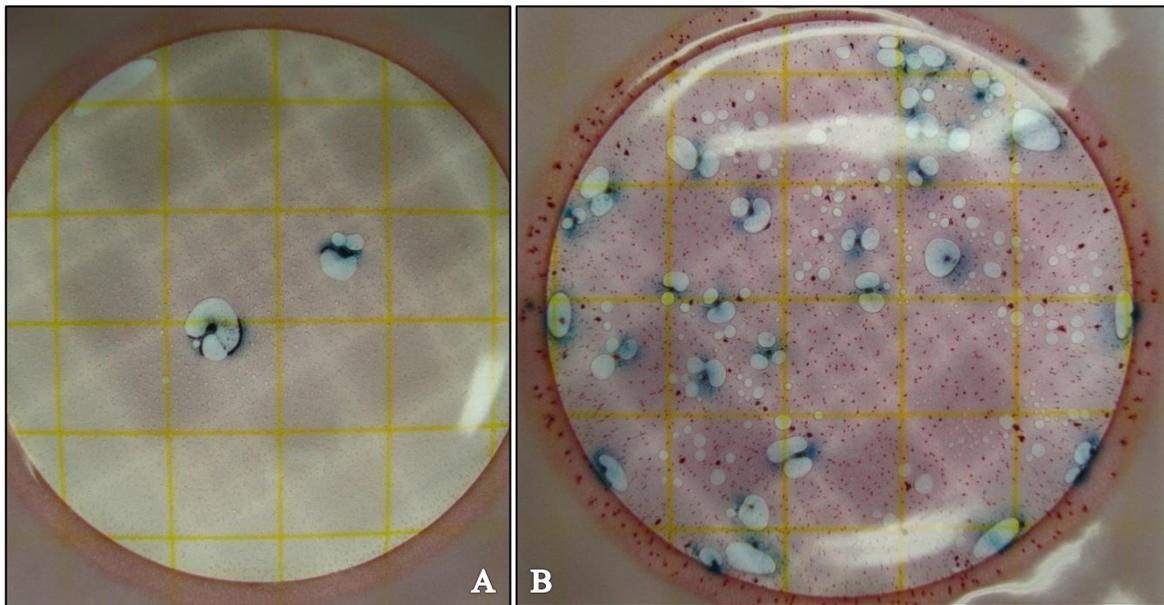


Figura 35 - (A) e (B) Placas com colônias EC.

As placas para contagem de *E. coli* contêm nutrientes do meio Vermelho Violeta Bile (VRB), um agente geleificante solúvel em água fria, um indicador de atividade glucuronidásica, 5-bromo-4-cloro-3-indolil- $\beta$ -D-glicuronídeo (BCIG), e um indicador tetrazólico que facilita a enumeração das colônias. A maioria das cepas de *E. coli* (cerca de 97%) possui beta-glucuronidase na qual forma um precipitado azul associado a colônia. O filme retém o gás formado pelos coliformes e *E. coli* que são fermentadores da lactose. Cerca de 95% das *E. coli* são associadas a produção de gás e formação de colônias azuis a vermelho-azuladas (3M, 2012e).

A faixa ideal de contagem nesta placa é de 15 a 150 colônias. Quando o número de colônias for superior a 150, a contagem foi estimada. Qualquer azul na colônia (azul a vermelho-azulado) indicou a presença de *E. coli*, geralmente todas com presença de gás (Figura 35).

#### 4.2.9.6.4 *Petrifilm™ Staph Express Count Plates (STX)*

A placa Petrifilm™ Staph Express é um sistema de meio de cultura que contém um agente geleificante solúvel em água fria. O meio cromogênico, Baird-Parker modificado na placa é seletivo e diferencial para *Staphylococcus aureus*. Colônias vermelho-violetas na placa são *S. aureus* (Figura 36). Quando somente colônias vermelho-violetas foram

observadas, bastou contá-las e o teste estava finalizado. Quando foi encontrado uma microbiota contaminante, o Disco Petrifilm™ Staph Express foi usado para identificar *S. aureus* entre as colônias suspeitas. O disco foi usado quando colônias diferentes das vermelho-violetas estavam presentes na placa: por exemplo, colônias pretas ou azuis-esverdeadas.

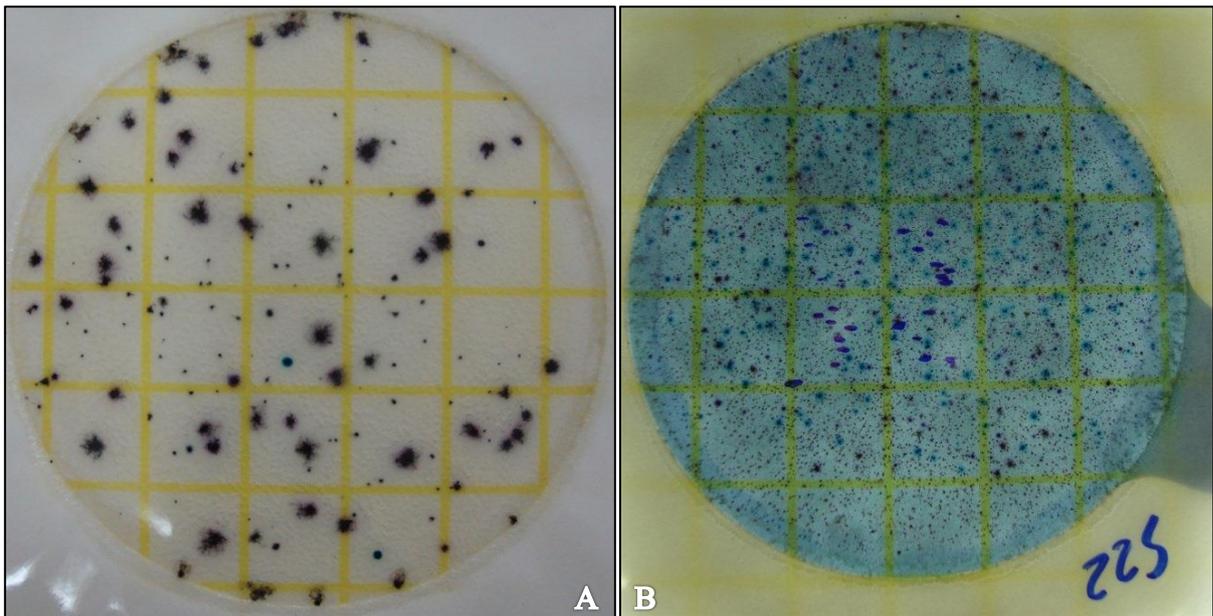


Figura 36 - (A) Colônias de STX. (B) Colônias STX com Disco Petrifilm™ Staph

O Disco Petrifilm™ Staph Express contém um indicador e um ácido desoxirribonucleico (DNA). O *S. aureus* produz desoxirribonuclease (DNase) e a DNase reage com o indicador para formar halos rosados. O Petrifilm™ Staph Express contém azul de toluidina que facilita a visualização de desoxirribonucleases. Quando o disco foi inserido na placa, o *S. aureus* (e ocasionalmente, *Staphylococcus hyicus* e *Staphylococcus intermedius*) produziu um halo rosado. Outros tipos de bactérias não produzem halos rosados.

Após a adição dos discos, as placas voltaram a incubação em pilhas de até 20 placas a  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  ou  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  por um período mínimo de uma hora e não maior do que três horas. Durante a incubação verificou-se periodicamente a reação DNase, visto que pode-se ter resultados finais em menos de 3 horas (Figura 36).

*S. aureus*, *S. hyicus* e *S. intermedius* compreendem a maioria do grupo de microrganismos comumente conhecidos como estafilococos coagulase-positivos (3M, 2012c).

O limite de contagem recomendado é de 150 colônias. Quando o número de colônias foi maior que 150 a placa tornou-se incontável. Para estimar a contagem, contou-se as

colônias em um ou mais quadrados representativos e multiplicou-se a média de um quadrado por 30 (cada placa tem uma área de 30 cm<sup>2</sup>).

#### 4.2.10 Compêndio esquemático do primeiro estudo

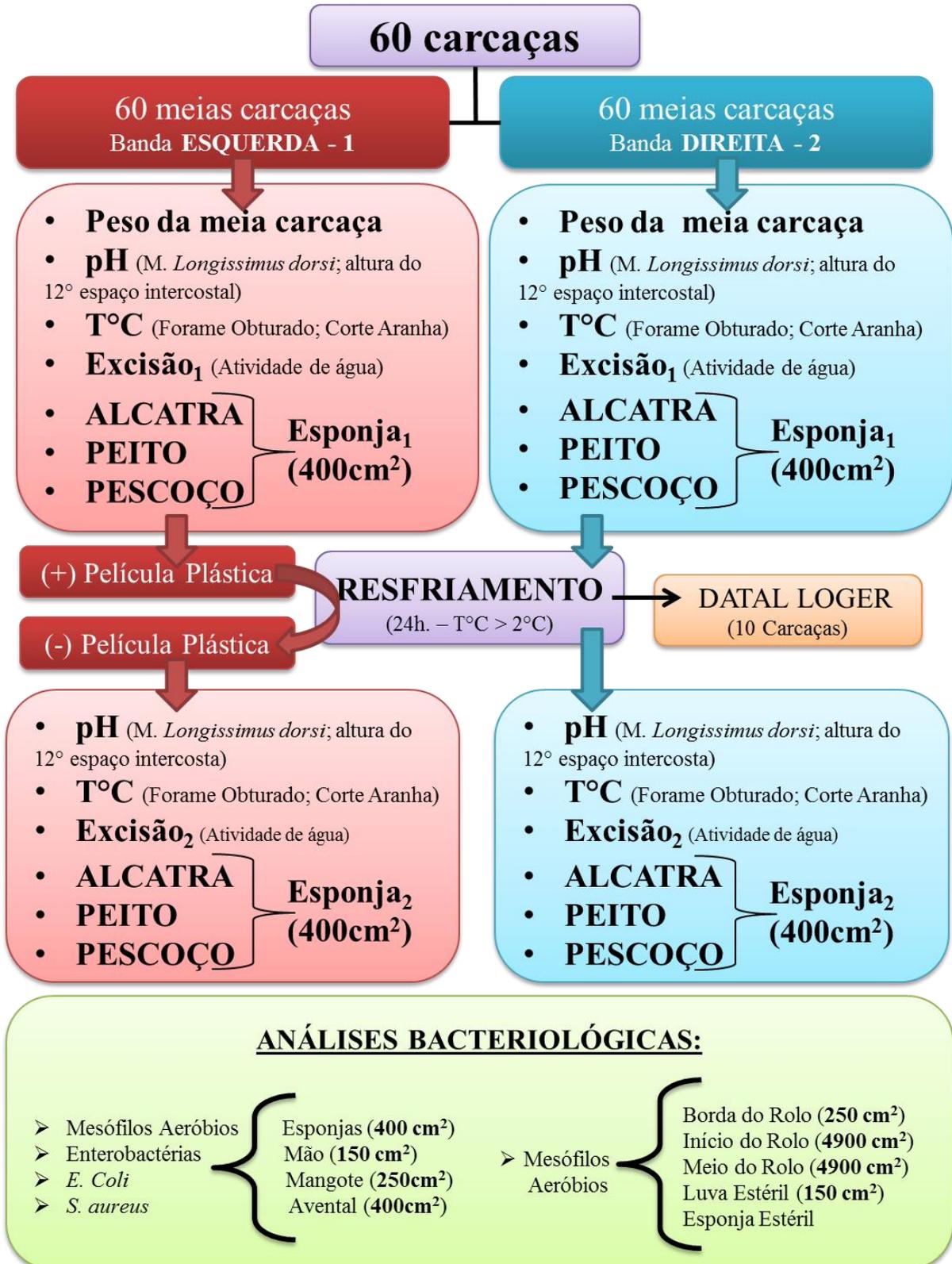


Figura 37 – Desenho experimental da primeira etapa

### 4.3 SEGUNDA ETAPA DO ESTUDO

No primeiro estudo, pelo fato do pH de algumas carcaças terem sido superiores a 6,0 na mensuração com 24 horas de resfriamento, essas foram desclassificadas para o mercado externo e direcionadas para o mercado interno. Em vista disso, foram desossadas em momentos diferentes e, portanto, tiveram resfriamentos diferenciados, o que leva a perdas de peso desuniformes e discrepantes. Esses dados de peso foram desconsiderados e um novo estudo foi realizado.

#### 4.3.1 Padronização da metodologia

Esse estudo ocorreu no período de 17 a 22 de novembro de 2012. O objetivo dessa etapa foi avaliar a perda de peso de 30 meias carcaças revestidas e 30 meias carcaças controle com 24, 48, 72 e 96 horas de resfriamento. Como também, avaliar a perda de peso dos dianteiros e traseiros especiais das 30 meias carcaças controle e 30 revestidas com 48, 72 e 96 horas de resfriamento. E, adicionalmente, avaliando a perda de peso com 48, 72 e 96 horas de estocagem de 24 dianteiros e 24 traseiros especiais revestidos, respectivamente, com sacos e filmes plásticos após as 24 horas de resfriamento (após o quarteio).

As duas câmaras de resfriamento utilizadas, câmara de maturação sanitária e câmara de equalização (Pulmão), foram avaliadas durante o experimento. De diversos pontos das câmaras, em diferentes momentos, foi mensurada a velocidade do ar (m/s) utilizando um anemometro. A temperatura e umidade relativa foram mensuradas continuamente durante todo o experimento com o uso de “Data Loggers”. Também foram utilizados os registros dos sensores térmicos digitais das câmaras.

#### 4.3.2 Material necessário

Para a execução do experimento foram utilizados “Data Loggers”, anemômetro, máscaras descartáveis, aventais, mangotes, luvas de borracha, máquina fotográfica, pilhas alcalinas (AA), plataforma de aço inox higienizada, lixeira, planilhas, pranchetas e canetas para registro dos dados.

Cinco rolos plásticos de polietileno de baixa densidade linear de 2,5 kg e 0,5 m de largura nominal, de nome comercial Filme Winpack 50 cm da marca Ag-remy Stretch Film do Brasil Ltda para revestimento das meias carcaças. Também foram utilizados 25 sacos de

polietileno (100cm x 140cm x 0,06mm - Plasmel). Os rolos de filme plástico e os sacos plásticos possuíam certificado de análise microbiológica para contagem de BHAM, coliformes a 35°C e coliformes a 45°C. Todas estas análises tiveram como resultado < 5 UFC.

#### 4.3.3 Verificação e calibração dos equipamentos necessários

As balanças para pesagem das carcaças e quartos sofrem calibração anual por empresa terceirizada e verificação diária. Estas são verificadas com pesos padrões, por comparação, e o limite de variação tolerável está entre 5 a 10 gramas.

Os “Data Loggers” também sofrem calibração anual e sua verificação é quinzenal através de um banho padrão por comparação. Tolera-se uma variação máxima de  $\pm 1,0^\circ\text{C}$ .

O Termo-higro-anemômetro foi comprado especificamente para esse experimento e possuía garantia de fábrica quanto a sua calibração.

#### 4.3.4 Animais selecionados

Os animais selecionados para o segundo estudo tiveram um padrão um pouco diferente dos animais do primeiro estudo (80% de animais com dois dentes, 18 a 24 meses). Foram utilizados 42 animais do primeiro lote de animais do abate do dia 17 de novembro de 2012, com peso médio da meia carcaça de  $130,00 \pm 17,00$  kg. Esses foram divididos em duas parcelas: 30 foram destinados à repetição do estudo anterior e os outros 12 foram destinados a uma ampliação do estudo avaliando quartos revestidos após 24 horas de resfriamento. Todos estes animais foram considerados aptos para o mercado da União Europeia, Estados Unidos e Chile.

Os 30 animais eram compostos de bois inteiros da raça nelore, sendo apenas um cruzado. Foram 16 carcaças com acabamento de gordura ausente, doze com escasso, uma com mediano e uma com uniforme. As carcaças tinham padrão retilíneo, com exceção de uma com padrão sub-convexo. Com relação à idade, 18 tinham quatro dentes (25 a 30 meses), oito tinham seis dentes (31 a 42 meses) e quatro tinham oito dentes (mais de 42 meses).

O restante dos animais foi composto por 12 animais, sendo sete bois inteiros da raça nelore e cinco novilhas nelores. Foram seis carcaças com acabamento de gordura ausente, três com escasso e três com mediano. Todas as carcaças tinham padrão retilíneo. Com relação à idade, todas tinham quatro dentes (25 a 30 meses).

Todos os protocolos e procedimentos de descarregamento, jejum e dieta hídrica, lavagem dos caminhões, inspeções *ante-mortem*, abate e inspeção *post-mortem* e outras, são

padronizadas e foram idênticas as do primeiro estudo. Não houve desvios nos procedimentos sanitários operacionais (PSO) e no PCC-1B do programa de análise de perigos e pontos críticos de controle (APPCC) durante o abate.

#### 4.3.5 Revestimento das meias carcaças quentes

Após o abate, antes da lavagem, todas as meias carcaças do abate são classificadas, tipificadas, rotuladas e pesadas. Ao término do abate é gerado com os pesos das meias carcaças quentes por sequência de abate. Esse foi à única pesagem em que os dados foram coletados do sistema. Todas as demais pesagens foram manuais.

A primeira meia carcaça do dia de abate foi encaminhada à câmara de resfriamento às 06h17min. Neste momento, a equipe de revestimento das meias carcaças já estava devidamente paramentada com luvas de borracha, mangote e avental e munida de plataforma específica. Somente as meias carcaças esquerdas, ou bandas um (sem o cupim), foram revestidas por uma volta do filme plástico de forma que as bordas do filme se sobrepusessem em torno de 15 cm uma sobre a outra. A meia carcaça direita não foi envolvida, sendo considerado o grupo controle. Ao todo foram revestidas 30 meias carcaças (esquerdas) e as 30 meias carcaças direitas destas mesmas carcaças foram o controle.

A primeira meia carcaça do estudo (007A) foi direcionada à câmara de resfriamento às 06h20min e a última (84<sup>a</sup>) do estudo (151B) às 07h20min. A câmara foi fechada as 07h26min com 144 carcaças (288 meias carcaças) para início da maturação sanitária. O espaçamento das meias carcaças na câmara de resfriamento foi igual o do primeiro estudo. Para a liberação da câmara é necessário à aprovação pela inspeção federal através da avaliação do gráfico de temperaturas para comprovar o cumprimento da Maturação Sanitária. A câmara foi aberta as 08h20min.

#### 4.3.6 Quarteio

Após a conclusão da maturação sanitária e liberação da câmara para o quarteio (tendal), as meias carcaças esquerdas tiveram os filmes plásticos retirados pela mesma equipe responsável pelo revestimento nas meias carcaças quentes. Todos devidamente paramentados com luvas de borracha, mangote, avental e munidos de plataforma específica.

As meias carcaças foram serradas e divididas (quarteio) em dianteiro (DN), traseiro especial (TR) e ponta de agulha (PA). Dessa serragem origina-se um resíduo, esse foi considerado na formação do peso resfriado da meia carcaça.

O resíduo da serragem (Figura 37) foi determinado ainda no primeiro estudo a partir dos 70 animais presentes na câmara, da seguinte maneira: anteriormente a serragem das 140 meias carcaças do experimento, o chão, a serra fita e o disco de serragem foram higienizados. O piso foi recoberto por sacos plásticos limpos abertos para facilitar a coleta dos resíduos. E, imediatamente após a conclusão da serragem destas meias carcaças, foi feita nova limpeza e coleta dos “resíduos da serragem”. Foi recuperado 0,6664 kg. Portanto, pode se dizer que a serragem de cada meia carcaça em DN, TR e PA gera 0,00476 kg de resíduo.

Após o quarteio, procedeu-se a pesagem dos quartos DN, TR e PA das 30 carcaças da primeira parcela de animais. Os 30 dianteiros (DN1) e os 30 traseiros especiais (TR1) oriundos das 30 meias carcaças esquerdas (revestidas durante a maturação sanitária) formaram um dos tratamentos. As pesagens das 30 pontas de agulha (PA1) destas mesmas meias carcaças foram usadas para formar o peso total das meias carcaças resfriadas, não foi avaliada a perda da ponta de agulha em si.



Figura 38 – Resíduos da serragem.

Os 30 dianteiros (DN2) e os 30 traseiros especiais (TR2) originados das 30 meias carcaças direitas (não revestidas) formaram o controle. As pesagens das 30 pontas de agulha (PA2) dessas mesmas meias carcaças seguiram o mesmo objetivo das outras.

A partir das 12 carcaças da segunda parcela, agora resfriadas (mesmo padrão das 30 meias carcaças controle), foram obtidos 24 dianteiros e 24 traseiros especiais, meio a meio formados de meias carcaças esquerdas e direitas. Esses quartos foram revestidos logo após a serragem.

Os 24 dianteiros (DN-R) foram revestidos com sacos plásticos. Apenas uma pessoa foi suficiente para realizar essa etapa, os dianteiros eram “ensacados”, a borda do saco dava uma volta no ganho da carretilha, e por fim, era dado um nó com na borda do saco (Figura 39).

Os 24 traseiros especiais (TR-R) foram revestidos de forma semelhante às meias carcaças esquerdas, uma volta do mesmo filme plástico de forma que as bordas do filme se sobrepussem em torno de 15 cm uma sobre a outra (metade da largura do filme plástico), conforme Figura 40.



Figura 39 – Dianteiros (DN-R) resfriados revestidos com saco plástico



Figura 40 – Traseiros especiais (TR-R) resfriados revestidos com filme plástico

#### 4.3.7 Mensuração da velocidade do ar, temperatura e umidade das câmaras de resfriamento

O resfriamento (maturação sanitária) das meias carcaças ocorreu das 07h26min do dia 17 de novembro até às 08h20min do dia 18, totalizando assim, aproximadamente, 25 horas. Durante esse período foi mensurada manualmente a velocidade do ar de sete pontos (cruzes azuis da Figura 41) distribuídos ao longo da câmara de resfriamento. Para isso foi utilizado um termo-higro-anemômetro modelo VA8021 da marca ASKO, com faixa de medição de 0,4 a 20 m/s, exatidão de  $\pm 0,3$  m/s e resolução de 0,1 m/s. Com 0, 3, 6, 9, 13 e 24 horas (07h15min do dia 18) de resfriamento foram coletados dados da velocidade do ar e temperatura.

A temperatura foi determinada através do registro de termômetro para refrigeração (Mod. 5134 - Incoterm) instalado dentro da câmara e do sensor digital da câmara. Ambos com certificado de calibração dentro do período garantido.

A empresa em sua rotina instala um “Data Logger” da marca Akso modelo 8835 em uma das meias carcaças no momento de fechar a câmara para acompanhar temperatura ambiente e temperatura da superfície da carcaça durante a maturação. Também há os registros de temperatura do sensor da câmara. Todos esses dados referentes ao intervalo horário do experimento foram coletados e serão apresentados nos resultados.

A continuação do resfriamento em câmara resfriamento (equalização), chamada de Câmara Pulmão, também foi acompanhada. Às 10:10 do dia 18 de novembro todos os quartos do experimento já estava dentro desta câmara. O resfriamento nesta câmara encerrou

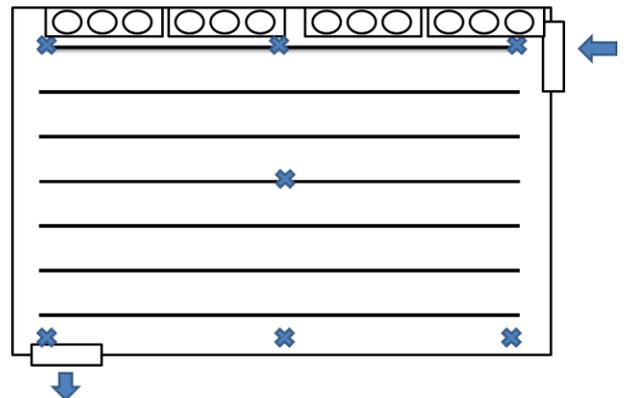


Figura 41 – Câmara de resfriamento (Maturação)

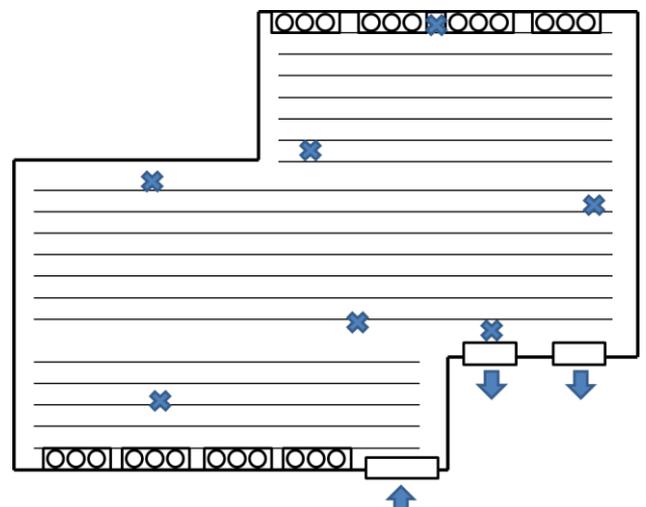


Figura 42 – Câmara de resfriamento (Armazenagem)

às 11:00 do dia 21, totalizando aproximadamente 72 horas nesta câmara e 96 horas no total.

Durante esse período foi mensurada manualmente a velocidade do ar de sete pontos (cruzes azuis da Figura 42) distribuídos ao longo da câmara de resfriamento. Com 0, 2, 5, 13, 24, 31, 46 e 72 horas de resfriamento nesta câmara foram coletados dados da velocidade do ar e temperatura.

A temperatura foi determinada através do registro de dois termômetros para refrigeração (Mod. 5134 - Incoterm) instalados dentro da câmara e do sensor digital da câmara. Ambos com certificado de calibração dentro do período garantido. Para esse tipo de câmara a empresa não instala Data logger em sua rotina, contudo, foi instalado um “Data Logger” de mesma marca e modelo para acompanhar a temperatura durante a estocagem. Os dados de registros de temperatura do sensor da câmara também foram coletados com a empresa.

Em ambas as câmaras a velocidade do ar foi mensurada da mesma forma: a uma altura de 1 a 1,5 metros do piso da câmara, buscou-se a direção e o sentido do vento, aguardou-se a estabilização da velocidade e fez-se o registro. Assim foi feito em cada um dos pontos, em cada momento, em cada câmara.

#### 4.3.8 Pesagem dos quartos

Todos os quartos (DN1, DN2, DN-R, TR1, TR2, TR-R, PA1 e PA2) em todos os momentos (24, 48, 72 e 96 horas de resfriamento) foram pesados manualmente pelas mesmas pessoas, na mesma balança (Tendal eletrônica de 300 kg - Toledo) e da mesma forma: uma carretilha de 3,4 kg foi usada para “tarar” a balança, com a balança em -3,4 kg o quarto era direcionado a posição do trilho que continha à balança, aguardou-se a estabilização do peso e em seguida fazia-se o registro. Ao término da pesagem era conferida se a balança estava em -3,4 kg. Caso não estivesse, era feita nova “tara”. Assim se prosseguiu para todos os quartos em todos os momentos de pesagem.

Ao todo foram quatro pesagens manuais, a pesagem com 24 horas ocorreu no dia 18 entre as 08h50min e 10h10min. Após essa pesagem os quartos foram direcionados para a câmara de resfriamento (equalização), também chamada Câmara Pulmão, que tem a função de estocagem de quartos para abastecer a sala de desossa. A pesagem com 48 horas ocorreu no dia 19 das 10h10min às 11h20min. A pesagem com 72 horas ocorreu no dia 20 das 11h30min

às 13h30min. E por fim a última pesagem, com 96 horas, ocorreu no dia 21 de novembro de 2012 entre as 11h00min e 12h11min.

#### 4.3.9 Perdas de peso das meias carcaças

Com relação à perda de peso das meias carcaças, foram determinadas sete perdas de peso para as meias carcaças controle e para as meias carcaças revestidas durante a maturação sanitária.

O peso 24 horas foi determinado pela soma do peso do dianteiro com 24 horas (logo após o quarterio), mais o peso do traseiro especial com 24 horas, mais o peso da ponta de agulha com 24 horas de resfriamento e por fim, mais 0,00476 kg referentes ao resíduo da serragem. O peso 48, 72 e 96 horas foi calculado da mesma forma utilizando as pesagens dos quartos com 48, 72 e 96 horas, respectivamente.

A primeira perda (Q1) foi determinada pela diferença percentual entre o peso quente e o peso com 24 horas de resfriamento, é a perda que ocorreu na maturação sanitária, perda com 24 horas de resfriamento. A segunda perda (Q2) entre o peso 24 para o de 48 horas. A terceira perda (Q3) é a perda com 48 horas, ou seja, diferença entre o peso quente e o peso com 48 horas de resfriamento. E assim se seguiu: Q4 é a perda entre 48 e 72 horas, Q5 é a perda com 72 horas, Q6 é a perda entre 72 e 96 horas de resfriamento e por fim, Q7 é a perda total da meia carcaça com 96 horas de resfriamento (Figura 43).

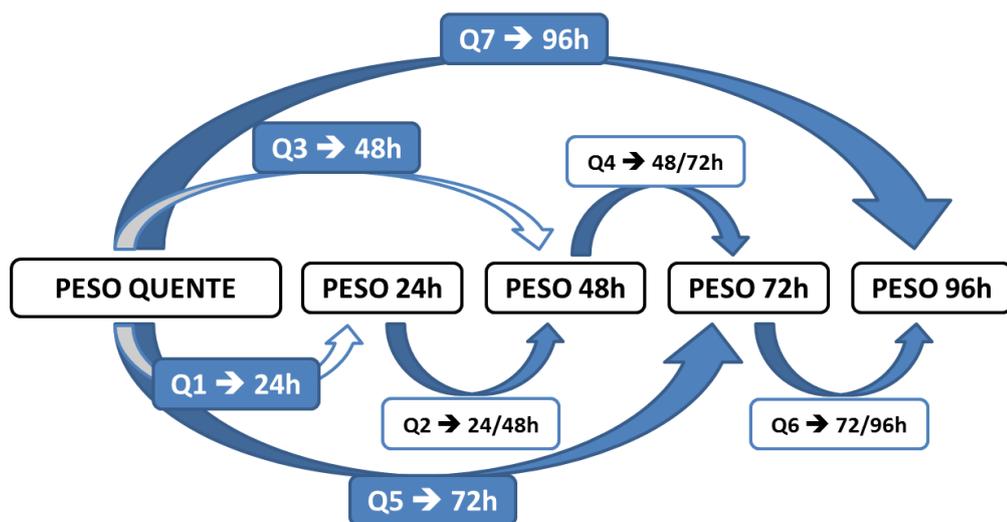


Figura 43 – Esquema de cálculos das perdas de peso das meias carcaças

#### 4.3.10 Perdas de peso dos dianteiros e dos traseiros especiais

Para os dianteiros (DN1, DN2 e DN-R) também foram determinadas sete perdas de peso, porém, diferentes das perdas calculadas para as meias carcaças.

A primeira perda (QDN1) foi determinada pela diferença percentual entre o peso do dianteiro com 24 horas (recém-serrado) e o peso com 48 horas de resfriamento (24 horas de equalização). A segunda perda (QDN2) entre o peso com 48 horas para o de 72 horas de equalização (24 para 48 horas de equalização). A terceira perda (QDN3) é a perda com 48 horas de equalização, ou seja, diferença entre o peso do dianteiro recém-serrado (24 horas) e o peso com 72 horas de resfriamento. E assim se seguiu: QDN4 é a perda entre 48 e 72 horas de equalização, Q5 é a perda com 72 horas de equalização. As duas últimas perdas são destinadas apenas aos 24 dianteiros revestidos, QDN6 corresponde à diferença percentual entre o peso do dianteiro revestido com 96 horas de resfriamento (72 horas de resfriamento) e o peso sem o revestimento também com 96 horas de resfriamento, essa perda tem finalidade de avaliar a significância do exsudato presente no saco plástico. QDN7 é a perda entre o peso dos dianteiros recém-revestidos (24 horas de resfriamento) e o peso dos dianteiros sem revestimento com 96 horas de resfriamento (72 horas de equalização) (Figura 44).

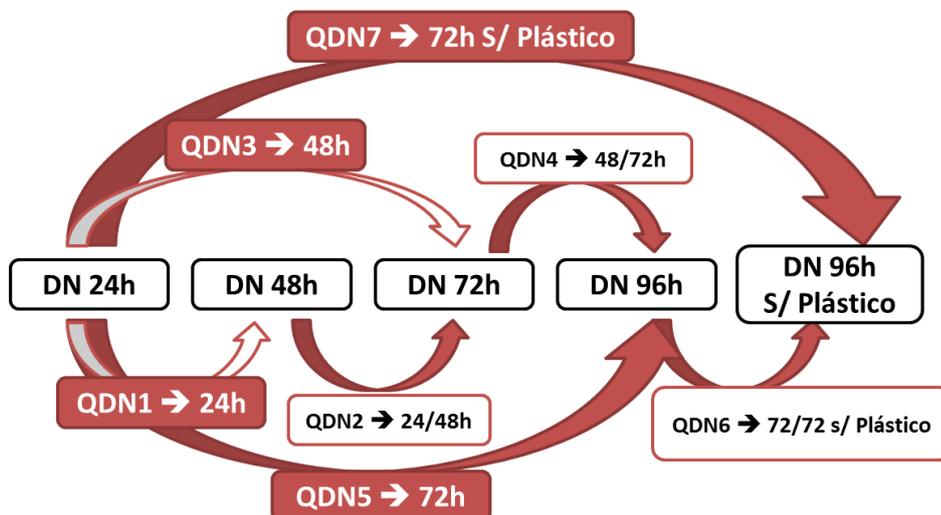


Figura 44 – Esquema de cálculos das perdas de peso dos dianteiros

As perdas de peso (QTR1, QTR2, QTR3, QTR4, QTR5, QTR6 e QTR7) dos traseiros especiais (TR1, TR2 e TR-R) foram calculadas da mesma forma executada com os dianteiros.

## 4.3.11 Compêndio esquemático do segundo estudo

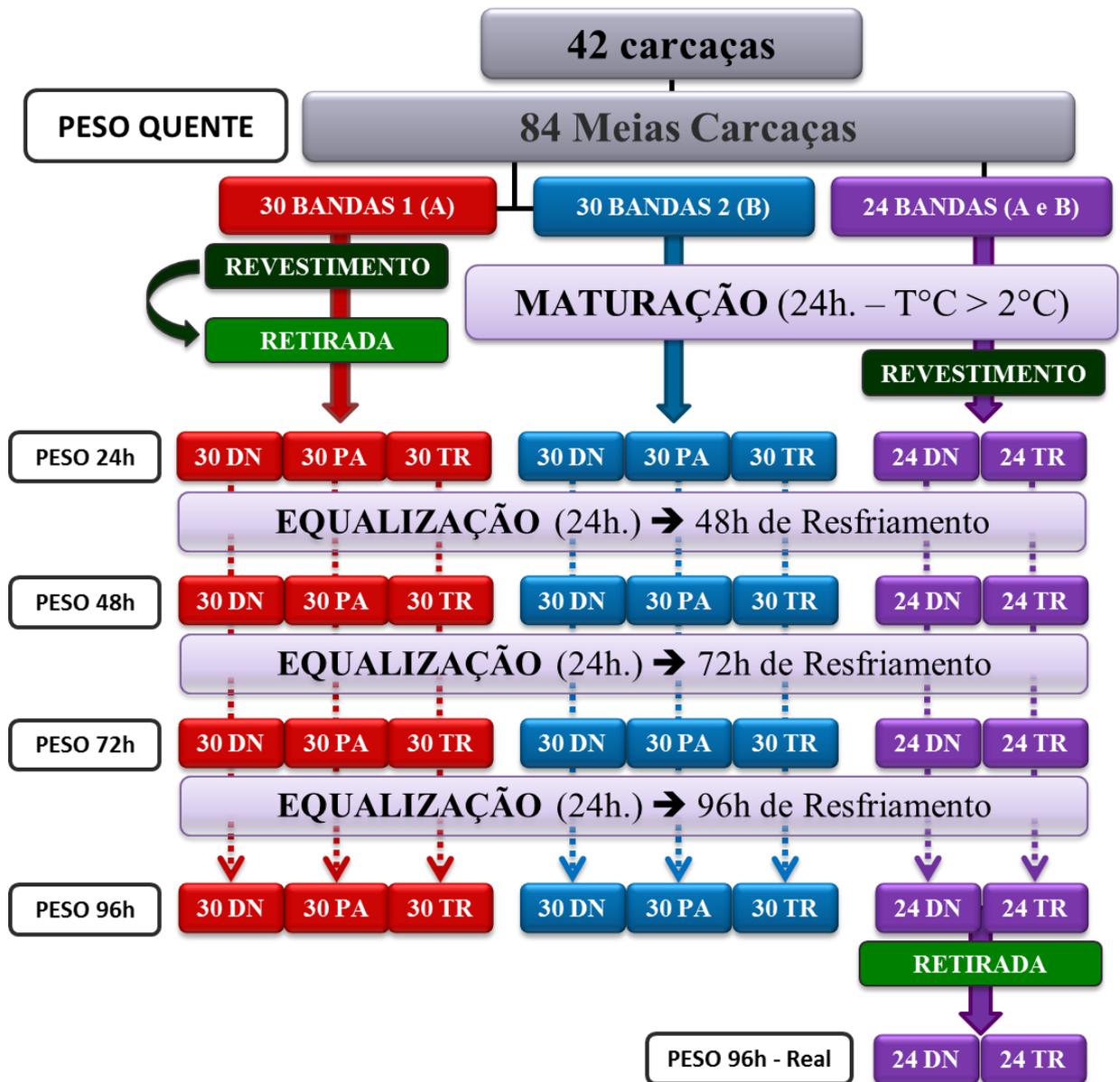


Figura 45 – Desenho experimental do segundo estudo

### 4.3 PROCEDIMENTO ESTATÍSTICO

O procedimento analítico envolveu vários tipos de testes estatísticos, destacando-se em particular a técnica de análise de variância, o teste de homogeneidade de Goodman e o coeficiente de correlação dos postos de Spearman. O processamento dos dados foi realizado no software SPSS Statistics 17.0.

Em relação à técnica da análise de variância, foram abordados aspectos paramétricos e não paramétricos. Para os dados com distribuição gaussiana que geraram as Tabelas 03, 06 e 07 foi utilizada a técnica da análise de variância paramétrica para o modelo com dois fatores complementada com o teste de comparações múltiplas de Tukey (ZAR, 2009), considerando o nível de 5% de significância.

Com relação aos dados não aderentes à distribuição gaussiana, apresentados nas Tabelas 15, 19, 23 e 27 foi utilizada a técnica da análise de variância não paramétrica para o modelo com dois fatores complementada com o teste de comparações múltiplas de Dunn (ZAR, 2009).

Para as Tabelas 17, 21, 25, 29, 32, 33, 34, 35, 36 e 37 utilizou-se a técnica da análise de variância não paramétrica para o modelo de medidas repetidas em grupos independentes complementada com o teste de comparações múltiplas de Dunn (ZAR, 2009), considerando o nível de 5% de significância. Em relação às Tabelas 34, 35, 36 e 37 considerou-se a técnica da análise de variância não paramétrica para o modelo de medidas repetidas (Teste de Friedman) complementada com o teste de comparações múltiplas de Dunn (ZAR, 2009).

O estudo das ocorrências envolvendo variáveis dicotomizadas foi realizado utilizando-se o teste de homogeneidade de Goodman para contrastes entre e dentro de populações binomiais (GOODMAN, 1964; GOODMAN, 1985), considerando o nível de 5% de significância, foi utilizado nos dados das Tabelas 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 e 30.

Em relação ao estudo das associações entre as variáveis quantitativas, verificado nas Figuras 46, 47 e 48, utilizou-se o coeficiente de correlação dos postos de Spearman (ZAR, 2009).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 PRIMEIRA ETAPA DO ESTUDO

As contagens de BHAM, *S. aureus*, Enterobactérias e *E. coli* executadas antes e após as operações nos dois dias do experimento em luvas, mangotes e aventais dos funcionários responsáveis pela manipulação e revestimento das meias carcaças não extrapolaram as recomendações estabelecidas na legislação europeia (UE, 2001), sendo inclusive a maioria dos resultados negativos (Tabela 31). As análises realizadas nas esponjas, luvas estéreis e rolos de filme plástico para BHAM também se situaram abaixo de 10 UFC/cm<sup>2</sup> (UE, 2001). Esses satisfatórios resultados obtidos no controle das variáveis desse estudo são reflexos da utilização de Boas Práticas de Fabricação (BPF), como: higiene pessoal, manutenção da cadeia do frio e utilização de materiais e matérias-primas de qualidade comprovada (BRASIL, 1997a).

Nas associações calculadas neste estudo não foi discriminado o momento (meia carcaça quente ou resfriada), nem o tratamento (meia carcaça revestida ou controle). Globalmente foram realizadas associações entre as variáveis avaliadas (parâmetros físico-químicos e bacterianos). Em relação ao aspecto global, as correlações foram positivas, com magnitudes baixas a médias. Foi constatada associação positiva entre as regiões de coleta para todos indicadores bacterianos avaliados (Figura 46), assim como, associação positiva entre todos os indicadores bacterianos para todas as regiões de coleta avaliadas (Figura 47). Esses padrões de associação verificados nesse estudo foram essenciais para demonstrar a uniformidade nos procedimentos operacionais executados e da minimização das influências através do controle das possíveis variáveis deste experimento.

#### 5.1.1 Análises bacterianas como ferramenta para verificação da qualidade operacional do abate

Um dos objetivos propostos para esse experimento foi avaliar a aplicação das análises bacteriológicas em carcaça quente como ferramenta de verificação da qualidade operacional do abate. As ocorrências e medianas de contagens observadas em meias carcaças quentes e em suas respectivas regiões de coleta estão sintetizadas respectivamente nas Tabelas 01 e 02. A totalidade dos resultados encontra-se localizada nos apêndices.

No presente estudo foi observado maior ocorrência ( $p \leq 0,05$ ) de Enterobactérias na região do peito das meias carcaças quentes direitas (Tabela 01). Há grande escassez de trabalhos na literatura que identifiquem e justifiquem essas diferenças. Entretanto, essas diferenças se devem possivelmente às operações de abate, como por exemplo, mão de obra (destra ou canhota) em relação às operações (lado direito ou esquerdo). Contudo, mais estudos são necessários para investigar essas diferenças que provavelmente variam entre os estabelecimentos.

Tabela 01 – Ocorrências percentuais em meias carcaças quentes e em suas respectivas regiões de coleta

OCORRÊNCIA (%)	BHAM		<i>S. aureus</i>		Enterobactérias		<i>E. coli</i>	
	Esq.	Dir.	Esq.	Dir.	Esq.	Dir.	Esq.	Dir.
COXÃO	100 <sup>aA</sup>	100 <sup>aA</sup>	68,3 <sup>aA</sup>	65,0 <sup>aA</sup>	3,3 <sup>aA</sup>	5,0 <sup>aA</sup>	3,3 <sup>aA</sup>	5,0 <sup>aA</sup>
PEITO	100 <sup>aA</sup>	100 <sup>aA</sup>	93,3 <sup>aB</sup>	93,3 <sup>aB</sup>	15,0 <sup>aAB</sup>	31,7 <sup>bB</sup>	6,7 <sup>aA</sup>	15,0 <sup>aA</sup>
PESCOÇO	100 <sup>aA</sup>	100 <sup>aA</sup>	25,0 <sup>aC</sup>	16,7 <sup>aC</sup>	16,7 <sup>aB</sup>	13,3 <sup>aA</sup>	5,0 <sup>aA</sup>	3,3 <sup>aA</sup>
MEIA CARÇAÇA	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	98,3 <sup>a</sup>	93,3 <sup>a</sup>	31,7 <sup>a</sup>	45,0 <sup>a</sup>	13,3 <sup>a</sup>	23,3 <sup>a</sup>

Valores na mesma linha acompanhados de letras minúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ). Valores na mesma coluna acompanhados de letras maiúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ). BHAM → Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas; Esq. → Meia carcaça esquerda; Dir. → Meia carcaça direita.

Tabela 02 – Valores medianos de contagens (log UFC/cm<sup>2</sup>) em meias carcaças quentes e em suas respectivas regiões de coleta

CONTAGEM (log UFC/cm <sup>2</sup> )	BHAM		<i>S. aureus</i>		Enterobactérias		<i>E. coli</i>	
	Esq.	Dir.	Esq.	Dir.	Esq.	Dir.	Esq.	Dir.
COXÃO	0,94 <sup>aA</sup>	1,00 <sup>aA</sup>	-0,60 <sup>aA</sup>	-0,79 <sup>aA</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>
PEITO	1,30 <sup>aB</sup>	1,46 <sup>aB</sup>	-0,01 <sup>aB</sup>	-0,35 <sup>bB</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>	(0,0) <sup>aB</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>
PESCOÇO	1,00 <sup>aA</sup>	0,64 <sup>aA</sup>	(0,0) <sup>aC</sup>	(0,0) <sup>aC</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>	(0,0) <sup>aAB</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>
MEIA CARÇAÇA	1,25 <sup>a</sup>	1,29 <sup>a</sup>	-0,21 <sup>a</sup>	-0,61 <sup>a</sup>	(0,0) <sup>a</sup>	(0,0) <sup>a</sup>	(0,0) <sup>a</sup>	(0,0) <sup>a</sup>

Valores na mesma linha acompanhados de letras minúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ). Valores na mesma coluna acompanhados de letras maiúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ). BHAM → Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas; Esq. → Meia carcaça esquerda; Dir. → Meia carcaça direita; (0,0) → Contagem inferior ao limite de detecção (0,00 UFC/cm<sup>2</sup>).

Em relação ao aspecto global, observou-se que o peito é a região da carcaça quente mais contaminada para BHAM, *S. aureus* e Enterobactérias (Tabela 01 e 02). Contudo, as diferenças de contagem entre as regiões por bactéria não ultrapassaram uma unidade de log. Vários estudos apoiam o presente resultado, identificando o peito como região mais

contaminada da carcaça (GILL, 2004; HAUGE et al., 2012; MCEVOY et al., 2000; RIDELL; KORKEALA, 1993). Inclusive, Ridell e Korkeala (1993) demonstraram que amostras de carne do peito vindas de animais extremamente sujos, mesmo abatidos e processados com maiores cuidados apresentaram contaminação por BHAM em relação aos animais limpos abatidos normalmente.

Nesse estudo, em nenhuma carcaça do experimento ocorreu ruptura do trato gastrointestinal (sem desvios ao DIF ou no PCC-1B), logo, é provável que as maiores contagens do peito se devam a contaminações durante o processo de esfolagem. Esses resultados concordam com inúmeros estudos que estabeleceram a pele bovina como fonte primária de contaminação durante o abate e esfolagem (ARTHUR et al., 2007; BARKOCY-GALLAGHER et al., 2003; BOSILEVAC et al., 2005; ELDER et al., 2000; LAHR, 1996; NOU et al., 2003). A relevância dessa contaminação é tão expressiva que países como França, Bélgica e Grã-Bretanha definiram critérios de avaliação para a limpeza da pele dos animais anteriormente ao abate sendo rejeitados para o abate os animais que se apresentam excessivamente sujos (AFSCAb, 2006; BASTIEN et al., 2006; UK, 2004). Entretanto, é importante frisar que o grau de contaminação durante a esfolagem depende da técnica operacional, do treinamento e da habilidade do operador e dos equipamentos e instalações, principalmente do extrator mecânico de pele (GILL, 2004).

As contagens medianas de BHAM em meias carcaças e nas regiões coletadas logo após o abate foram inferiores a 1,4 log de UFC/cm<sup>2</sup> (Tabela 01 e 02). Esses resultados situaram-se satisfatoriamente abaixo dos limites mínimos (*m*) em relação às exigências normativas da União Europeia (*m* = 3,5 log UFC/cm<sup>2</sup>) adotadas para o método destrutivo (UE, 2001; EU, 2005; UE, 2007), para o método não destrutivo (*m* = 3,0 log UFC/cm<sup>2</sup>) estabelecidas pelo Comitê Científico da Agência Federal de Segurança da Cadeia Alimentar (AFSCA) (AFSCA, 2006a) e também as exigências da legislação nacional (aceitável < 3,5 x 10<sup>3</sup>) (BRASIL, 2006a; BRASIL, 2006b). Nos Estados Unidos pelo Programa de Redução de Patógenos (PRP) não foi estabelecido à avaliação de BHAM em meias carcaças bovinas. Na Austrália foi determinado que BHAM devem ser avaliadas em meias carcaças bovinas resfriadas (AUS, 2000; AUS 2003; AUS, 2007).

Os resultados das contagens de BHAM do presente estudo nas diferentes regiões avaliadas foram inferiores aos resultados encontrados por Kinsella et al. (2006) que verificaram 1,70 log UFC/cm<sup>2</sup> de BHAM na região do coxão, 2,83 log UFC/cm<sup>2</sup> no peito e 2,97 log UFC/cm<sup>2</sup> no pescoço. Essas diferenças podem ser explicadas pelas variações operacionais (Gill, 2004), mas também o tipo e a origem do animal podem explicar esse

resultado. Na maioria dos estudos sobre o tema são utilizados animais de confinamento e/ou de raças que possuem pelos longos (GILL, 2004; HAUGE et al. 2012; KINSELLA et al. 2006), e esses, mesmo sob excelentes condições de abate, possivelmente originam carcaças mais contaminadas que as carcaças de animais de raças tropicais (pelo curto) criadas à pasto como é o caso dos animais do presente estudo (raça Nelore).

As contagens medianas de *S. aureus* encontraram-se satisfatoriamente em relação aos limites estabelecidos para estafilococcus coagulase positiva na legislação nacional (BRASIL, 2001). O mesmo ocorreu para as contagens de Enterobactérias em relação aos limites mínimos das exigências europeias ( $m = 1,5 \log \text{UFC/cm}^2$ ) para o método destrutivo (UE, 2001; EU, 2005; UE, 2007) e da AFSCA ( $m = 1,0 \log \text{UFC/cm}^2$ ) para o método não destrutivo ( $m = 1,0 \log \text{UFC/cm}^2$ ) (AFSCA, 2006a). A respeito da *Escherichia coli*, na união europeia não há determinação de sua análise em meias carcaças bovinas, entretanto, é considerada a principal bactérias em bovinos pelo PRP americano (USA, 1996), sendo avaliada em meias carcaças resfriadas. Os australianos baseiam-se na legislação americana, também avaliando em meias carcaças resfriadas (AUS, 2000; AUS 2003; AUS, 2007).

Em princípio, a condição satisfatória das meias carcaças do presente estudo são consequência da adequada implantação e funcionalidade dos programas de autocontrole (BPF, PPHO, APPCC), como também, das técnicas operacionais bem estabelecidas e executadas (POP, PSO) conforme consagrado na literatura por diversos estudos (BRASIL, 1997a; EU, 2005; LABADIE, 1999; UE, 2007; USA, 1994).

### **5.1.2 Influências do resfriamento sobre parâmetros físico-químicos e bacterianos de meias carcaças bovinas**

No estudo apresentado, a Atividade de água (Aa) da superfície das meias carcaças controle resfriadas (Tabela 03) não foi alterada após 24horas de resfriamento à temperatura igual ou superior a 2°C (Gráficos 01 e 02) e ventilação forçada média em torno de 1,3m/s (Figura 49).

Esses resultados (Tabela 03) são divergentes de inúmeros estudos em que foram verificadas reduções expressivas na atividade de água da superfície de meias carcaças bovina nas primeiras horas do resfriamento principalmente, pelo efeito da baixa temperatura e ventilação forçada (AUS, 2007; CROWLEY et al., 2010; DAUTIN, 1986; DAUDIN; SWAIN, 1990; LUES et al., 2006; OKRASZSKA-LASICA, 2012; ROSSET, 1982). Em vista disso, considera-se que possivelmente houve falha metodológica na determinação da atividade

de água no presente estudo. Suspeita-se que a elevada espessura do corte (2mm) descaracterizou a possível desidratação superficial ocorrida durante o resfriamento. Associações positivas baixas, porém relevantes ( $p \leq 0,001$ ), foram identificadas entre Aa e as contagens de *S. aureus* nas regiões do coxão (0,207;  $p \leq 0,05$ ), peito (0,231;  $p \leq 0,001$ ) e na meia carcaça como um todo (0,244;  $p \leq 0,001$ ), independente do tratamento (Figura 46). Como será explanado mais a frente, as ocorrências e contagens de *S. aureus* tiveram expressiva redução após o resfriamento. Logo, uma redução da Aa também deve ter ocorrido.

Tabela 03 – Valores médios e desvios padrões de atividade de água da superfície das meias carcaças

Meia Carcaça	Quente		Resfriada	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
Revestida	0,987 <sup>aA</sup>	0,003	0,988 <sup>aA</sup>	0,004
Controle	0,987 <sup>aA</sup>	0,002	0,988 <sup>aA</sup>	0,004

Valores na mesma coluna acompanhados de letras minúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).  
Valores na mesma linha acompanhados de letras maiúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

As ocorrências e contagens bacterianas nas meias carcaças controle (sem revestimento) antes e após o resfriamento estão sintetizadas nas Tabelas 04 e 05. Nos apêndices constam a totalidade dos dados.

Tabela 04 – Ocorrências percentuais em meias carcaças controle (sem revestimento) e em suas respectivas regiões de coleta

OCORRÊNCIA (%)	BHAM		<i>S. aureus</i>		Enterobactérias		<i>E. coli</i>	
	CQ	CR	CQ	CR	CQ	CR	CQ	CR
COXÃO	100 <sup>aA</sup>	90 <sup>bA</sup>	65 <sup>aA</sup>	30 <sup>bA</sup>	5,0 <sup>aA</sup>	8,3 <sup>aA</sup>	5,0 <sup>aA</sup>	1,7 <sup>aA</sup>
PEITO	100 <sup>aA</sup>	100 <sup>aB</sup>	93,3 <sup>aB</sup>	68,3 <sup>bB</sup>	31,7 <sup>aB</sup>	18,3 <sup>aA</sup>	15,0 <sup>aA</sup>	6,7 <sup>aA</sup>
PESCOÇO	100 <sup>aA</sup>	90 <sup>bA</sup>	16,7 <sup>aC</sup>	6,7 <sup>aC</sup>	13,3 <sup>aA</sup>	10,0 <sup>aA</sup>	3,3 <sup>aA</sup>	3,3 <sup>aA</sup>
MEIA CARCAÇA	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	93,3 <sup>a</sup>	76,7 <sup>a</sup>	45,0 <sup>a</sup>	35,0 <sup>a</sup>	23,3 <sup>a</sup>	10,0 <sup>a</sup>

Valores na mesma linha acompanhados de letras minúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).  
Valores na mesma coluna acompanhados de letras maiúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).  
BHAM → Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas; CQ → Carcaça quente; CR → Carcaça resfriada.

No presente estudo ficou constatado o efeito injuriante/lesivo do resfriamento sobre as ocorrências e contagens de BHAM e *S. aureus*. A redução foi de aproximadamente meia unidade de log tanto na meia carcaça como entre as regiões de coleta, para ambas os grupos bacterianos avaliados (Tabelas 04 e 05). Essas reduções bacterianas por efeito do resfriamento

concordam com estudos de Crowley et al. (2009), Kinsella et al. (2006) e Youssef et al. (2013) em meias carcaças bovinas e de Okraszka-Lasica et al. (2012) no ambiente aéreo de câmaras de resfriamento. Esses autores verificaram reduções superiores a uma unidade logaritma em contagens de BHAM, enterobactérias, *E. coli* e coliformes totais. Para eles essa redução se deve principalmente a redução da atividade de água da superfície (injúria osmótica) e da diminuição da temperatura (injúria térmica) (CROWLEY et al., 2010; KINSELLA et al. 2006; OKRASZSKA-LASICA et al., 2012; YOUSSEF et al., 2013), sendo que para alguns autores essa redução ocorre em maior magnitude nos primeiros minutos do resfriamento (CLAVERO; BEUCHAT, 1996; SHADBOLT et al., 1999).

Tabela 05 – Valores medianos de contagens (log UFC/cm<sup>2</sup>) das meias carcaças controle (sem revestimento) e em suas respectivas regiões de coleta

CONTAGEM (log UFC/cm <sup>2</sup> )	BHAM		<i>S. aureus</i>		Enterobactérias		<i>E. coli</i>	
	CQ	CR	CQ	CR	CQ	CR	CQ	CR
COXÃO	1,00 <sup>aA</sup>	0,27 <sup>bA</sup>	-0,79 <sup>aA</sup>	(0,0) <sup>bA</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>
PEITO	1,46 <sup>aB</sup>	0,90 <sup>bB</sup>	-0,36 <sup>aB</sup>	-0,92 <sup>bB</sup>	(0,0) <sup>aB</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>
PESCOÇO	0,64 <sup>aA</sup>	0,09 <sup>aA</sup>	(0,0) <sup>aC</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>	(0,0) <sup>aB</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>
MEIA CARÇAÇA	1,29 <sup>a</sup>	0,85 <sup>b</sup>	-0,62 <sup>a</sup>	-1,30 <sup>b</sup>	(0,0) <sup>a</sup>	(0,0) <sup>a</sup>	(0,0) <sup>a</sup>	(0,0) <sup>a</sup>

Valores na mesma linha acompanhados de letras minúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ). Valores na mesma coluna acompanhados de letras maiúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ). BHAM → Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas; CQ → Carcaça quente; CR → Carcaça resfriada; (0,0) → Contagem inferior ao limite de detecção (0,00 UFC/cm<sup>2</sup>).

As ocorrências e contagens de Enterobactérias e *Escherichia coli* se mantiveram constantes ( $p > 0,05$ ) (Tabela 04 e 05), logo, pode-se considerar que, de um modo geral, houve redução de bactérias Gram-positivas e manutenção das Gram-negativas após 24 horas de resfriamento. Na literatura é consagrada a maior resistência de Gram-positivas ao choque térmico e osmótico que ocorre principalmente durante o congelamento e resfriamento rápido (SHERMAN; ALBUS, 1923). Bactérias Gram-positivas pela sua espessa camada de peptidoglicanos (ROSE, 1968) e síntese de proteínas do choque térmico (VIDOVIC et al., 2011; YAMANAKA; INOUE, 2001; WEBER et al., 2005), são mais resistentes a injúrias abruptas (BROWN, 1991; GOLDEN; ARROYO-GALLYOUN, 1997) quando comparadas a bactérias Gram-negativas, que possuem fina membrana celular com predomínio de lipídeos (ROSE, 1968), sendo mais sensíveis as alterações de permeabilidade, formação de cristais, desidratação e estresse osmótico (INGRAM; MACKKEY, 1976; MAZUR, 1970).

Entretanto, quando em situação de adaptação térmica ao resfriamento, bactérias Gram-negativas possuem maior capacidade de adaptação (LOWRY; GILL, 1985) pela alteração do perfil lipídico da membrana devido à síntese de lipídeos neutros e fosfolipídios, encurtamento de ácidos graxos e aumento da proporção de lipídeos insaturados, conferindo assim, menor ponto de fusão e permitindo maior fluidez da membrana celular em baixas temperaturas (ALLEN, 1953; GAUGHRAN, 1947; RUSSELL, 1971; VIDOVIC et al., 2011). Bactérias Gram-negativas também são capazes de sintetizar proteínas de adaptação térmica (VIDOVIC et al., 2011; YAMANAKA; INOUE, 2001; WEBER et al., 2005), embora algumas Gram-positivas (*Listeria monocytogenes*) também sejam capazes de alterar seu perfil lipídico (CHIHIB et al., 2003; MASTRONICOLIS et al., 2006). Por essas características justifica-se o fato da maioria das bactérias psicotróficas e psicófilas serem Gram-negativas (VIDOVIC et al., 2011).

Esse comportamento de Gram-positivas e Gram-negativas frente ao resfriamento, conforme observado no presente estudo, fica demonstrado no fato da legislação europeia exigir avaliação de BHAM em meias carcaças logo após o abate (meia carcaça quente) (UE, 2001; EU, 2005; UE, 2007) e da legislação americana exigir avaliação de *Escherichia coli* em meias carcaças resfriadas (USA, 1996), uma vez que, a avaliação de BHAM em meias carcaças resfriadas pode gerar falsos negativos e a avaliação de *Escherichia coli* aparentemente não é influenciada pelo resfriamento, sendo por isso, feita em momento operacional mais flexível.

No presente estudo, mesmo após o resfriamento, a região do peito continuou a se destacar das demais como região a mais contaminada para BHAM e *S. aureus*. Entretanto, para as Enterobactérias, não houve mais diferenciação entre as regiões coletadas (Tabelas 04 e 05). Essa predominância do peito como região mais contaminada em carcaças resfriadas demonstra a importância das operações do abate sobre a qualidade final, visto que mesmo com o efeito injuriante/lesivo do resfriamento, os reflexos da contaminação cruzada durante o abate ainda são identificados mesmo após o resfriamento, conforme demonstrado por diversos autores (HAUGE et al., 2012; RIDELL; KORKEALA, 1993).

### **5.1.3 Influências do revestimento plástico de meias carcaças bovinas durante o resfriamento sobre parâmetros físico-químicos e bacterianos**

Os valores médios de pH do presente estudo constam na Tabela 06. O revestimento plástico não influenciou sobre a redução do pH ( $p > 0,05$ ). Ambos os tratamentos tiveram o

mesmo padrão de redução durante o resfriamento, entretanto, 34 carcaças tiveram pH > 6.0. Dessas, 27 meias carcaças tiveram pH > 6.4. Para a liberação dessas meias carcaças ao mercado consumidor amostras destas 27 meias carcaças foram submetidas à prova de filtração, prova de cocção, determinação do pH (Método Potenciométrico), prova para detecção qualitativa de amônia (Prova de Nessler) e prova para H<sub>2</sub>S, conforme orientações do Anexo I – “Carne Bovina In Natura” da Portaria nº 01, de 07 de outubro de 1981 (BRASIL, 1981). Smulders et al. (1992) relatam que normalmente o pH do músculo diminui de 7,0 no momento do abate para cerca de 5,3 – 5,8 após 24 horas de resfriamento. Essas extrapolações verificadas no presente estudo provavelmente tiveram origem no estresse dos animais (bovinos machos inteiros) durante o período de descanso e dieta hídrica (PARDI, 2001).

Tabela 06 – Valores médios e desvios padrões de pH das meias carcaças

Meia Carcaça	Quente		Resfriada	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
Revestida	6,95 <sup>aA</sup>	0,30	5,98 <sup>aB</sup>	0,34
Controle	6,90 <sup>aA</sup>	0,29	6,00 <sup>aB</sup>	0,35

Valores na mesma coluna acompanhados de letras minúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ). Valores na mesma linha acompanhados de letras maiúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,01$ ).

No presente trabalho a atividade de água (Aa) não foi modificada pela utilização do revestimento plástico durante o resfriamento (Tabela 03). Essa era a expectativa de resultado, contudo, como transcrito em parágrafos anteriores, possivelmente houve falha no procedimento de mensuração da Aa, não sendo possível afirmar que o revestimento plástico durante o resfriamento realmente mantenha a Aa da superfície da meia carcaça.

As temperaturas mensuradas nas meias carcaças constam na Tabela 07 e as curvas de redução da temperatura registradas durante o resfriamento estão contidas no Gráfico 01.

Tabela 07 – Valores médios e desvios padrões de temperatura do coxão (forame obturador) das meias carcaças

Meia Carcaça	Quente		Resfriada	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
Revestida	37,81 <sup>aA</sup>	1,72	7,67 <sup>aB</sup>	1,22
Controle	37,32 <sup>aA</sup>	1,97	6,70 <sup>bB</sup>	0,72

Valores na mesma coluna acompanhados de letras minúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,01$ ). Valores na mesma linha acompanhados de letras maiúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,01$ ).

A temperatura foi o parâmetro físico avaliado mais influenciado pelo revestimento plástico das meias carcaças. Ao fim da maturação sanitária as meias carcaças revestidas foram 0,97°C mais quentes na íntima muscular do coxão, ou seja, apresentaram temperatura 12% superior ( $p \leq 0,01$ ) em relação às meias carcaças controles (sem revestimento) (Tabela 07). É provável que o filme plástico dificulte a troca de calor entre a superfície da meia carcaça e o ambiente da câmara, funcionando como um isolante térmico. Essa característica pode significar maiores custos, uma vez que implica em gastos extras com energia e substância refrigerante para retirar esse calor sobressalente ao longo da cadeia do frio.

Esse efeito isolante também foi verificado nas curvas de redução da temperatura que constam no Gráfico 01. Constatou-se que durante o resfriamento as meias carcaças revestidas permaneceram maior tempo em temperatura favorável ao crescimento microbiano (maior que 7°C) (BRASIL, 1996b) em relação às meias carcaças não revestidas, o que pode justificar as alterações na microbiota que serão discutidas posteriormente.

É importante enfatizar que trabalhos avaliando o revestimento plástico de meias carcaças durante o resfriamento, ou mesmo estudos sobre isolamento térmico por filmes plásticos em alimentos, são extremamente escassos, principalmente avaliando a perda de peso e a condição higiênico-sanitária de meias carcaças revestidas quando submetidas ao resfriamento.

As ocorrências e contagens bacterianas nas meias carcaças revestidas durante o resfriamento estão sintetizadas nas Tabelas 08 e 09. Nos apêndices constam os dados na íntegra.

Tabela 08 – Ocorrências percentuais das meias carcaças revestidas e em suas respectivas regiões de coleta

OCORRÊNCIA (%)	BHAM		<i>S. aureus</i>		Enterobactérias		<i>E. coli</i>	
	CQ	CR	CQ	CR	CQ	CR	CQ	CR
COXÃO	100 <sup>aA</sup>	98,3 <sup>aA</sup>	68,3 <sup>aA</sup>	76,7 <sup>aA</sup>	3,3 <sup>aA</sup>	10,0 <sup>aA</sup>	3,3 <sup>aA</sup>	8,3 <sup>aA</sup>
PEITO	100 <sup>aA</sup>	100 <sup>aA</sup>	93,3 <sup>aB</sup>	96,7 <sup>aB</sup>	15,0 <sup>aAB</sup>	55,0 <sup>bB</sup>	6,7 <sup>aA</sup>	13,3 <sup>aA</sup>
PESCOÇO	100 <sup>aA</sup>	96,7 <sup>aA</sup>	25,0 <sup>aC</sup>	26,7 <sup>aC</sup>	16,7 <sup>aB</sup>	38,3 <sup>bB</sup>	5,0 <sup>aA</sup>	6,7 <sup>aA</sup>
MEIA CARCAÇA	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	98,3 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	31,7 <sup>a</sup>	71,7 <sup>b</sup>	13,3 <sup>a</sup>	25,0 <sup>a</sup>

Valores na mesma linha acompanhados de letras minúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ). Valores na mesma coluna acompanhados de letras maiúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ). BHAM → Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas; CQ → Carcaça quente; CR → Carcaça resfriada.

## "Data Loggers"

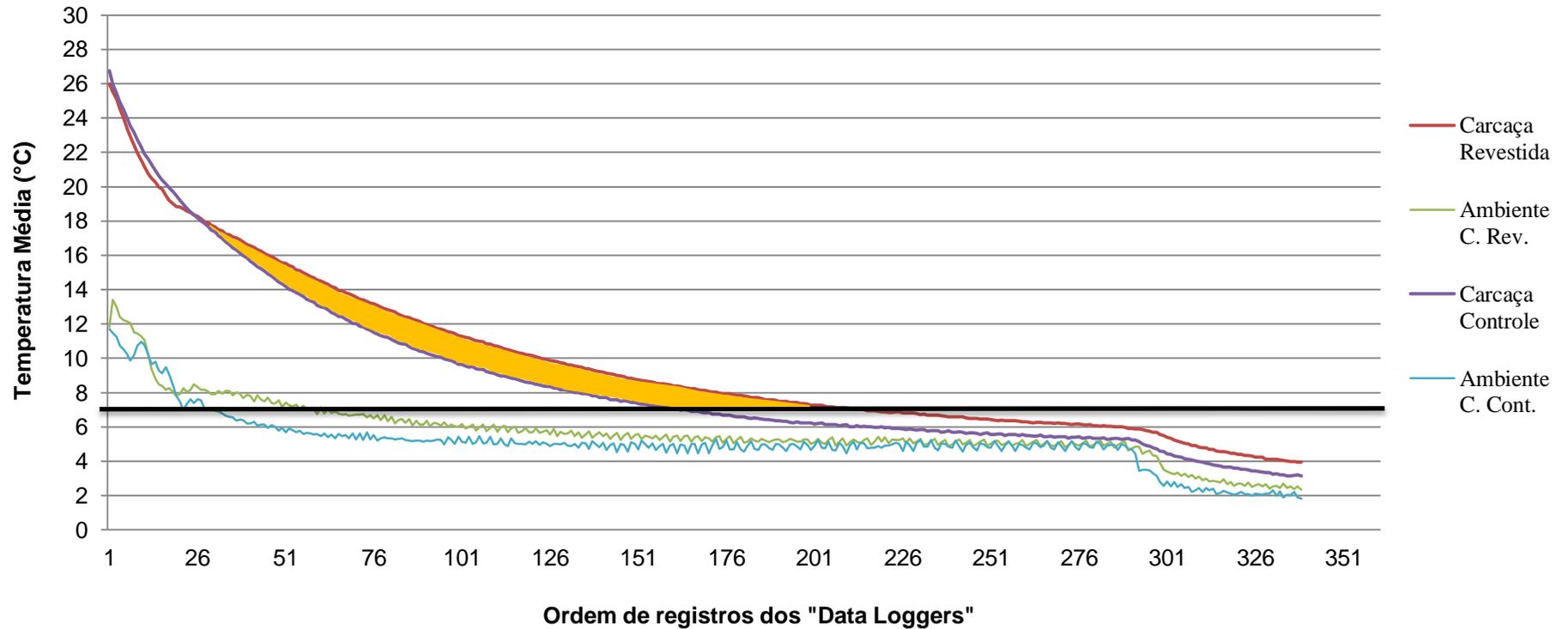


Gráfico 01 – Curvas de temperatura média da superfície do *M. Triceps branchii* (cabeça longa) das meias carcaças tratamento e controle e da temperatura ambiente em torno das meias carcaças tratamento, durante o resfriamento (maturação sanitária) na Câmara obtida por “Data Loggers”. Limite crítico de crescimento de 7°C (linha preta em negrito). Maior tempo em temperatura favorável de crescimento (área amarela).

O efeito injuriante/lesivo do resfriamento verificado nas meias carcaças sem revestimento não foi observado nas meias carcaças revestidas. As ocorrências e contagens de BHAM, *S. aureus* e *E. coli* não se alteram com o resfriamento, sendo estatisticamente iguais ( $p > 0,05$ ) aos resultados em carcaça quente. Inclusive, foi constatado aumento ( $p \leq 0,05$ ) de Enterobactérias nas meias carcaças revestidas durante o resfriamento (Tabelas 08 e 09).

Tabela 09 – Valores medianos de contagens (log UFC/cm<sup>2</sup>) das meias carcaças revestidas e em suas respectivas regiões de coleta

CONTAGEM (log UFC/cm <sup>2</sup> )	BHAM		<i>S. aureus</i>		Enterobactérias		<i>E. coli</i>	
	CQ	CR	CQ	CR	CQ	CR	CQ	CR
COXÃO	0,94 <sup>aA</sup>	1,18 <sup>aA</sup>	-0,60 <sup>aA</sup>	-0,72 <sup>aA</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>
PEITO	1,30 <sup>aB</sup>	1,41 <sup>aA</sup>	-0,01 <sup>aB</sup>	0,01 <sup>aB</sup>	(0,0) <sup>aB</sup>	-1,22 <sup>bB</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>
PESCOÇO	1,00 <sup>aA</sup>	0,87 <sup>aB</sup>	(0,0) <sup>aC</sup>	(0,0) <sup>aC</sup>	(0,0) <sup>aB</sup>	(0,0) <sup>aAB</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>
MEIA CARCAÇA	1,25 <sup>a</sup>	1,39 <sup>a</sup>	-0,22 <sup>a</sup>	-0,23 <sup>a</sup>	(0,0) <sup>a</sup>	-1,22 <sup>b</sup>	(0,0) <sup>a</sup>	(0,0) <sup>a</sup>

Valores na mesma linha acompanhados de letras minúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ). Valores na mesma coluna acompanhados de letras maiúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ). BHAM → Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas; CQ → Carcaça quente; CR → Carcaça resfriada; (0,0) → Contagem inferior ao limite de detecção (0,00 UFC/cm<sup>2</sup>).

Em princípio, o filme plástico realmente exerce efeito isolante, reduzindo a ação do fluxo de ar frio e seco (ventilação forçada) sobre a superfície das meias carcaças, minimizando ou até mesmo impedindo a desidratação da superfície e redução da Aa. Esse efeito isolante também influi sobre a taxa de redução da temperatura e permite que essa se mantenha elevada por mais tempo, conforme constatado nos resultados (Tabela 07 e Gráfico 01). É provável que esses efeitos resultantes do revestimento propiciem um ambiente mais favorável a adaptação pela microbiota às injúrias inerentes ao resfriamento, isso é, síntese de proteínas de adaptação (VIDOVIC et al., 2011; YAMANAKA; INOUE, 2001; WEBER et al., 2005) e alteração do perfil lipídico (ALLEN, 1953; RUSSELL, 1971; VIDOVIC et al., 2011), permitindo assim, o aumento da positividade de Enterobactérias (Gram-negativas), entretanto, sem alterações da população de *Escherichia coli* (Tabela 08 e 09).

O aumento de Enterobactérias observado nesse estudo foi mais expressivo na região do peito. Isso demonstra que mesmo após o revestimento plástico e o resfriamento, a região do peito continuou sendo a mais contaminada, salientando a importância da qualidade sanitária operacional do abate sobre a qualidade higiênico-sanitária do produto final (BRASIL, 1997a; USA, 1994; LABADIE, 1999; EU, 2005; UE, 2007) conforme vem sendo discutido nas páginas anteriores.

O aumento apenas de Enterobactérias, sem *Escherichia coli*, sugere baixa carga de bactérias de origem fecal e com isso, menor probabilidade de presença de patógenos entéricos (JORDAN et al., 2006), visto que a família *Enterobacteriaceae* compreende um grande número de organismos, e nem todos são origem fecal (LENAHAN, 2009), sendo apenas *E. coli* diretamente associada a essa contaminação (DELHALLE et al., 2008;. GHAFIR et al., 2008; MCEVOY et al., 2004). Essas baixas ocorrências e contagens de *E. coli* foram devidas principalmente a Procedimentos Sanitários Operacionais (PSO) bem executados durante as operações do abate.

#### 5.1.4 Condição higiênico-sanitária de meias carcaças revestidas resfriadas

Neste estudo não foram constatadas diferenças relevantes entre as meias carcaças quentes esquerdas e direitas, contudo, após o revestimento das meias carcaças esquerdas e o resfriamento das meias carcaças do experimento, as diferenças foram significativas e expressivas. Logo, sugere-se que essas diferenças possivelmente sejam causadas pelo revestimento e/ou resfriamento. Foi verificado que as meias carcaças revestidas tiveram ocorrências e contagens de BHAM, *S. aureus* e Enterobactérias significativamente maiores do que meias carcaças controle após o resfriamento por 24 horas em temperatura igual ou superior a 2°C e fluxo de ar médio de 1,3m/s. Entretanto, *Escherichia coli*, principal indicador da condição sanitária avaliado neste estudo, não diferiu entre os tratamentos (Tabela 10 e 11).

Tabela 10 – Ocorrências percentuais das meias carcaças resfriadas e em suas respectivas regiões de coleta

OCORRÊNCIA (%)	BHAM		<i>S. aureus</i>		Enterobactérias		<i>E. coli</i>	
	Rev.	Cont.	Rev.	Cont.	Rev.	Cont.	Rev.	Cont.
COXÃO	98,3 <sup>aA</sup>	90 <sup>aA</sup>	76,7 <sup>aA</sup>	30,0 <sup>bA</sup>	10,0 <sup>aA</sup>	8,3 <sup>aA</sup>	8,3 <sup>aA</sup>	1,7 <sup>aA</sup>
PEITO	100 <sup>aA</sup>	100 <sup>aB</sup>	96,7 <sup>aB</sup>	68,3 <sup>bB</sup>	55,0 <sup>aB</sup>	18,3 <sup>bA</sup>	13,3 <sup>aA</sup>	6,7 <sup>aA</sup>
PESCOÇO	96,7 <sup>aA</sup>	90,0 <sup>aA</sup>	26,7 <sup>aC</sup>	6,7 <sup>bC</sup>	38,3 <sup>aB</sup>	10,0 <sup>bA</sup>	6,7 <sup>aA</sup>	3,3 <sup>aA</sup>
MEIA CARCAÇA	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	76,7 <sup>b</sup>	71,7 <sup>a</sup>	35,0 <sup>b</sup>	25,0 <sup>a</sup>	10,0 <sup>a</sup>

Valores na mesma linha acompanhados de letras minúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).  
Valores na mesma coluna acompanhados de letras maiúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).  
BHAM → Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas; Rev. → Meia carcaça revestida; Cont. → Meia carcaça controle.

Embora as contagens de BHAM, *S. aureus* e Enterobactérias tenham sido significativamente maiores nas meias carcaças revestidas, essas contagens não ultrapassaram

1,5 log UFC/cm<sup>2</sup> para BHAM, 0,01 log UFC/cm<sup>2</sup> para *S. aureus* e -1,22 log UFC/cm<sup>2</sup> para Enterobactérias. Todas as contagens foram expressivamente inferiores aos respectivos limites mínimos (*m*) das principais legislações nacionais e internacionais (Estados Unidos, União Europeia e Austrália) que estabelecem parâmetros para a qualidade higiênico-sanitária de meias carcaças bovinas tanto quentes como resfriadas, até mesmo para *Escherichia coli*, que tiveram medianas de contagem de 0,00 UFC/cm<sup>2</sup> (abaixo do limite de detecção da técnica analítica) em ambos os tratamentos (UE, 2001; EU, 2005; UE, 2007; AFSCA, 2006a; BRASIL, 2006a, 2006b; USA, 1996; AUS, 2000; AUS 2003; AUS, 2007). Dessa forma, verifica-se que a condição higiênico-sanitária das meias carcaças não foi alterada com o uso do revestimento plástico, sem repercussão sobre o aspecto de saúde coletiva.

Tabela 11 – Valores medianos de contagens (log UFC/cm<sup>2</sup>) das meias carcaças resfriadas e em suas respectivas regiões de coleta

CONTAGEM (log UFC/cm <sup>2</sup> )	BHAM		<i>S. aureus</i>		Enterobactérias		<i>E. coli</i>	
	Rev.	Cont.	Rev.	Cont.	Rev.	Cont.	Rev.	Cont.
COXÃO	1,18 <sup>aA</sup>	0,27 <sup>bA</sup>	-0,72 <sup>aA</sup>	(0,0) <sup>bA</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>
PEITO	1,41 <sup>aA</sup>	0,90 <sup>bB</sup>	0,01 <sup>aB</sup>	-0,92 <sup>bB</sup>	-1,22 <sup>aB</sup>	(0,0) <sup>bA</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>
PESCOÇO	0,87 <sup>aB</sup>	0,10 <sup>bA</sup>	(0,0) <sup>aC</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>	(0,0) <sup>aAB</sup>	(0,0) <sup>bA</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>	(0,0) <sup>aA</sup>
MEIA CARCAÇA	1,40 <sup>a</sup>	0,85 <sup>b</sup>	-0,24 <sup>a</sup>	-1,30 <sup>b</sup>	-1,22 <sup>a</sup>	(0,0) <sup>b</sup>	(0,0) <sup>a</sup>	(0,0) <sup>a</sup>

Valores na mesma linha acompanhados de letras minúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ). Valores na mesma coluna acompanhados de letras maiúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ). BHAM → Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas; Rev. → Meia carcaça revestida; Cont. → Meia carcaça controle; (0,0) → Contagem inferior ao limite de detecção (0,00 UFC/cm<sup>2</sup>).

Os resultados de ambos os tratamentos avaliados no presente estudo assemelham-se aos resultados obtidos no terceiro levantamento australiano da condição bacteriana de meias carcaças bovinas tanto para contagens, como ocorrências, de BHAM, *S. aureus*, Enterobactérias e *E. coli* (PHILLIPS et al., 2006). Esses níveis de contagens e ocorrências dos principais indicadores bacterianos são considerados excelentes e muito promissores quanto ao avanço da qualidade higiênico-sanitária do abate de bovinos (PHILLIPS et al., 2006).

Além disso, as diferenças entre as meias carcaças resfriadas (revestidas e controles) situaram-se próximas de meia unidade logarítmica (Tabela 11), isso é, não ultrapassaram uma unidade logarítmica nos três grupos bacterianos avaliados (BHAM, *S. aureus* e Enterobactérias). A baixa amplitude das alterações (diferenças) e a manutenção da condição higiênico-sanitária oriunda do abate são evidências da viabilidade da técnica de revestimento plástico em meias carcaças durante o resfriamento. Entretanto, essas diferenças podem exigir

a necessidade de ajustes nos sistemas de acompanhamento contínuo dos processos (ANTONANGELO, 2012; CASAGRANDE, 2011; USA, 1996; AUS, 2000; AUS 2003; AUS, 2007) visto que não há perda do controle higiênico-sanitário operacional.

## 5.2 SEGUNDA ETAPA DO ESTUDO

### 5.2.1 Avaliação da perda de peso de meias carcaças e quartos bovinos revestidos durante o resfriamento

As perdas de peso das meias carcaças controles e revestidas observadas neste trabalho estão apresentadas na Tabela 12. No presente estudo a mediana da perda de peso nas meias carcaças controle foi de 2,23% após 24 horas de resfriamento a temperatura igual ou superior a 2°C (Gráfico 03) e fluxo de ar médio de 1,3m/s mensurado a 1,0-1,5m do piso da câmara (Figura 50). Esse resultado é superior aos encontrados por Mesquita et al. (2003) de 1,39% e 1,54% em sistema de resfriamento convencional e com ventilação forçada, respectivamente, após 24 horas; e Kinsella et al. (2006) de 1,36% também após 24 horas de resfriamento. Contudo, se aproxima de outros estudos que relatam perdas em torno de 2% (GREER; JONES, 1997; JONES; ROBERTSON, 1988).

Tabela 12 – Valores percentuais medianos, mínimos e máximos das perdas de peso das meias carcaças com 24, 48, 72 e 96 e nos intervalos entre 24/48, 48/72 e 72/96 horas de resfriamento

Tempo de Resfriamento	Meias Carcaças Controle			Meias Carcaças Revestidas		
	Mediana	Mínimo	Máximo	Mediana	Mínimo	Máximo
24 horas	2,234 <sup>aA</sup>	1,090	5,985	1,004 <sup>bA</sup>	0,642	1,349
48 horas	2,526 <sup>aB</sup>	1,289	6,300	1,443 <sup>bB</sup>	1,076	1,753
72 horas	2,923 <sup>aC</sup>	1,487	6,537	1,871 <sup>bC</sup>	1,517	2,220
96 horas	3,209 <sup>aD</sup>	1,735	6,773	2,237 <sup>bD</sup>	1,762	2,607
24/48 horas	0,274 <sup>aA</sup>	0,088	0,511	0,420 <sup>bA</sup>	0,232	0,610
48/72 horas	0,394 <sup>aB</sup>	0,201	0,603	0,494 <sup>bA</sup>	0,248	0,672
72/96 horas	0,289 <sup>aAB</sup>	0,154	0,441	0,295 <sup>aB</sup>	0,154	0,509

Valores na mesma linha acompanhados de letras minúsculas distintas indicam diferença estatística ( $p \leq 0,05$ ).

Valores na mesma repartição da coluna acompanhados de letras maiúsculas indicam diferença estatística ( $p \leq 0,05$ ).

Após os quartos serem submetidos ao resfriamento, a perda mediana das meias carcaças controle elevou-se para 2,54% após 24 horas de resfriamento na segunda câmara [média de 1,5°C com elevada flutuação devido aos turnos de trabalho (Gráficos 04 e 05);

fluxo de ar médio de 0,6m/s (Figura 50)]. Todavia, Prado e Felício (2010) identificaram perda de peso (1,67%) após 48 horas de resfriamento convencional inferior a verificada neste trabalho mesmo em menor temperatura (0°C) e maior ventilação (2m/s).

Os valores mais elevados de perdas do resfriamento observados neste estudo podem ser explicados pelas inúmeras variáveis que podem influir sobre essas perdas, como o sistema de resfriamento, taxa de resfriamento, umidade relativa e fluxo de ar (CROWLEY et al., 2010; FERNÁNDEZ; VIEIRA, 2012; McGEEHIN et al., 2002; SAVELL et al., 2005; SMITH; CARPENTER, 1973), assim como as características das carcaças: peso, tamanho e composição (FISHER; BAYNTUN, 1983; HIPPE et al., 1991; JOHNSON et al., 1988; SMITH; CARPENTER, 1973).

Nesse trabalho foi verificada significativa redução ( $p \leq 0,05$ ) em todas as perdas de peso das meias carcaças com o uso do revestimento plástico durante as primeiras 24 horas de resfriamento. Observando os extremos, a perda com 24 horas reduziu de 2,23% para 1,0% e com 96 horas de 3,20 para 2,23% (Tabela 12). Comparativamente, reduções dessa magnitude foram verificadas por Prado e Felício (2010) avaliando a redução da perda de peso pelo uso da aspersão água fria (2°C) em meias carcaças. Esses autores encontraram redução de 1,67% para -0,28% após 48 horas, respectivamente para o resfriamento convencional e aspersão de água nas primeiras seis horas seguido de resfriamento convencional. Esses autores também verificaram que carcaças aspergidas perdem calor mais rapidamente. Entretanto, Kinsella et al. (2006) encontraram redução de 1,55% para 1,36% utilizando aspersão e 24 horas de resfriamento. Para esses autores, a divergência entre os estudos a respeito da aspersão de carcaças está intimamente ligada a variações nos protocolos de aspersão utilizados. O que corrobora com estudo de Prado e Felício (2010), eles identificaram possibilidade de ganho de peso pela carcaça por absorção de água caso o sistema de aspersão não esteja bem ajustado. Também verificaram maiores perdas por exsudação durante a estocagem dos cortes embalados à vácuo de carcaças que foram aspergidas.

Os quartos dianteiros revestidos praticamente não sofreram perda (Tabela 13), mesmo após 72 horas de estocagem (perda de 0,04%). Após 24 horas de resfriamento (armazenamento), as perdas foram de 0,55% e 0,73%, respectivamente para os dianteiros das meias carcaças controles e revestidas. Ao final das 72 horas, essas mesmas perdas foram de 1,22 e 1,47%. Com relação aos traseiros-serrotes (Tabela 14), a perda ao final das 72 horas de resfriamento ficou em 0,34%, sendo que com 24 horas de estocagem foi de 0,16%, perdas essas estatisticamente inferiores ( $p \leq 0,05$ ) quando comparado às perdas com 24 e 72 horas dos traseiros especiais oriundos de meias carcaças controle (0,33 e 0,95%) e as resfriadas

(0,46 e 1,18%), respectivamente. Os resultados desse estudo ressaltam três aspectos importantes: a existência de uma expressiva perda de peso durante a equalização e armazenamento de quartos; a eficiência na redução das perdas por evaporação no revestimento tanto de dianteiros quanto de traseiros-serrotes; e por último, grande escassez de trabalhos que estudem estes aspectos.

Tabela 13 – Valores percentuais medianos (Med.), mínimos (Mín.) e máximos (Máx.) das perdas de peso dos quartos dianteiros com 24, 48 e 72 e nos intervalos entre 24/48 e 48/72 horas de resfriamento

DIANTEIRO		Tempo de Resfriamento						
		24h	48h	72h	72h *	24/48h	48/72h	72/72h **
Meia Carcaça Controle	Med.	0,555 <sup>aA</sup>	0,864 <sup>aB</sup>	1,228 <sup>aC</sup>	-	0,356 <sup>aA</sup>	0,349 <sup>aA</sup>	-
	Mín.	0,199	0,423	0,846	-	0,000	0,000	-
	Máx.	0,962	1,215	1,683	-	0,591	0,554	-
Meia Carcaça Revestida	Med.	0,739 <sup>bA</sup>	1,187 <sup>bB</sup>	1,472 <sup>bC</sup>	-	0,376 <sup>aA</sup>	0,357 <sup>aA</sup>	-
	Mín.	0,528	0,779	1,134	-	0,131	0,178	-
	Máx.	1,033	1,417	1,741	-	0,604	0,504	-
Dianteiro Revestido	Med.	-0,182 <sup>cA</sup>	-0,182 <sup>cA</sup>	0,000 <sup>cB</sup>	0,043 <sup>C</sup>	0,000 <sup>bA</sup>	0,181 <sup>bB</sup>	0,040 <sup>B</sup>
	Mín.	-0,549	-0,337	-0,198	-0,156	-0,281	0,000	0,034
	Máx.	0,274	0,274	0,549	0,606	0,273	0,560	0,072

Valores na mesma coluna acompanhados de letras minúsculas distintas indicam diferença estatística ( $p \leq 0,05$ ). Valores na mesma repartição da linha acompanhados de letras maiúsculas distintas indicam diferença estatística ( $p \leq 0,05$ ).

\*Perda de peso dos dianteiros revestidos com 72 horas de resfriamento (estocagem) depois da retirada do revestimento plástico.

\*\* Perda de peso dos dianteiros revestidos após a retirada do revestimento plástico.

Para esse estudo, a elevada amplitude entre as perdas de peso das meias carcaças com e sem o revestimento plástico após primeiras 24 horas de resfriamento (Tabela 12) pode ser explicada pelas perdas por evaporação serem mais expressivas nas primeiras horas do resfriamento conforme relatos de Crowley et al. (2010), somado ao efeito barreira do revestimento plástico sobre a ação do frio e ventilação forçada, que culminou com a menor taxa de evaporação observada na meia carcaça revestida.

Todavia, no presente trabalho, após a retirada do revestimento, as amplitudes das diferenças reduziram, mesmo com as perdas aumentando com o decorrer do resfriamento (Tabela 12). Como as meias carcaças com revestimento não sofrem com a expressiva evaporação no início do resfriamento (CROWLEY et al. 2010; FISHER; BAYNTUN, 1983), após a retirada do revestimento possuem maior facilidade de perder água por evaporação do que as carcaças controles, ocasionando assim um efeito compensatório.

Tabela 14 – Valores percentuais medianos (Med.), mínimos (Mín.) e máximos (Máx.) das perdas de peso dos traseiros-serrotes com 24, 48 e 72 e nos intervalos entre 24/48 e 48/72 horas de resfriamento

TRASEIRO-SERROTE		Tempo de Resfriamento						
		24h	48h	72h	72h*	24/48h	48/72h	72/72h**
Meia Carcaça Controle	Med.	0,336 <sup>aA</sup>	0,699 <sup>aB</sup>	0,951 <sup>aC</sup>	-	0,326 <sup>aA</sup>	0,300 <sup>aA</sup>	-
	Mín.	0,104	0,311	0,518	-	0,169	0,159	-
	Máx.	0,535	0,829	1,240	-	0,545	0,417	-
Meia Carcaça Revestida	Med.	0,467 <sup>bA</sup>	0,913 <sup>bB</sup>	1,181 <sup>bC</sup>	-	0,470 <sup>bA</sup>	0,314 <sup>aB</sup>	-
	Mín.	0,168	0,503	0,609	-	0,203	0,102	-
	Máx.	0,696	1,087	1,413	-	0,727	0,469	-
Dianteiro Revestido	Med.	0,168 <sup>cA</sup>	0,167 <sup>cA</sup>	0,320 <sup>cB</sup>	0,346 <sup>B</sup>	0,000 <sup>cA</sup>	0,160 <sup>bB</sup>	0,028 <sup>B</sup>
	Mín.	0,000	0,000	0,155	0,180	-0,239	0,000	0,026
	Máx.	0,425	0,612	0,765	0,790	0,307	0,248	0,041

Valores na mesma coluna acompanhados de letras minúsculas distintas indicam diferença estatística ( $p \leq 0,05$ ). Valores na mesma repartição da linha acompanhados de letras maiúsculas distintas indicam diferença estatística ( $p \leq 0,05$ ).

\*Perda de peso dos dianteiros revestidos com 72 horas de resfriamento (estocagem) depois da retirada do revestimento plástico.

\*\* Perda de peso dos dianteiros revestidos após a retirada do revestimento plástico.

Entretanto, esse efeito compensatório ocorre até 48 horas de resfriamento total. Após esse período, as perdas continuaram a aumentar, mas sem diferença ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos, o que concorda com os estudos de Fisher e Bayntun (1983) e Crowley et al. (2010), logo, a perda de peso é mais intensa no início do resfriamento, mas reduz ao longo do tempo.

Em princípio, mesmo com o efeito compensatório, ainda observou-se elevada diferença ( $p \leq 0,05$ ) entre os tratamentos no fim do resfriamento, ficando clara a eficiência do revestimento de meias carcaças e quartos bovinos na redução da perda de peso.

Pelo fato das perdas no *post-mortem* representarem prejuízos diretos a indústria da carne (SMITH; CARPENTER, 1973; WINSTANLEY, 1981) torna-se relevante enfatizar a escassez de trabalhos avaliando a perda de peso de meias carcaças e quartos bovinos durante o resfriamento, principalmente no que se refere a soluções para minimizar essas perdas. A maioria dos trabalhos direcionados a essa problemática avaliam os efeitos da aspersão de água sobre meias carcaças como forma de minimizar as perdas durante o resfriamento (GREER; DILTS, 1988; HAMBY et al., 1987; KINSELLA et al., 2006; PRADO; FELÍCIO, 2010).

## 6 CONCLUSÕES

Nesse estudo foi constatado o efeito injuriante/lesivo do resfriamento sobre as populações de BHAM e *S. aureus*, contudo, sem influência sobre as contagens de *Enterobactérias* e *Escherichia coli* provavelmente pelo maior poder de adaptação dessas às condições de resfriamento, conforme consagrado na literatura. Também foi identificada a superfície do peito como a região de coleta com maiores ocorrências e contagens de BHAM, *S. aureus*, *Enterobactérias* e *E. coli.*, tanto em meia carcaça quente como resfriada, até mesmo entre os tratamentos (carcaças revestidas e controle), demonstrando-se, dessa forma, a importância das operações do abate sobre a qualidade final, visto que mesmo com o efeito injuriante/lesivo do resfriamento, os reflexos da contaminação cruzada durante o abate são identificados mesmo em meias carcaças resfriadas, independente do tratamento utilizado.

No presente trabalho observou-se a eficiência da técnica de revestimento de meias carcaças e quartos bovinos na redução das perdas de peso durante o resfriamento. Verificou-se que as perdas de peso aconteceram durante todo o período de avaliação (96 horas) e que com o uso do revestimento plástico é possível redução nestas perdas de até 50%.

Verificou-se que o revestimento plástico exerce efeito isolante e que alterações bacterianas como manutenção das ocorrências e contagens de BHAM, *S. aureus* e *E. coli*, e aumento das ocorrências e contagens de *Enterobactérias* ocorrem com o uso da técnica. Entretanto, essas alterações foram inexpressivas visto a baixa magnitude das elevações entre os tratamentos (meia unidade logarítmica) e ao fato das contagens de todos os indicadores bacterianos avaliados estarem abaixo dos limites inferiores das principais legislações nacionais e internacionais, evidenciando-se, dessa forma, que a condição higiênico-sanitária das meias carcaças não foi alterada, isto é, sem influências sobre o aspecto de saúde coletiva.

Em síntese, pôde-se concluir que o revestimento plástico, nas condições e variáveis estabelecidas para este estudo, mostrou-se uma boa ferramenta para a redução da perda de peso durante o resfriamento de meias carcaças e quartos bovinos. Algumas alterações bacterianas e térmicas desfavoráveis aconteceram, mas a condição higiênico-sanitária das meias carcaças avaliadas foi mantida.

## 7 CONSIDERAÇÕES

É importante considerar que esse experimento ocorreu em condição de Maturação Sanitária, temperatura  $\geq 2^{\circ}\text{C}$  por 24 horas, e possuiu características e variáveis específicas para este estudo, logo, não se pode afirmar que os mesmos comportamentos microbianos, físico-químicos e de perda de peso constatados neste trabalho serão identificados em outros estabelecimentos e sistemas de resfriamento que utilizarem o revestimento plástico em meias carcaças e quartos bovinos. Torna-se relevante recomendar que estabelecimentos que desejem implantar esse sistema façam estudos internos e individuais a fim de determinar as condições da técnica para a nova situação proposta. Mas, acima de tudo, a condição higiênico-sanitária final das meias carcaças tratadas é diretamente e principalmente associada à condição higiênico-sanitária inicial.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

3M. *Placas Petrifilm*<sup>TM</sup>. 2012a. Disponível em: <[http://solutions.3m.com.br/wps/portal/3M/pt\\_BR/Cosmeticos/Home/SolProcesso/QualiAsseguradaContrMateriaPrima/PlacasPetrifilm/?PC\\_7\\_RJH9U523085E4027MTP2LR34E5000000\\_nid=GW9FWMDNP5be06J40F96SQgl&PC\\_7\\_RJH9U523085E4027MTP2LR34E5000000\\_c=LongDescOutlink](http://solutions.3m.com.br/wps/portal/3M/pt_BR/Cosmeticos/Home/SolProcesso/QualiAsseguradaContrMateriaPrima/PlacasPetrifilm/?PC_7_RJH9U523085E4027MTP2LR34E5000000_nid=GW9FWMDNP5be06J40F96SQgl&PC_7_RJH9U523085E4027MTP2LR34E5000000_c=LongDescOutlink)>. Acesso em: 14 set. 2012.

3M. *Placas Petrifilm*<sup>TM</sup>. Catálogo de produtos. 2012b. Disponível em: <[http://multimedia.3m.com/mws/mediawebserver?mwsId=SSSSSufSevTsZxtUOxm9n8\\_9evUqevTSevTSevTSeSSSSSS--&fn=70-2009-9418-7.pdf](http://multimedia.3m.com/mws/mediawebserver?mwsId=SSSSSufSevTsZxtUOxm9n8_9evUqevTSevTSevTSeSSSSSS--&fn=70-2009-9418-7.pdf)>. Acesso em 14 set. 2012.

3M. *Placas Petrifilm*<sup>TM</sup>. 3M<sup>TM</sup> Petrifilm<sup>TM</sup> Staph Express Count Plates. 2012c. Disponível em: <[http://solutions.3m.com/wps/portal/3M/en\\_US/Microbiology/FoodSafety/product-information/product-catalog/?PC\\_7\\_RJH9U523003DC023S7P92O3O87000000\\_nid=D7BKZ3NP1Mbe29BDXSBJ7Fgl](http://solutions.3m.com/wps/portal/3M/en_US/Microbiology/FoodSafety/product-information/product-catalog/?PC_7_RJH9U523003DC023S7P92O3O87000000_nid=D7BKZ3NP1Mbe29BDXSBJ7Fgl)>. Acesso em 14 set. 2012.

3M. *Placas Petrifilm*<sup>TM</sup>. 3M<sup>TM</sup> Petrifilm<sup>TM</sup> Aerobic Count Plates. 2012d. Disponível em: <[http://solutions.3m.com/wps/portal/3M/en\\_US/Microbiology/FoodSafety/product-information/product-catalog/?PC\\_7\\_RJH9U523003DC023S7P92O3O87000000\\_nid=J5W756N61Vbe29BDXSBJ7Fgl](http://solutions.3m.com/wps/portal/3M/en_US/Microbiology/FoodSafety/product-information/product-catalog/?PC_7_RJH9U523003DC023S7P92O3O87000000_nid=J5W756N61Vbe29BDXSBJ7Fgl)>. Acesso em 17 set. 2012.

3M. *Placas Petrifilm*<sup>TM</sup>. 3M<sup>TM</sup> Petrifilm<sup>TM</sup> *E. coli* Count Plates. 2012e. Disponível em: <[http://solutions.3m.com/wps/portal/3M/en\\_US/Microbiology/FoodSafety/product-information/product-catalog/?PC\\_7\\_RJH9U523003DC023S7P92O3O87000000\\_nid=C0WJ62882Vbe29BDXSBJ7Fgl](http://solutions.3m.com/wps/portal/3M/en_US/Microbiology/FoodSafety/product-information/product-catalog/?PC_7_RJH9U523003DC023S7P92O3O87000000_nid=C0WJ62882Vbe29BDXSBJ7Fgl)>. Acesso em 17 set. 2012.

ABEE, T.; WOUTERS, J.A. Microbial stress response in minimal processing. *International Journal of Food Microbiology*, n.50, 1999. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160599000781>>. Acesso em: 26 abr. 2013.

AFSCA. Comité scientifique de l'agence federale pour la securite de la chaine alimentaire. AVIS 39-2006 - Critères d'hygiène des procédés en ce qui concerne le nombre de colonies aérobies, les Enterobacteriaceae et Salmonella (dossier Sci Com 2006/11). Bruxelles, 2006a. Disponível em: <[http://www.afsca.be/home/com-sci/doc/avis06/AVIS39-2006\\_Fr\\_DOSSIER2006-11.pdf](http://www.afsca.be/home/com-sci/doc/avis06/AVIS39-2006_Fr_DOSSIER2006-11.pdf)>. Acesso em: 26 abr. 2013.

AFSCA. Comité scientifique de l'agence federale pour la securite de la chaine alimentaire. D/2006/10413/2 - Bon Etat des Toisons pour des viandes sures. Bruxelles: Gil Houins, 2006b. Disponível em: <[http://www.afsca.be/publicationsthematiques/\\_documents/2006-12\\_Folder\\_TS\\_Fr\\_S.pdf](http://www.afsca.be/publicationsthematiques/_documents/2006-12_Folder_TS_Fr_S.pdf)>. Acesso em: 26 abr.2013.

ALLEN, M.B. The thermophilic aerobic sporeforming bacteria. *Bacteriological Reviews*, n.17, 1953. Disponível em: <<http://pubmedcentralcanada.ca/pmcc/articles/PMC180763/pdf/bactrev00013-0037.pdf>>. Acesso em: 26 abr. 2013.

ALLEN, D.M.; HUNT, M.C.; LUCHIARI FILHO, A.; DANLER, R.J.; GOLL, S.J. Effects of spray chilling and carcass spacing on beef carcass cooler shrink and grade actors. *Journal of Animal Science*, v.64, 1987.

AL-MATUIRI, M.F. The incidence of Enterobacteria causing food poisoning in some meat products. *Advanced Journal of Food Science and Technology*, v. 3, n. 2, 2011. Disponível em: < <http://maxwellsci.com/print/ajfst/v3-116-121.pdf> >. Acesso em: 26 abr. 2013.

ANTIC, D.; BLAGOJEVIC, B.; DUNCIC, M.; NASTASIJEVIC, I.; MITROVIC, R.,; BUNCIC, S. Distribution of microflora on cattle hides and its transmission to meat via direct contact. *Food Control*, v.21, 2010. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S095671350900348X> >. Acesso em: 26 abr. 2013.

ANTONANGELO, D.P. *Considerações sobre a legislação nacional quanto aos microrganismos indicadores utilizados em carcaças bovinas para avaliação higiênica do processo de abate*. Niterói, 2012. 112 f. Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) – Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2012.

AOAC INTERNATIONAL. Method 998.08. *Escherichia coli* counts in poultry, meats, and seafood, dry rehydratable film method (Petrifilm EC Plate Method). In: AOAC INTERNATIONAL. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 18 ed., 2005, rev. 1, cap. 17, p. 60.

AOAC INTERNATIONAL. Method 990.12 Aerobic Plate Count in Foods, Dry Rehydratable Film (Petrifilm Aerobic Plate Count) Method, (3M Microbiology / 3M, 225-5S 3M Center, St. Paul, MN 55144 USA).

AOAC INTERNATIONAL. Method 2003.01 3M™ Petrifilm™ Enterobacteriaceae Count Plate Method for the Enumeration Enterobacteriaceae in Selected Foods (3M Microbiology, 3M Center, Building 260-6B-01, St. Paul, MN 55144-1000, USA).

AOAC INTERNATIONAL. Method 2003.11 3MTM Petrifilm™ Staph Express Count Plate Method for the Enumeration of *Staphylococcus aureus* in Selected Types of Meat, Seafood, and Poultry (3M Microbiology, 3M Center, Building 260-6B-01, St. Paul, MN 55144-1000, USA).

ARTHUR, T.M.; BOSILEVAC, J.M.; NOU, X.; SHACKELFORD, S.D.; WHEELER, T.L.; KENT, M.P. *Escherichia coli* O157 prevalence and enumeration of aerobic bacteria, Enterobacteriaceae, and *Escherichia coli* O157 at various steps in commercial beef processing plants. *Journal of Food Protection*, v.67, n.4, 2004. Disponível em: < <http://www.ars.usda.gov/SP2UserFiles/Place/54380530/2004670658.pdf> >. Acesso em: 23 abr. 2013.

ARTHUR, T.M.; BOSILEVAC, J.M.; BRICHTA-HARHAY, D.M.; GUERINI, M.N.; KALCHAYANAND, N.; SHACKELFORD, S. D. Transportation and lairage environment effects on prevalence, numbers, and diversity of *Escherichia coli* O157:H7 on hides and carcasses of beef cattle at processing. *Journal of Food Protection*, v.70, n.2, 2007. Disponível em: < [http://www.usm\\_arc.usda.gov/SP2UserFiles/Place/54380530/2007700280.pdf](http://www.usm_arc.usda.gov/SP2UserFiles/Place/54380530/2007700280.pdf) >. Acesso em: 23 abr. 2013.

AUSTRÁLIA (AUS). Food Science Australia. Validation of critical limits during chilling. *Meat Technology Update*, n.4, 2004. Disponível em: < <http://www.google.com.br/url?sa=t&rct=j&q=Validation+of+critical+limits+during+chilling&source=web&cd=1&cad=rja&ved=0CDYQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.redmeatinnovation.com.au%2Fi> >.

novation-areas%2Ffood-safety%2Ffood-safety-publications%2Fmeat-technology-update-04-4&ei=Mld8UdDFM4Tq8wS024H4DQ&usg=AFQjCNEbm2IqBvIXzLzr3Ct7endVCuv1gQ&bvm=bv.45645796,d.eWU>. Acesso em: 27 abr.2013.

AUSTRÁLIA (AUS). Food Science Australia. Beef carcass chilling – Opportunities for customising programs. *Meat Technology Update*, n.2, 2007.

AUSTRÁLIA (AUS). Australian Quarantine And Inspection Service (AQIS). *AQIS Notice Meat 2000/09*. Carcase microbiological monitoring program (ESAM) – consolidate manual. 2000. Disponível em: <[http://www.daff.gov.au/data/assets/pdf\\_file/0005/113918/2000\\_09.pdf](http://www.daff.gov.au/data/assets/pdf_file/0005/113918/2000_09.pdf)>. Acesso em: 20 jan. 2012.

AUSTRÁLIA (AUS). Australian Quarantine And Inspection Service (AQIS). *AQIS Notice Meat 2003/06*. Revised ESAM program. 2003. Disponível em: <[http://www.daff.gov.au/data/assets/pdf\\_file/0003/113970/2003\\_06.pdf](http://www.daff.gov.au/data/assets/pdf_file/0003/113970/2003_06.pdf)>. Acesso em: 20 jan. 2012.

AUSTRÁLIA (AUS). Australian Quarantine And Inspection Service (AQIS). *AQIS Notice Meat 2007/12*. ESAM (*E. coli* – *Salmonella*) TVC sampling of carcasses in EU listed establishments. 2007. Disponível em: <[http://www.daff.gov.au/data/assets/pdf\\_file/0004/391801/2007-12\\_-ESAM\\_E.\\_coliSalmonella\\_TVC\\_sampling\\_of\\_carcasses\\_in\\_EU\\_listed\\_establishments.pdf](http://www.daff.gov.au/data/assets/pdf_file/0004/391801/2007-12_-ESAM_E._coliSalmonella_TVC_sampling_of_carcasses_in_EU_listed_establishments.pdf)>. Acesso em: 20 jan. 2012.

AYMERICH, T.; PICOUET, P. A.; MONFORT, J. M. Decontamination technologies for meat products. *Meat Science*, v.78, 2008. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174007002410>>. Acesso em: 23 abr. 2013.

BAILEY, C.G.; JAYAS, D.S.; HOLLEY, R.A.; JEREMIAH, L.E.; GILL, C.O. Design, fabrication and testing of returnable, insulated, nitrogen-refrigerated shipping container for distribution of fresh red meat under controlled CO<sub>2</sub> atmosphere. *Food Research International*, v. 30, n.10, 1997. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996998000374>>. Acesso em: 23 abr.2013.

BARKOCY-GALLAGHER, G.A.; ARTHUR, T.M.; RIVERA-BETANCOURT, M.; NOU, X.; SHACKELFORD, S.D.; WHEELER, T.T.L. Seasonal prevalence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* including O157:H7 and non-O157 serotypes, and *Salmonella* in commercial beef processing plants. *Journal of Food Protection*, v.66, n.11, 2003. Disponível em: <<http://www.ars.usda.gov/SP2UserFiles/Place/54380530/2003661978.pdf>>. Acesso em: 23 abr.2013.

BASTIEN, D.; LUCBERT, J.; CARTIER, P. La propriété des bovins à l'abattoir: état des lieux de la situation, facteurs explicatifs et outil de notation. *Recent Recherches Ruminants*, v. 13, 2006.

BELOTI, V.; SOUZA, J.A.; BARROS, M.A. F.; NERO, L.A.; MATTOS, M.R.; GUSMÃO, V.V.; MORAES, L.B. Evaluation of Petrifilm<sup>TM</sup> EC and HS for total coliforms and *Escherichia coli* enumeration in water. *Brazilian Journal of Microbiology*, São Paulo, v. 34, n. 4, 2003.

BISS, M.E.; HATHAWAY, S.C. Microbiological and visible contamination of lamb carcasses according to preslaughter presentation status: Implications for HACCP. *Journal of Food Protection*, v.58, n.7, 1995.

BLAGOJEVIC, B.; ANTIC, D.; DUCIC, M.; BUNCIC, S. Ratio between carcass and skin microflora as an abattoir process hygiene indicator. *Food Control*, v.22, 2011. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713510002033> >. Acesso em: 26 abr.1013.

BOSILEVAC, J. M.; NOU, X.; OSBORN, M. S.; ALLEN, D. M.; KOOHMARAIE, M. Development and evaluation of an on-line hide decontamination procedure for use in a commercial beef processing plant. *Journal of Food Protection*, v. 68, n.2,2005. Disponível em: < [http://afsrweb.usda.gov/SP2UserFiles/Place/54380530/2005680265 .pdf](http://afsrweb.usda.gov/SP2UserFiles/Place/54380530/2005680265.pdf) >. Acesso em: 26 abr. 2013.

BRANDÃO, J. L. *Monitoramento microbiológico em uma linha de abate de bovinos mediante o emprego de microrganismos indicadores de higiene e pesquisa de patógenos de importância em saúde pública*. Curitiba, 2011. 74 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2011.

BRASIL. Portaria n° 5, de 8 de novembro de 1988. Aprova a Padronização dos Cortes de Carne Bovina. *Diário Oficial [da] União*, Brasília, DF, 1988.

BRASIL. Portaria n° 612, de 5 de outubro de 1989. Aprova o novo Sistema Nacional de Tipificação de Carcaças Bovinas. *Diário Oficial [da] União*, Brasília, DF, 1989.

BRASIL. Decreto n°. 30.691, de 29 de março de 1952. Aprova o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. *Diário Oficial [da] União*, Rio de Janeiro, RJ, n. 155, p. 10.785, 7 jul. 1952. Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Circular n°. 245/96/DCI/DIPOA, de 25 de novembro de 1996. Dispõe sobre a exportação de carne e produtos cárneos para os EUA e dá outras providências. Brasília, DF, 1996a.

BRASIL. Portaria 304, de 22 de abril de 1996. Introduce modificações racionais e progressivas para que se alcancem avanços em termos higiênicos, sanitários e tecnológicos na distribuição e comercialização de carne bovina, bubalina e suína, visando principalmente à saúde do consumidor. *Diário Oficial [da] União*, Brasília, DF, 1996b.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Divisão de Controle de Comercio Internacional. Circular n°. 273/97/DCI/DIPOA, de 03 de julho de 1997. Dispõe sobre exportação de produtos a base de carnes para os Estados Unidos da America. Nova Legislação americana sobre inspeção sanitária de carnes e modificações introduzidas no Manual para testes de *Escherichia coli* para verificação de processo em estabelecimentos de abate de bovinos e suínos. Brasília, DF, 1997a.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. *Circular n.º 121/97/DCI/DIPOA*, de 03 de julho de 1997. Fornece instruções complementares à circular 245/96/DCI/DIPOA, de 26 de novembro de 1996. Brasília, DF, 1997b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *RDC n.º 12*, de 2 de jan. de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. *Diário Oficial [da] União*, Brasília, DF, 10 jan.2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Divisão de Controle de Comercio Internacional. *Circular n.º 260/2003/DCI/DIPOA*, de 23 de abril de 2003. Orienta estabelecimentos exportadores de carnes e produtos cárneos derivados para a União Europeia. Brasília, DF, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Divisão de Controle de Comercio Internacional. *Circular n.º 463/DCI/DIPOA*, de 05 de agosto de 2004. Dispõe sobre programas de autocontroles de estabelecimento habilitados para os Estados Unidos (EUA) e para Estados-Membros da União Européia (UE). Brasília, DF, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Coordenação Geral de Programas Especiais. *Circular n.º 175/2005/CGPE/DIPOA*, de 16 de maio de 2005. Dispõe sobre procedimentos de verificação dos programas de autocontrole. Brasília, DF, 2005a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Coordenação Geral de Programas Especiais. *Circular n.º 176/2005/CGPE/DIPOA*, de 16 de maio de 2005. Modificação das Instruções para verificação do PPHO e aplicação dos procedimentos de verificação dos elementos de inspeção previstos na Circular n.º 175/2005/CGPE/DIPOA, de 16 de maio de 2005. Brasília, DF, 2005b.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Coordenação Geral de Programas Especiais. *Circular n.º 665/2006/CGPE/DIPOA*, de 19 de setembro de 2006. Dispõe sobre os critérios de avaliação de desempenho para *Salmonella* em carcaças bovinas produzidas em estabelecimentos habilitados a exportação. Brasília, DF, 2006a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Coordenação Geral de Programas Especiais. *Circular n.º 835/2006/CGPE/DIPOA*, de 13 de novembro de 2006. Aditamento da Circular n.º 463/2004/DCI/DIPOA – Testes microbiológicos em carcaças bovinas. Brasília, DF, 2006b.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Coordenação Geral de Programas Especiais. *Circular nº 321/2008/CGPE/DIPOA*, de 27 de mar. de 2008. Flexibilização dos procedimentos de “*inspeção ante mortem*”, sem perder a qualidade das informações necessárias à certificação das carnes exportadas para aquele bloco econômico. Brasília, DF, 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. *Resolução nº 2*, de 9 de agosto de 2011. Critérios para a utilização de sistema de aspersão aplicado no processo de resfriamento de meias carcaças de bovídeos. Brasília, DF, 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Coordenação Geral de Programas Especiais. *Circular nº. 004/2012/DICAR/CGI/ DIPOA*, de 20 de abril de 2012. Dispõe sobre o cronograma de atividades do Programa de Controle Microbiológico em Carcaças Bovinas. Brasília, DF, 2012.

BROWN, M.H. *Microbiological aspects of frozen foods*. In: BOLD, W.B. *Food freezing: Today and Tomorrow*. London: Springer Verlag, 1991.

BYRNE, C. M.; BOLTON, D. J.; SHERIDAN, J. J.; MCDOWELL, D. A.; BLAIR, I. S. The effects of preslaughter washing on the reduction of *Escherichia coli* O157:H7 transfer from cattle hides to carcasses during slaughter. *Letters in Applied Microbiology*, v.30, 2000. Disponível em: < <http://www.readcube.com/articles/10.1046/j.1472-765x.2000.00689.x>>. Acesso em: 26abr.2013.

CALLOW, E.H. The water content of meat. *Food Processing and Packaging*, April. 3. 1962.

CASAGRANDE, L. *Avaliação dos critérios de verificação e interpretação dos resultados de Escherichia coli no processo de abate de bovinos em estabelecimento habilitado à exportação*. Niterói, 2011. 90 f. Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) – Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2011.

CARDOSO, A.L.S.P.; TESSARI, E.N.C.; CASTRO, A.G.M.; KANASHIRO, A.M.I. Pesquisa de *Salmonella* spp, coliformes totais, coliformes fecais e mesófilos em carcaças e produtos derivados de frango. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.67, n. 1, 1998. Disponível em:< [http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/V67\\_1/ pesquisa\\_Salmonella.htm](http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/V67_1/ pesquisa_Salmonella.htm)>. Acesso em: 24 maio 2012.

CHIHIB, N.E.; SILVA, M.R.; DELATTRE, G.; LAROCHE, M.; FEDERIGHI, M. Different cellular fatty acid pattern behaviours os two strains of *Listeria monocytogenes* scott A and CNL 895807 under diferente temperature and salinity conditions. *FEMS Microbiology Letters*, v.218, n.1, 2003. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12583912>>. Acesso em: 26 abr.2013.

CLAVERO, M. R.; BEUCHAT, L. R. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in broth and processed salami as influenced by pH, water activity, and temperature and suitability of media for its recovery. *Applied and Environmental Microbiology*, v.62, n.8, 1996. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC168058/>>. Acesso em: 26 abr.2013.

CLIFTON, I.J.; FLETCHER, L.A.; BEGGS, C.B.; DENTON, M.; PECKHAM, D.G. A laminar flow model of aerosol survival of epidemic and non-epidemic strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from people with cystic fibrosis. *BMC Microbiology* v.8, 2008. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/content/pdf/1471-2180-8-105.pdf>>. Acesso em: 26 abr. 2013.

CONSENZA-SUTTON, G.H. *Enumeration of Total Airborne Bacteria, yeast and mould contaminants and identification of Escherichia coli O157:H7, Listeria spp., Salmonella spp. and Staphylococcus spp. in a Beef and Pork Slaughter Facility*. Florida, 2004.132p. Dissertation (Presented to the graduate school of the University of Florida) - University of Florida, 2004.

CROWLEY, K. M.; PRENDERGAST, D. M.; MCDOWELL, D. A.; SHERIDAN, J. J. Changes in *Escherichia coli* O157:H7 numbers during holding on excised lean, fascia and fat beef surfaces at different temperatures. *Journal of Applied Microbiology*, v.107, n.5, 2009. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2672.2009.04340.x/pdf>>. Acesso em: 27abr.2013.

CROWLEY, K.M.; PRENDERGAST, D.M.; SHERIDAN, J.J. MCDOWELL, D.A. Survival of *Pseudomonas fluorescens* on beef carcass surface in a commercial abattoir. *Meat Science*. n.85, 2010. Disponível em:< <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174010000768>>. Acesso em:27 abr.2013.

DAUDIN, J. D. *Calculation of water activity on the surface of hot boned muscles during chilling*. In: Recent advances and developments in the refrigeration of meat by chilling, Proc. I. I. R. Bristol. Institute of Refrigeration, 1986.

DAUDIN, J. D.; SWAIN, M. V. L. Heat and mass transfer in chilling and storage of meat. *Journal of Food Engineering*, v.12, 1990. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/026087749090022Z>>. Acesso em: 27 abr.2013.

DELHALLE, L.; DE SADELEER, L.; BOLLAERTS, K.; FARNIR, F.; SAEGERMAN, C.; KORSACK, N.; DEWULF,J.; DE ZUTTER,L.; DAUBE,G. Risk factors for *Salmonella* and hygiene indicators in the 10 largest Belgian pig slaughterhouses. *Journal of Food Protection*, v. 71, n.7, 2008. Disponível em: <[http:// www.ingentaconnect.com/content/iafp/jfp/2008/0000071/00000007/art00001](http://www.ingentaconnect.com/content/iafp/jfp/2008/0000071/00000007/art00001)>.Acesso em: 27 abr.2013.

DEMCHICK, P.H.; PALUMBO, S.A.; SMITH, J.L. Influence of pH on freeze-thaw lethality in *Staphylococcus aureus*. *Journal Food Safety*, v.4, 1982. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1745-4565.1982.tb00443.x/abstract>>. Acesso em: 26 abr. 2013.

DINGES, M.M.; ORWIN, P.M.; SCHLIVERT, P.M. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology Reviews*, v.13, n.1, 2000. Disponível em: < <http://cmr.asm.org/content/13/1/16.short>>. Acesso em: 27 abr.2013.

DORSA, W.J.; CUTTER, C.N.; SIRAGUSA, G.R.; KOOHMARAIE, M. Microbial decontamination of beef and sheep carcasses by steam, hot water spray washes, and a steam-vacuum sanitizer. *Journal of Food Protection*, v.59, n.2, 1996. Disponível em: < <http://www.ingentaconnect.com/content/iafp/jfp/1996/00000059/00000002/art00003>>. Acesso em: 27abr.2013.

EL-KEST, S.E.; MARTH, E.H. Freezing of *Listeria monocytogenes* and other microorganisms: a review. *Journal Food Protection*, v.55, n.8, 1992. Disponível em: < <http://agris.fao.org/agris-search/search/display.do?f=2012/OV/OV20120114700011470.xml;US19930031209>>. Acesso em: 26 abr.2103.

ELDER, R.O.; KEEN, J.E.; SIRAGUSA, G.R.; BARKOCY-GALLAGHER, G.A.; KOOMARAIE, M.; LAEGREID, W.W. Correlation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 prevalence in feces, hides, and carcasses of beef cattle during process. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 97, n.7, 2000. Disponível em: < <http://www.pnas.org/content/97/7/2999.full.pdf+html> >. Acesso em: 27 abr.2013.

EU. EUROPE UNION. European Commission. Microbiological criteria for food stuffs (Text with EEA relevance). Commission Regulation (EC) 2073, 15 nov. 2005. *Official Journal*, v.L338, p.1–26, 2005a.

EU. EUROPE UNION. European Commission. Laying down specific rules on official controls for *Trichinella* in meat (Text with EEA relevance). Commission Regulation (EC) 2075, 5 dec. 2005. *Official Journal*, v.L338, p.60–82, 2005b.

EU. EUROPE UNION. European Parliament and of the Council. Laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matters of food safety. Regulation (EC) 178, 28 jan. 2002. *Official Journal*, v.L31, p.1–24, 2002.

EU. EUROPE UNION. European Parliament and of the Council. The hygiene of food stuffs. Regulation (EC) 852, 29 abr. 2004. *Official Journal*, v.L139, p.1–54, 2004a.

EU. EUROPE UNION. European Parliament and of the Council. Laying down specific hygiene rules for food of animal origin. Regulation (EC) 853, 29 abr. 2004. *Official Journal*, v.L139, p.55–205, 2004b.

EU. EUROPE UNION. European Parliament and of the Council. Laying down specific rules for the organisation of official controlson products of animal origin intended for human consumption. Regulation (EC) 854, 29 abr. 2004. *Official Journal*, v.L139, p.206–320, 2004c.

EU. EUROPE UNION. European Parliament and of the Council. Official controls performed to ensure the verification of compliance with feed and food law, animal health and animal welfarerules. Regulation (EC) 882, 29 abr. 2004. *Official Journal*, v.L165, p.1–141, 2004d.

- FAUSTMANN, C.; CASSENS, R.G. The biochemical basis for discoloration in fresh meat: a review. *Journal of Muscle Foods*, v.1, 1990. Disponível em: < <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1745-4573.1990.tb00366.x/abstract>>. Acesso em: 27 abr. 2013.
- FEDIO, W. M.; WENDAKOON, C. N.; ZAPATA, R.; CARRILLO, C.; BROWNING, P. Comparison of petrifilm (TM) staph express count system with the bacteriological analytical manual direct-plating method for enumeration of *Staphylococcus aureus* in artificially contaminated hard cheese. *Journal of Aoac International*, v.91, 2008.
- FERRAZ, M. A.; CERQUEIRA, M.; SOUZA, M. R. Evaluation of Enterobacteriaceae in the powdered milk production chain using both traditional (ISO 21528:2) and rapid (3 M (TM) Petrifilm (TM)) methods. *Annals of Microbiology*, v. 60, 2010. Disponível em: < <http://link.springer.com/article/10.1007/s13213-010-0059-7>>. Acesso em: 27 abr. 2013.
- FERNÁNDEZ, A.M.; VIEIRA, C. Effect of chilling applied to suckling lamb carcasses on hygienic, physicochemical and sensory meat quality. *Meat Science*, v.92, 2012. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174012002021> >. Acesso em: 27 abr.2013.
- FISHER, A.V.; BAYNTUN, J.A. Weight loss from beef sides during storage post mortem and its effects on carcass composition. *Meat Science*, v.9, n.2, 1983. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22055758>>. Acesso em: 26 abr.2013.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). *Análisis de riesgos relativos a la inocuidad de los alimentos – Guía para las autoridades nacionales de inocuidad de los alimentos*. Organização Mundial de Saúde (OMS), Roma, 2007. Disponível em: < <http://www.fao.org/docrep/010/a0822s/a0822s00.htm> > Acesso em: 25 maio 2012.
- FONTOURA, C. L. *Estudo microbiológico em carcaças bovinas e influência da refrigeração sobre a microbiota contaminante*. Jaboticabal, 2006. 64 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo: Atheneu, 2008. 182 p.
- GHAFFIR, Y.; CHINA, B.; DIERICK, K.; DE ZUTTER, L.; DAUBE, G. Hygiene indicator microorganisms for selected pathogens on beef, pork, and poultry meats in Belgium. *Journal of Food Protection*, v. 71, n. 1, 2008. Disponível em: <<http://www.ingentaconnect.com/content/iafp/jfp/2008/00000071/00000001/art00006>>. Acesso em: 27 abr.2013.
- GILL, C.O.; MCGINNIS, J.C.; BADONI, M. Evaluation of the hygienic characteristic of beef carcass at slaughter plant. *Journal of Food Protection*, v.50, n.2, 1995.
- GILL, C. O. Visible contamination on animals and carcasses and the microbiological condition of meat. *Journal of Food Protection*, v. 67, n.2, 2004. Disponível em: < <http://www.ingentaconnect.com/content/iafp/jfp/2004/00000067/00000002/art00031>>. Acesso em: 27 abr. 2013.

GILL, C.O. Microbial Interaction with Meats. In: BROWN, M.H., *Meat Microbiology*. London: Applied Science, 1982. pp. 225-264.

GILL, C.O.; JONES, T. Microbiological sampling of carcasses by excision or swabbing. *Journal of Food Protection*, v. 63, n. 2, 2000. Disponível em: < <http://www.ingentaconnect.com/content/iafp/jfp/2000/00000063/00000002/art00003>>. Acesso em: 27 abr. 2013.

GILL, C.O.; BADONI, M.; MCGINNIS, J.C.. Microbiological sampling of meat cuts and manufactured beef by excision or swabbing *Journal of Food Protection*, v. 64, n. 3, 2001. Disponível em: < <http://www.ingentaconnect.com/content/iafp/jfp/2001/00000064/00000003/art00008>>. Acesso em: 27 abr. 2013.

GILL, C. O.; JONES, T. Assessment of the hygienic performances of an air-cooling process for lamb carcasses and a spray-cooling process for pig carcasses. *International Journal of Food Microbiology*, v. 38, 1997. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160597000871>>. Acesso em: 27 abr. 2013.

GOODMAN, L.A. Simultaneous confidence interval for contrasts among multinomial populations. *Annals of Mathematical Statistics*, v.35, n.2, 1964. Disponível em: < [http://projecteuclid.org/DPubS/Repository/1.0/Disseminate?view=body&id=pdf\\_1&handle=euclid.aoms/1177703569](http://projecteuclid.org/DPubS/Repository/1.0/Disseminate?view=body&id=pdf_1&handle=euclid.aoms/1177703569)>. Acesso em: 26 abr.2013.

GOODMAN, L.A. On simultaneous confidence intervals for multinomial proportions. *Technometrics*, v.7, n.2, 1965. Disponível em: < <http://www.jstor.org/discover/10.2307/1266673?uid=3737664&uid=2129&uid=2134&uid=2&uid=70&uid=4&sid=21101955064803>>. Acesso em: 26 abr.2013.

GOLDEN, D.A.; ARROYO-GALLYOUN, L. *Relationship of frozen-food quality to microbial survival*. In: ERIKSON, M.C.; HUNG, Y.C. Quality in frozen food. New York: Chapman and Hall, 1997.

GRAU, F. H. Prevention of microbial contamination in the export beef abattoir. In: SMULDERS, J. M. (Ed.), *Elimination of pathogenic microorganisms from meat and poultry*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1987. pp. 221-233.

GREER, G.G.; DILTS, B.D. Bacteriology and retail case life of spray-chilled pork. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, v.21, n.3, 1988. Disponível em: < <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=7735232>>. Acesso em: 27 abr. 2013.

GUVEN, K.; MUTLU, M.B.; GULBANDILAR, A.; CAKIR, P. Occurrence and characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products consumed in Turkey. *Journal of Food Safety*. v.30, 2010.

HAMBY, P.L.; SAVELL, J.W.; ACUFF, G.R.; VANDERZANT, C.; CROSS, H.R., Spray-chilling and carcass decontamination systems using lactic and acetic acid. *Meat Science*. v.21, 1987. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0309174087900386>>. Acesso em: 27 abr. 2013.

HAUGE, S.J.; NAFSTAD, O.; ROTTERRUD, O.; NESBAKKEN, T. The hygienic impact of categorization of cattle by hide cleanliness in the abattoir. *Food Control*. v. 27, 2012. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713512001235>>. Acesso em: 27 abr. 2013.

HEIDELBERG, J.F.; SHAHAMAT, M.; LEVIN, M.; RAHMAN, I.; STELMA, G.; GRIM, C.; COLWELL, R.R. Effect of aerosolization on culturability and viability of Gram-negative bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 63, n.9, 1997. Disponível em: < <http://aem.asm.org/content/63/9/3585.short>>. Acesso em: 27 abr. 2013.

HEITTER, E.F. Chlor-chil. In: Proceedings of the meat industry research conference, 1975, Arlington. Anais...Arlington: 20-21 de mar. de 1975. p.31-32.

HIPPE, C. L.; FIELD, R. A.; RAY, B.; RUSSELL, W. C. Effect of spray-chilling on quality of beef from lean and fatter carcasses. *Journal of Animal Science*, v.69, n.1, 1991. Disponível em: < <http://www.animal-science.org/content/69/1/178.short>>. Acesso em: 27 abr. 2013.

HUTCHISON, M. L.; WALTERS, L. D.; AVERY, S. M.; REID, C.; WILSON, D.; HOWELL, M.; JOHNSTON, A.M.; BUNCIC, S. A comparison of wet-dry swabbing and excision sampling methods for microbiological testing of bovine, porcine, and ovine carcasses at red meat slaughterhouses. *Journal of Food Protection*, v. 68, n.10, 2005. Disponível em: < <http://www.ingentaconnect.com/content/iafp/jfp/2005/00000068/00000010/art00023>>. Acesso em: 27 abr.2013.

ICMSF. INTERNACIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. *Microrganismos de los alimentos: técnicas de analisis microbiológico*. Zaragoza: Acribia, 1986. 431 p.

INGRAM, M.; MACKEY, M.B. *Inactivation by cold*. In: SKINNER, F.A.; HUGO, W.B. Inhibition and inactivation of vegetative microbes. Society of applied bacteriology, Academic Press, 1976.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION – ISO. (ISO) *17604:2003(E)*. Microbiology of food and animal feeding stuffs – carcass sampling for microbiological analysis. Switzerland, 2003. 14 p.

ISHII, S.; SADOWSKY, M. J. Escherichia coli in the environment: implications in water quality and human health. *Microbiology Environment*, v. 23, n. 2, 2008. Disponível em: < [https://www.jstage.jst.go.jp/article/jsme2/23/2/23\\_2\\_101/\\_pdf](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jsme2/23/2/23_2_101/_pdf)>. Acesso em: 27 abr. 2013.

JACKSON, T.C.; HARDIN, M.D.; ACUFF, G.R. Heat resistance of Escherichia coli O157:H7 in a nutrient medium and in ground beef patties as influenced by storage and holding temperatures. *Journal of Food Protection*, n. 59, p.230–237, 1995.

JAMES, S. The chill chain “from carcass to consumer”. *Meat Science*, v. 43, 1996. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0309174096000666>>. Acesso em: 27 abr.2013.

JAY, J.M. *Microbiologia de Alimentos*. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 712 p.

JERICHO, K.W.; HO, J.; KOZUB, G.C. Aerobiology of a high-line speed cattle abattoir. *Journal of Food Protection*, v.63, n.11, 2000. Disponível em: < <http://www.ingentaconnect.com/content/iafp/jfp/2000/00000063/00000011/art00010?token=005c1cce54dea4df1fb1405847447b49792f2a7334422c745f217e33757e6f4f2858592f3f3b57075e4f1d02d432> >. Acesso em: 26 abr.2013.

JONES, S.D.M.; ROBERTSON, W.M. The effects of spray chilling carcasses on the shrinkage and quality of beef. *Meat Science*, v.24, 1988. Disponível em:< <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0309174088900769>>.Acesso em:27 abr. 2013.

JOHNSON, R. D.; HUNT, M. C.; ALLEN, D. M.; KASTNER, C. L.; DANLER, R. J.; SHROCK, C. C. Moisture uptake during washing and spray chilling of Holstein and beef-type steer carcasses. *Journal of Animal Science*, v. 66, 1988. Disponível em: < <http://krex.k-state.edu/dspace/bitstream/handle/2097/852/Johnson1988Moisture.pdf?sequence=1>>.Acesso em: 27 abr.2013.

JORDAN, D.; PHILLIPS, D.; SUMMER, J.; MORRIS, S.; JENSON, I. Relationship between the density of different indicator organisms on sheep and beef. *Journal of Applied Microbiology*, v. 102, 2006. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2672.2006.03060.x/pdf>>.Acesso em: 27 abr.2013.

JORDAN, D.; PHILIPS, D.; SUMNER, J.; MORRIS, S.; JENSON, I. Relationships between the density of different indicator organisms on sheep and beef carcasses and in frozen beef and sheep meat. *Journal of Applied Microbiology*, v. 102, 2006. Disponível em:< <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-672.2006.03060.x/pdf>>.Acesso em: 27 abr.2013.

KASTNER, C. L. (1981). Livestock and meat: Carcasses, primals, and subprimals. In FINNER, E. E. *Handbook of transportation and marketing in agriculture: Food commodities*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, Inc., 1981. v.1.

KINSELLA, K.J.; SHERIDAN, J.J.; ROWE, T.A.; BUTLER, F.; DELGADO, A.; QUISPE-RAMIREZ, A.; BLAIR, I.S.; MCDOWELL, D.A. Impact of a novel spray-chilling system on surface microflora, water activity and weight loss during beef carcass chilling. *Food Microbiology*, v.23, 2006. Disponível em:< <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002005000742>>.Acesso em: 27 abr.2013.

LABADIE, J. Consequences of packaging on bacterial growth. Meat is an ecological niche. *Meat Science*, v.52, 1999. Disponível em:< <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174099000066>>. Acesso em: 27 abr.2013.

LAHR, J. A. Beef carcass microbial contamination e post slaughter numbers of bacteria, sources of contamination and variability of data. In: *Proceedings of the reciprocal meat conference*. Kansas City, MO: American Meat Science Association, 1996. vol. 49.

LAMBERT, A. D., SMITH, J. P., & DODDS, K. L. Shelf life extension and microbiological safety of fresh meat – a review. *Food Microbiology*, v. 8, 1991. Disponível em:< <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002005800024>>.Acesso em: 27 abr.2013.

- LAZIA, B. *Aprenda a selecionar e criar reprodutores produtivos*. 2011. Disponível em: <<http://www.portalagropecuaria.com.br/bovinos/pecuaria-de-corte/criacao-touros-aprenda-selecionar-criar-reprodutores-produtivos/>> Acesso em: 25 maio 2012.
- LAWRIE, R. A.; LEDWARD, D. A. *Lawrie's Meat Science*. Seventh English, edition ed. Cambridge England: Woodhead Publishing Limited, 2006.
- LEBERT, I.; BAUCOUR, P.; LEBERT, A.; DAUDIN, J. D. Assessment of bacteria growth on the surface of meat under common processing conditions by combining biological and physical models. *Journal of Food Engineering*, v. 68, 2005. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877404002626>>. Acesso em: 27 abr.2013.
- LENAHAN, M.; CROWLEY, H.; O'BRIEN, S. B.; BYRNE, C.; SWEENEY, T.; SHERIDAN, J. J. The potential use of chilling to control the growth of *Enterobacteriaceae* on porcine carcasses and the incidence of *E. coli* O157:H7 in pigs. *Journal of Applied Microbiology*, v. 106, 2009. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2672.2008.04112.x/pdf>>. Acesso em: 27 abr.2013.
- LINDBLAD, M. Microbiological sampling of swine carcasses: a comparison of data obtained by swabbing with medical gauze and data collected routinely by excision at Swedish abattoirs. *International Journal of Food Microbiology*, v. 118, 2007. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160507003583>>. Acesso em: 27 abr.2013.
- LOVETT, D. A.; HERBERT, L. S.; RADFORD, R. D. Carcass chilling: Experimental investigation of weight loss from lean meat. *International Journal of Refrigeration*, v. 1, 1978. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0140700778901032>>. Acesso em: 27 abr.2013.
- LOWRY, P.D.; GILL, C.O. Mould growth on meat at freezing temperatures. *International Journal Refrigeration*, v.7, 1984. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0140700784900264>>. Acesso em: 26 abr.2013.
- LOWRY, P.D.; GILL, C.O. *Microbiology of frozen meat and meat products*. In: ROBINSON, R.K. Microbiology of frozen foods. London: Elsevier applied science, 1985.
- LUES, J.F.R.; VAN TONDER, I. The occurrence of indicator bacteria on hands and aprons of food handlers in the delicatessen sections of a reatil group. *Food Control*, v.18, 2007. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713505002537>>. Acesso em: 27 abr.2013.
- LUES, J.F.R.; THREON, M.M.; VENTER, P.; RASEPHEI, M.H.R. Microbial composition in bioaerosols of a high throughput chicken-slaughtering facility. *Poultry Science*, v. 86, n. 1, 2006. Disponível em: <<http://ps.fass.org/content/86/1/142>. long>. Acesso em: 27 abr.2013.
- MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Espécies bovina e bubalina. 2012a. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/bovinos-e-bubalinos>>. Acesso em: 01 ago. 2012.

MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Mercado interno. 2012b. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/mercado-interno>>. Acesso em: 01 ago. 2012.

MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Exportações. 2012c. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/exportacao>>. Acesso em: 01 ago. 2012.

MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Projeções do Agronegócio Brasil 2011/12 a 2021/22. 2012d. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/>>. Acesso em: 02 ago. 2012.

MARTIN, A.; AUGER, E.A.; BLUM, P.H.; SCHULTZ, J.E. Genetic basis of starvation survival in non differentiating bacteria. *Annual Reviews Microbiology*, v.43, 1989. Disponível em: < [http://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev.mi.43.10018\\_9.001453](http://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev.mi.43.10018_9.001453)>. Acesso em: 26 abr.2013.

MASTRONICOLIS, S.K.; BOURA, A.; KARALIOTA, A.; MAGIATIS, P.; ARVANITIS, N.; LITOS, C.; TSAKIRAKIS, A.; PARASKEVAS, P.; MOUSTAKA, H.; HEROPOULOS, G. Effect of cold temperature on the composition of diferente lipid classes of the foodborne pathogen *Listeria monocytogenes*: Focus on neural lipids. *Food Microbiology*, v.23, 2006. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002005000328>>. Acesso em: 27 abr. 2013.

MAZUR, P. Cryobiology: the freezing of biological systems. *Science*, v.168, 1970.

MCEVOY, J. M.; SHERIDAN, J. J.; BLAIR, I. S.; MCDOWELL, D. A. (2004). Microbial contamination on beef in relation to hygiene assessment based on criteria used in EU Decision 2001/471/EC. *International Journal of Food Microbiology*, v. 92, 2004. Disponível em:< [http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016816\\_0503005348](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016816_0503005348)>.Acesso em:27 abr.2013.

MCEVOY, J. M.; DOHERTY, A. M.; FINNERTY, M.; SHERIDAN, J. J.; MCGUIRE, L.; BLAIR, I. S.; MCDOWELL, D.A., HARRINGTON D. The relationship between hide cleanliness and bacterial numbers on beef carcasses at a commercial abattoir. *Letters in Applied Microbiology*, v. 30, n.5, 2000. Disponível em: < <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1472-765x.2000.00739.x/pdf>>.Acesso em:27 abr.2013.

MCCLEERY, D. R.; STIRLING, J. M. E.; MCIVOR, K.; PATTERSON, M. F. Effect of anteand postmortem hide clipping on the microbiological quality and safety and ultimate pH value of beef carcasses in an EC-approved abattoir. *Journal of Applied Microbiology*, v. 104, 2007. Disponível em:< <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2672.2007.03670.x/pdf>>.Acesso em: 27 abr.2013.

MCGEEHIN, B.; SHERIDAN, J. J.; BUTLER, F. Optimising a rapid chilling system for lamb carcasses. *Journal of Food Engineering*, v. 52, n.1, 2002. Disponível em:< <http://www.ingentaconnect.com/content/els/02608774/2002/00000052/00000001/art00088>>. Acesso em: 27 abr.2013.

MEDEL, I.; SIERRA, I. Control de la cadena del frío y la humedad y su influencia en la calidad de la carne del Ternasco de Aragón durante su processado y distribución. In: XXVI Jornadas internacionales de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC), 2001, Sevilla.

MESQUITA, A.J.; PRADO, C.S.; BUENO, V.F.F.; MANSUR, J.R.G.; NEVES, R.B.S.; NUNES, I.A.; LAGE, M.E.; OLIVEIRA, A.N. The effects of spray-chilling associated to conventional chilling on mass loss, bacteriological and physico-chemical quality of beef carcass. *Ciência Animal Brasileira*, v.4, n.2, 2003. Disponível em: <<http://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/view/304/272>>. Acesso em: 27 abr.2013.

MOORE, G.; GRIFFITH, C. A comparison of surface sampling methods for detecting coliforms on food contact surfaces. *Food Microbiology*, v.19, 2002a. Disponível em:<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002001904642>>. Acesso em: 27 abr.2013.

MOORE, G.; GRIFFITH, C. Factors influencing recovery of microorganisms from surfaces by use of traditional hygiene swabbing. *Dairy, Food, and Environmental Sanitation*, v. 22, n.6, 2002b. Disponível em:<[http://www.researchgate.net/publication/232607310\\_Factors\\_Influencing\\_Recovery\\_of\\_Microorganisms\\_from\\_Surfaces\\_by\\_Use\\_of\\_Traditional\\_Hygiene\\_Swabbing](http://www.researchgate.net/publication/232607310_Factors_Influencing_Recovery_of_Microorganisms_from_Surfaces_by_Use_of_Traditional_Hygiene_Swabbing)>. Acesso em: 27 abr.2013.

MUELA, E.; SAÑUDO, C.; CAMPO, M.M.; MEDEL, I.; BELTRAN, J.A. Effects of cooling temperature and hot carcasses weight on the quality of lamb. *Meat Science*, v.84, 2010. Disponível em:<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030917400900254X>>. Acesso em: 27 abr.2013.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Food Protection Committee. Subcommittee on Microbiological Criteria. An evaluation of the role of microbiological criteria for foods and food ingredients. Washington: National Academy Press, 1985. 436 p. Disponível em: <[http://www.nap.edu/openbook.php?record\\_id=372&page=105](http://www.nap.edu/openbook.php?record_id=372&page=105)>. Acesso em: 26 maio 2012.

NORMANNO, G.; LA SALANDRA, G.; DAMBROSIO, A.; QUAGLIA, N.C.; CORRENTE, M.; PARISI, A.; SANTAGADA, G.; FIRINU, A.; CRISSETTI, E.; CELANO, G.V. Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products. *International Journal Food Microbiology*, v.115, 2007. Disponível em:<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160507000542>>. Acesso em: 27 abr.2013.

NOU, X.; RIVERA-BETANCOURT, M.; BOSILEVAC, J. M.; WHEELER, T. L.; SHACKELFORD, S. D.; GWARTNEY, B. L.; REAGAN, J.O.;KOOHMARAIE, M. Effect of chemical dehairing on the prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 and the levels of aerobic bacteria and Enterobacteriaceae on carcasses in a commercial beef processing plant. *Journal of Food Protection*, v. 66, n. 11, 2003. Disponível em:<<http://www.ingentaconnect.com/content/iafp/jfp/2003/00000066/00000011/art00006?token=005d1e5d5caf52a5498eef5c5f3b3b47464748783b62453a792f2a384f582a2f4876753375686f49b8ea924d21a9f>>. Acesso em: 27 abr.2013.

NYCHAS, G.J.; DILLON, V.M.; BOARD, R.G. Glucose, the key substrate in the microbiological changes occurring in meat and certain meat products. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, v. 10, n.3, 1988. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3293613>>. Acesso em: 27 abr.2013.

OCKERMAN, H. W.; BASU, L. *Carcass chilling and boning*. In: WERNER KLINTH, J. (Ed.) *Encyclopedia of Meat Sciences*. Oxford: Elsevier, 2004.

OIE. Organização Mundial de Saúde Animal. Encefalopatia Espongiforme Bovina. 2012. Disponível em: <<http://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/official-disease-status/bse/list-of-bse-risk-status/>>. Acesso em: 02/08/2012.

OKRASZSKA-LASICA, W.; BOLTON, D.J.; SHERIDAN, J.J.; MCDOWELL, D.A. Comparison of aerial count at different sites in beef and sheep abattoirs and the relationship between aerial and beef carcass contamination. *Food Microbiology*, v. 32, n. 2, 2012. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002012001542>>. Acesso em: 27 abr. 2013.

PARDI, M. C.; SANTOS, I. F.; SOUZA, E. R.; PARDI, H. S. *Ciência, higiene e tecnologia da carne*. 2ed. Goiânia: UFG, 2001, 623 p.

PARTMANN, W. *The effects of freezing and thawing on food quality*. In: DUCKWORTH, R.B. *Water relationships of foods*. New York: Academic Press, 1975.

PAULSEN, P.; BORGETTI, C.; SCHOPF, E.; SMULDERS, F. J. M. Enumeration of Enterobacteriaceae in various foods with a new automated most-probable number method compared with Petrifilm and international organization for standardization procedures. *Journal of Food Protection*, v.71, n. 2, 2008. Disponível em: <<http://www.ingentaconnect.com/content/iafp/jfp/2008/00000071/00000002/art00019?token=00531db4ec3787fe19a9d383a4b3b25702a7b455f5a7b4d2c4b63662a726e2d2954496f642f466f8ebd>>. Acesso em: 27 abr.2013.

PEARCE, R.A.; SHERIDAN, J.J.; BOLTON, D.J. Distribution of airborne microorganisms in commercial pork slaughter processes. *International Journal of Food Microbiology*, v. 107, 2006. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160505004915>>. Acesso em: 27 abr.2013.

PEARCE, R.A., BOLTON, D.J., Excision versus sponge swabbing—a comparison of methods for the microbiological sampling of beef, pork and lamb carcasses. *Journal Applied Microbiology*, v. 98, 2005. Disponível em: <[http://courses.washington.edu/envh452/In\\_Class\\_Readings/Pearce\\_2005.pdf](http://courses.washington.edu/envh452/In_Class_Readings/Pearce_2005.pdf)>. Acesso em: 27 abr.2013.

PHILLIPS, D.; JORDAN, D.; MORRIS, S.; JENSON, I.; SUMNER, J. A national survey of the microbiological quality of beef carcasses and frozen boneless beef in Australia. *Journal of Food Protection*, v.69, n.5, p.1113-1117, 2006. Disponível em: <<http://www.ingentaconnect.com/content/iafp/jfp/2006/00000069/00000005/art00020?token=005418ca78da4c8b405847447b49792f2a73446f5e3a67213e33757e6f4f2858592f3f3b578691c5942e>>. Acesso em 28 abr. 2013.

PRADO, C.S. *Influência do método de resfriamento de carcaças bovinas nas variações de peso e nas medidas físico-químicas, sensoriais e microbiológicas do contrafilé (M. Longissimus dorsi)*. Tese apresentada à faculdade de Engenharia de Alimentos – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

PRADO, C.S.; FELÍCIO, P.E. Effects of chilling rate and spray-chilling on weight loss and tenderness in beef strip loin steaks. *Meat Science*, v.86, 2010. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174010002147>>. Acesso em: 27 abr.2013.

PRENDERGAST, D.M.; DALY, D.J.; SHERIDAN, J.J.; MCDOWELL, D.A.; BLAIR, I.S. The effect of abattoir design on aerial contamination levels and the relationship between aerial and carcass contamination levels in two Irish beef abattoirs. *Food Microbiology*, v. 21, 2004. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S074000200300114X>>. Acesso em: 26 abr.2013.

RAHKIO, T. M.; KORKEALA, H. J. Airborne bacteria and carcass contamination in slaughterhouses. *Journal of Food Protection*, v. 60, n.1, 1997. Disponível em: <<http://www.ingentaconnect.com/content/iafp/jfp/1997/00000060/00000001/art00007?token=00561d6715442fd5425027e442f2067217a76464453232b5f7a6c38687627502b333e3568263c2b5f2ce57>>. Acesso em: 27 abr. 2013.

REID, C. A.; SMALL, A.; AVERY, S. M.; BUNCIC, S. Presence of food-borne pathogens on cattle hides. *Food Control*, v. 13, 2002. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713501000500>>. Acesso em: 27 abr. 2013.

RIBEIRO, G. A. *Caracterização molecular de isolados de Escherichia coli verotoxigênica obtidos de bovinos sadios em Pelotas, RS*. Pelotas, 2005. 38 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2005.

RIDELL, J.; KORKEALA, H. Special treatment during slaughtering in Finland of cattle carrying an excessive load of dung: meat hygiene aspects. *Meat Science*, v. 35, 1993. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/030917409390052J>>. Acesso em: 27 abr.2013.

ROÇA, R.O.; SERRANO, M.A. Abate de bovinos: alterações microbianas da carcaça. *Higiene Alimentar*, v.9, n.35, 1995.

RODRIGUES, R. Agronegócio, um futuro notável para o Brasil. *Boletim de Informação para publicitários*, Rio de Janeiro, n. 578, p.4-11 Jul. 2011 Disponível em: <[http://comercial2.redeglobo.com.br/biponline/BIP/bip\\_578.pdf](http://comercial2.redeglobo.com.br/biponline/BIP/bip_578.pdf)>. Acesso em: 16 mar. de 2012.

ROSE, A.H. Physiology of microorganisms at low temperature. *Journal of Applied Bacteriology*, v.31, 1968.

ROSSET, R. Chilling, freezing and thawing. In: BROWN, M. H. (Ed.), *Meat microbiology*. London, England: Applied Science Publishers Ltd, 1982.

RUBY, J. R.; ZHU, J.; INGHAM, S. C. Using indicator bacteria and *Salmonella* test results from three large-scale beef abattoirs over an 18-month period to evaluate intervention system efficacy and plan carcass testing for *Salmonella*. *Journal of Food Protection*, v. 70, n. 12, 2007. Disponível em: < <http://www.ingentaconnect.com/content/iafp/jfp/2007/00000070/0000012/art00004>>. Acesso em: 27 abr. 2013.

RUSSELL, N.J. Alteration in fatty acid chain length in *Micrococcus cryophilus* grown at different temperatures. *Biochimica et Biophysica Acta*, v.231, 1971. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0005276071902773> >. Acesso em: 26 abr.2013.

SAVELL, J.W.; MUELLER, S.L.; BAIRD, B.E. The chilling of carcasses. *Meat Science*, v. 70, 2005. Disponível em:< <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030917400500046X>>.Acesso em: 27 abr.2013.

SCHOLTZ, E.M.; JORDAAN, E.; KRÜGER, J.; NORTJÉ, G.L.; NAUDÉ, R.T. The influence of different centralised pre-packaging systems on the shelf-life of fresh pork. *Meat Science*, v.32, n.1, 1992. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/030917409290014U>>. Acesso em: 27 abr.2013.

SCHWACH, E. *Validação do Sistema de Monitoramento Para Redução da Contaminação Microbiana em Carcaças Bovinas*. Botucatu, 2007. 53 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.

SHADBOLT, C. T.; ROSS, T.; MCMEEKIN, T. A. Nonthermal death of *Escherichia coli*. *International Journal of Food Microbiology*, v. 49, 1999. Disponível em:< <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160599000604>>. Acesso em: 27 abr.2013.

SHALE, K.; LUES, J.F.R. The aetiology of bioaerosols in food environments. *Food Reviews International*, v. 23, 2007.

SHERMAN, J.M.; ALBUS, N.R. Physiological youth in bacteria. *Journal of Bacteriology*, v.8, n.2, 1923. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC379007/>>. Acesso em: 26 abr.2013.

SHERIDAN, J. J. Monitoring CCPs in HACCP systems. In: BROWN, M. (Ed.), *HACCP in the meat industry*. Cambridge: Woodhead Publishing, 2000.

SILVA, M. P.; CAVALLI, D. R.; OLIVEIRA, T. C. R. M. Avaliação do padrão coliformes a 45°C e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e Petrifilm EC na detecção de coliformes totais e *Escherichia coli* em alimentos. *Ciência e Tecnologia dos Alimentos*, v. 26, 2006. Disponível em:< <http://www.scielo.br/pdf/cta/v26n2/30183.pdf>>. Acesso em: 27 abr.2013.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. *Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água*. São Paulo: Varela, 2007. 544p.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, R. F. S. S.; GOMES, R. A. R. *Manual de métodos de análises microbiológicas de alimentos e água*. 4 ed. São Paulo: Livraria Varela. 2010. 632p.

SILVA, B. O.; CARAVIELLO, D. Z.; RODRIGUES, A. C.; RUEGG, P. L. Evaluation of petrifilm for the isolation of *Staphylococcus aureus* from milk samples. *Journal of Dairy Science*, v. 88, n. 8, 2005. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030205729805>>. Acesso em: 27 abr.2013.

SMITH, G.C.; CARPENTER, Z.L. Post mortem shrinkage of lamb carcasses. *Journal of Animal Science*, v.36, n. 5, 1973. Disponível em: < <http://www.journalofanimalscience.org/content/36/5/862.full.pdf+html>>. Acesso em: 27 abr.2013.

SMITH, M.G. Survival of *E. coli* and *Salmonella* after chilling and freezing in liquid media. *Journal Food Science*, v. 60, 1995. Disponível em: < <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2621.1995.tb09814.x/abstract>>. Acesso em: 26 abr.2013.

SMULDERS, F. J. M.; TOLDRA, F.; FLORES, J.; PRIETO, M. New technologies for meat and meat products. Utrecht, The Netherlands: Audet Tijdschriften.1992

STEVENSON, K.E.; MERKEL, R.A.; LEE, H.C. Effects of chilling rate, carcass fatness and chlorine spray on microbiological quality and case-life of beef. *Journal of Food Science*, v.43, 1978. Disponível em: < <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2621.1978.tb02437.x/abstract>>. Acesso em: 27 abr.2013.

STEWART, S.L.; GRINSHPUN, S.A.; WILLEKE, K.; TERZIEVA, S.; ULEVICIUS, V.; DONNELLY, J. Effect of impact stress on microbial recovery on an agar surface. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 61, n.4, 1995. Disponível em: < <http://aem.asm.org/content/61/4/1232.short>>. Acesso em: 27 abr. 2013.

STOPFORTH, J. D.; SOFAS, J. N. (2005). Carcass chilling. In: SOFAS, J. N. (Ed.), *Improving the safety of fresh meat*. Boca Baton, FL: CRC Press.

STUIJK, C. B.; MOSSEL, D. A. A. "Letter to the editor". *International Journal of Food Microbiology*, 99, 2005.

SUMNER, J.; PETRENAS, E.; DEAN, P.; DOWSETT, P.; WEST, G.; WIERING, R.; RAVEN, G. Microbial contamination on beef and sheep carcasses in South Australia. *International Journal of Food Microbiology*, n.81, p.255–260, 2003. Disponível em: < [http://smas.chemeng.ntua.gr/miram/files/publ\\_200\\_10\\_2\\_2005.pdf](http://smas.chemeng.ntua.gr/miram/files/publ_200_10_2_2005.pdf)>. Acesso em 28 abr. 2013.

TANG, J.W. The effect of environmental parameters on the survival of airborne infectious agents. *Journal of the Royal Society Interface*, v. 6, 2009. Disponível em: < [http://171.66.127.193/content/6/Suppl\\_6/S737.full.pdf+html](http://171.66.127.193/content/6/Suppl_6/S737.full.pdf+html)>. Acesso em: 27 abr.2013.

TASSINARI, A. R.; NODA, P. K.; FRANCO, G. M.; LANDGRAF, M.; DESTRO, M. T. Express evaluation e an evaluation of 3M petrifilm staph express count system for enumerating coagulase-positive *Staphylococcus*. *Food Quality Magazine*, 2006.

TERGNEY, A.; BOLTON, D. J. Validation studies on an online monitoring system for reducing faecal and microbial contamination on beef carcasses. *Food Control*, v. 17, 2006. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713505000204>>. Acesso em: 23 maio 2012.

UE. UNIÃO EUROPEIA. Comissão Europeia. Decisão (CE) 2001/471, de 8 de jun. de 2001. Estabelece regras para os controlos regulares à higiene geral efectuados pelos operadores aos estabelecimentos. *Jornal Oficial das Comunidades Europeias*, Bruxelas, p. L165/48-L165/53, 21 jun. 2001.

UE. UNIÃO EUROPEIA. Comissão Europeia. Regulamento (CE) n.º. 1441/2007, de 05 de dez. de 2007. Altera o Regulamento (CE) 2073/2005. Relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios. *Jornal Oficial da União Europeia*, Bruxelas, 07 dez. 2007.

UK. UNITED KINGDOM FSA (2004) Clean Beef Cattle for slaughter. A guide for producers. Published by the Food Standard Agency November 2004, Crown Copyright 2004, Printed in England 5k FSA/0951/1104.

USA. UNITED STATES OF AMERICA. United States Department Of Agriculture (USDA). Food Safety and Inspection Service. Pathogen Reduction; Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) Systems; Final Rule. *Federal Register*, Washington, DC, 1996. v. 61, n. 144, p. 38805.

USA. UNITED STATES OF AMERICA. United States Department Of Agriculture – USDA. *FSIS Directive 6420.2*. Verification of procedures for controlling fecal material, ingesta, and milk in slaughter operations. Washington, DC, 31 mar. 2004.

USA. UNITED STATES OF AMERICA. Food Safety And Inspection Service (FSIS). United States Department of Agriculture. Nationwide beef microbiological baseline data collection program: steers and heifers. Washington: FSIS. Science and Technology, Microbiology Division, 1994. 39p.

USA. UNITED STATES OF AMERICA. Food Safety And Inspection Service (FSIS). Carcass spraying during chilling. 1993. Disponível em: <<http://www.fsis.usda.gov/OPPDE/rdad/FSISDirectives/FSISDir6330.1.pdf>>. Acesso em: 24 abr. 2012.

VAN DONKERSGOED, J.; JERICHO, K. W. F.; GROGAN, H.; THORLAKSON, B. Preslaughter hide status of cattle and the microbiology of carcasses. *Journal of Food Protection*, 60, 1997. Disponível em: < <http://www.ingentaconnect.com/content/iafp/jfp/1997/00000060/00000012/art00006>>. Acesso em: 27 abr. 2013.

VICOSA, G. N.; MORAES, P. M.; YAMAZI, A. K.; NERO, L. A. Enumeration of coagulase and thermonuclease-positive *Staphylococcus* spp. in raw milk and fresh soft cheese: an evaluation of Baird-Parker agar, Rabbit Plasma Fibrinogen agar and the Petrifilm (TM) Staph Express count system. *Food Microbiology*, v. 27, n. 4, 2010. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002009002846>>. Acesso em: 27 abr. 2013.

VIDOVIC, S.; MANGALAPPALLI-ILLATHU, A.K.; KORBER, D.R. Prolonged cold stress response of *Escherichia coli* O157 and the role of rpoS. *International Journal of Food Microbiology*, v.146, 2011. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160511000973> >. Acesso em: 26 abr.2013.

VIEIRA-PINTO, M., SILVA, M.M., ESTEVES, A., MARTINS, C. Comparação entre o método de dupla zaragatoa e o de excisão na determinação de contagens de microrganismos totais viáveis e de *Enterobacteriaceae* na superfície interna e externa de carcaças de suíno. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*. n.98, 2003. Disponível em:< [http://www.fmv.utl.pt/spcv/PDF/pdf6\\_\\_2003/546\\_89\\_94.pdf](http://www.fmv.utl.pt/spcv/PDF/pdf6__2003/546_89_94.pdf)>. Acesso em: 27 abr.2013.

YAMANAKA, K.; INOUE, M. Selective mRNA degradation by polynucleotide phosphorylase in cold shock adaptation in *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, v.183, n.9, 2001. Disponível em: < <http://jb.asm.org/content/183/9/2808/F6.expansion>>. Acesso em: 26 abr.2013.

YOUSSEF, M.K.; BADONI, M.; YANG, X.; GILL, C.O. Sources of *Escherichia coli* deposited on beef during breaking of carcasses carrying few *E. coli* at two packing plants. *Food Control*. n. 31, 2013. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713512005452>>. Acesso em 28 abr. de 2013.

WEBER, H.; POLEN, T.; HEUVELING, J.; WENDISCH, V.F.; HENGGE-ARONIS, R. Genome-wide analysis of the general stress response network in *Escherichia coli*: O<sup>S</sup> – dependent genes, promoters, and sigma factor selectivity. *Journal of Bacteriology*, v.187, n.5, 2005. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15716429>>. Acesso em: 26 abr.2013.

WHYTE, P.; COLLINS, J.D.; MCGILL, K.; MONAHAN, C.; O'MAHONY, H. Distribution and prevalence of airborne microorganisms in three commercial poultry processing plants. *Journal of Food Protection*, v. 64, n.3, 2001. Disponível em:< <http://www.ingentaconnect.com/content/iafp/jfp/2001/00000064/00000003/art00018>>. Acesso em: 27 abr.2013.

WINSTANLEY, M. The cost of evaporation. *Meat*, v.54, n.6, 1981.

WORFEL, R.C.; SOFOS, J.N.; SMITH, G.C.; SCHMIDT, G.R. Airborne bacterial contamination in beef slaughtering-dressing plants with different layouts. *Dairy Food and Environmental Sanitation*, v.16, 1996.

ZAR, J.H. *Biostatistical analysis*. 5.ed. New Jersey: Prentice-Hall, 2009. 994p.

ZHOU, G.H.; XU, X.L.; LIU, Y. Preservation Technologies for fresh meat – A review. *Meat Science*. v.86, 2010. Disponível em:< <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174010001658>>. Acesso em: 27 abr. 2013.

ZWEIFEL, C.; BALTZER, D.; STEPHAN, R. Microbiological contamination of cattle and pig carcasses at five abattoirs determined by swab sampling in accordance with EU Decision 2001/471/EC. *Meat Science*, v. 69, 2004. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174004002578>>. Acesso em: 27 abr.2013.

ZWEIFEL, C.; FISCHER, R.; STEPHAN, R. Microbiological contamination of pig and cattle carcasses in different small-scale Swiss abattoirs. *Meat Science*, v. 78, 2008. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174007002082>>. Acesso em: 27 abr. 2013.

## 9 APÊNDICES

### 9.1 PRIMEIRA ETAPA DO ESTUDO

#### 9.1.1 Maturação Sanitária

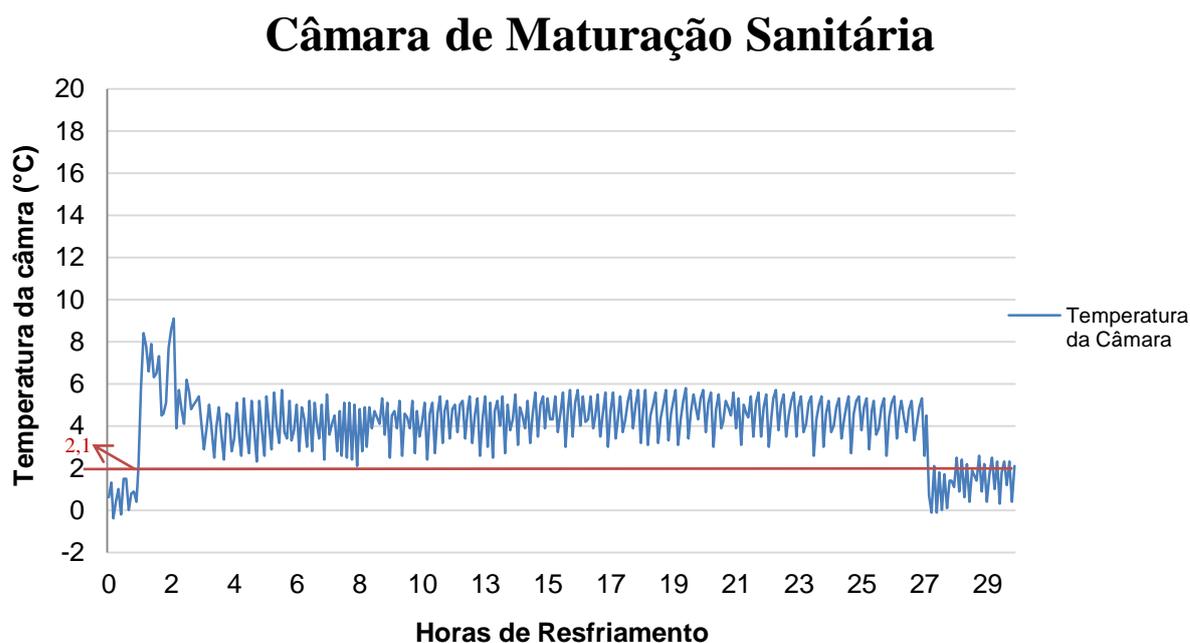


Gráfico 02 – Curva de temperaturas da câmara durante o período da Maturação Sanitária. Limite de segurança de 2,1°C (linha vermelha).

Dez “Data Loggers” foram instalados em 10 meias carcaças casadas (revestidas e controle). Cada aparelho tem dois sensores, um sensor penetrativo para determinar a temperatura muscular e outro sensor para a temperatura ambiente em torno do aparelho. Portanto, cada dupla de aparelhos gera quatro curvas de temperatura diferentes. Foram cinco duplas distribuídas ao longo da câmara. Pelo fato dos aparelhos não terem o mesmo intervalo entre os registros (5 ou 10 minutos) a elaboração do Gráfico 01 seguiu o seguinte princípio: o primeiro ponto da linha vermelha (curva média) (Gráfico 01) foi gerado pela média dos valores dos primeiros registros de temperatura muscular de cada um dos cinco aparelhos das meias carcaças revestidas. O segundo ponto pela média dos segundos registros de cada um dos cinco aparelhos, e assim por diante para os demais pontos e para as outras três curvas. Portanto, o gráfico não está em escala temporal, mas sim, em ordem de registros.

A temperatura de 7°C é considerada crítica para inibição do crescimento da maioria dos microrganismos (BRASIL, 1996b). Na linha roxa (Gráfico 01) consta a curva de redução da temperatura média da superfície muscular das cinco meias carcaças controles avaliadas, quando comparada com a linha vermelha (meias carcaças revestidas) e a linha preta em negrito (temperatura de 7°C) obtêm-se a área em amarelo. Nessa área é avaliado o tempo que a superfície das meias carcaças revestidas permanecem em temperatura favorável ao crescimento além das meias carcaças controle.

### 9.1.2 Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (BHAM)

Tabela 15 – Valores medianos, mínimos e máximos de Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (BHAM), em UFC/cm<sup>2</sup> das meias carcaças

Meia Carcaça	Quente			Resfriada		
	Mediana	Mínimo	Máximo	Mediana	Mínimo	Máximo
Revestida	17,918 <sup>aA</sup>	2,292	122939,375	25,104 <sup>aA</sup>	5,000	195837,917
Controle	19,900 <sup>aA</sup>	1,875	195837,083	7,083 <sup>bB</sup>	0,625	137501,875

Valores na mesma coluna acompanhados de letras minúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).  
Valores na mesma linha acompanhados de letras maiúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

Tabela 16 – Frequência de ocorrências de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (BHAM) nas meias carcaças. Entre parênteses percentuais correspondentes

Meia Carcaça	Quente		Resfriada	
	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo
Revestida	0 (0,0) <sup>aA</sup>	60 (100,0) <sup>aA</sup>	0 (0,0) <sup>aA</sup>	60 (100,0) <sup>aA</sup>
Controle	0 (0,0) <sup>aA</sup>	60 (100,0) <sup>aA</sup>	0 (0,0) <sup>aA</sup>	60 (100,0) <sup>aA</sup>

Valores na mesma coluna acompanhados de letras minúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).  
Valores na mesma linha (negativo com negativo ou positivo com positivo) acompanhados de letras maiúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

Tabela 17 – Valores medianos, mínimos e máximos de Contagens de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (BHAM) por região (coxão, peito e pescoço) das meias carcaças em UFC/cm<sup>2</sup>

Meia Carcaça		Coxão			Peito			Pescoço		
		Mediana	Mínimo	Máximo	Mediana	Mínimo	Máximo	Mediana	Mínimo	Máximo
Quente	Revestida	8,750 <sup>aAα</sup>	0,625	368750,000	20,000 <sup>aAβ</sup>	1,875	387,500	10,000 <sup>aAα</sup>	0,063	396,875
	Controle	10,000 <sup>aAα</sup>	0,625	218750,000	29,063 <sup>aAβ</sup>	0,625	587500,000	4,375 <sup>aAα</sup>	0,125	21250,000
Resfriada	Revestida	15,313 <sup>aAα</sup>	0,000	278125,000	25,938 <sup>aAα</sup>	3,750	278125,000	7,500 <sup>aAβ</sup>	0,000	587500,000
	Controle	1,875 <sup>bBα</sup>	0,000	396875,000	8,125 <sup>bBβ</sup>	0,625	62500,000	1,250 <sup>bAα</sup>	0,000	350000,000

Valores na mesma coluna (meia carcaça revestida comparada a controle) acompanhados de letras minúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

Valores na mesma coluna (meia carcaça quente comparada à resfriada) acompanhados de letras maiúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

Valores na mesma linha acompanhados de letras gregas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

Tabela 18 – Frequência de ocorrências de BHAM por região (coxão, peito e pescoço) das meias carcaças. Entre parênteses percentuais correspondentes

Meia Carcaça		Coxão		Peito		Pescoço	
		Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo
Quente	Revestida	0 (0,0) <sup>aAα</sup>	60 (100,0) <sup>aAα</sup>	0 (0,0) <sup>aAα</sup>	60 (100,0) <sup>aAα</sup>	0 (0,0) <sup>aAα</sup>	60 (100,0) <sup>aAα</sup>
	Controle	0 (0,0) <sup>aAα</sup>	60 (100,0) <sup>aAα</sup>	0 (0,0) <sup>aAα</sup>	60 (100,0) <sup>aAα</sup>	0 (0,0) <sup>aAα</sup>	60 (100,0) <sup>aAα</sup>
Resfriada	Revestida	1 (1,7) <sup>aAα</sup>	59 (98,3) <sup>aAα</sup>	0 (0,0) <sup>aAα</sup>	60 (100,0) <sup>aAα</sup>	2 (3,3) <sup>aAα</sup>	58 (96,7) <sup>aAα</sup>
	Controle	6 (10,0) <sup>aBα</sup>	54 (90,0) <sup>aBα</sup>	0 (0,0) <sup>aAβ</sup>	60 (100,0) <sup>aAβ</sup>	6 (10,0) <sup>aBα</sup>	54 (90,0) <sup>aBα</sup>

Valores na mesma coluna (meia carcaça revestida comparada a controle) acompanhados de letras minúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

Valores na mesma coluna (meia carcaça quente comparada à resfriada) acompanhados de letras maiúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

Valores na mesma linha (negativo com negativo ou positivo com positivo) acompanhados de letras gregas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

9.1.3 *Staphylococcus aureus*Tabela 19: Valores medianos, mínimos e máximos de *Staphylococcus aureus* em UFC/cm<sup>2</sup> das meias carcaças

Meia Carcaça	Quente			Resfriada		
	Mediana	Mínimo	Máximo	Mediana	Mínimo	Máximo
Revestida	0,604 <sup>aA</sup>	0,000	312,667	0,583 <sup>aA</sup>	0,042	7,875
Controle	0,240 <sup>aA</sup>	0,000	8,688	0,052 <sup>bB</sup>	0,000	1,959

Valores na mesma coluna acompanhados de letras minúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).  
Valores na mesma linha acompanhados de letras maiúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

Tabela 20 – Frequência de ocorrências de *Staphylococcus aureus* nas meias carcaças. Entre parênteses percentuais correspondentes

Meia Carcaça	Quente		Resfriada	
	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo
Revestida	1 (1,7) <sup>aA</sup>	59 (98,3) <sup>aA</sup>	0 (0,0) <sup>aA</sup>	60 (100,0) <sup>aA</sup>
Controle	4 (6,7) <sup>aA</sup>	56 (93,3) <sup>aA</sup>	14 (23,3) <sup>bA</sup>	46 (76,7) <sup>bA</sup>

Valores na mesma coluna acompanhados de letras minúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).  
Valores na mesma linha (negativo com negativo ou positivo com positivo) acompanhados de letras maiúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

Tabela 21: Valores medianos, mínimos e máximos de *Staphylococcus aureus* por região (coxão, peito e pescoço) das meias carcaças do primeiro estudo em UFC/cm<sup>2</sup>

Meia Carcaça		Coxão			Peito			Pescoço		
		Mediana	Mínimo	Máximo	Mediana	Mínimo	Máximo	Mediana	Mínimo	Máximo
Quente	Revestida	0,250 <sup>aAα</sup>	0,000	7,500	0,969 <sup>aAβ</sup>	0,000	938,000	0,000 <sup>aAγ</sup>	0,000	0,625
	Controle	0,159 <sup>aAα</sup>	0,000	20,625	0,438 <sup>aAβ</sup>	0,000	8,125	0,000 <sup>aAγ</sup>	0,000	0,313
Resfriada	Revestida	0,188 <sup>aAα</sup>	0,000	23,125	1,031 <sup>aAβ</sup>	0,000	7,689	0,000 <sup>aAγ</sup>	0,000	0,625
	Controle	0,000 <sup>bBα</sup>	0,000	5,688	0,125 <sup>bBβ</sup>	0,000	5,625	0,000 <sup>aAα</sup>	0,000	0,188

Valores na mesma coluna (meia carcaça revestida comparada a controle) acompanhados de letras minúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

Valores na mesma coluna (meia carcaça quente comparada à resfriada) acompanhados de letras maiúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

Valores na mesma linha acompanhados de letras gregas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

Tabela 22 – Frequência de ocorrências de *Staphylococcus aureus* por região (coxão, peito e pescoço) das meias carcaças. Entre parênteses percentuais correspondentes

Meia Carcaça		Coxão		Peito		Pescoço	
		Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo
Quente	Revestida	19 (31,7) <sup>aAα</sup>	41 (68,3) <sup>aAα</sup>	4 (6,7) <sup>aAβ</sup>	56 (93,3) <sup>aAβ</sup>	45 (75,0) <sup>aAγ</sup>	15 (25,0) <sup>aAγ</sup>
	Controle	21 (35,0) <sup>aAα</sup>	39 (65,0) <sup>aAα</sup>	4 (6,7) <sup>aAβ</sup>	56 (93,3) <sup>aAβ</sup>	50 (83,3) <sup>aAγ</sup>	10 (16,7) <sup>aAγ</sup>
Resfriada	Revestida	14 (23,3) <sup>aAα</sup>	46 (76,7) <sup>aAα</sup>	2 (3,3) <sup>aAβ</sup>	58 (96,7) <sup>aAβ</sup>	44 (73,3) <sup>aAγ</sup>	16 (26,7) <sup>aAγ</sup>
	Controle	42 (70,0) <sup>bBα</sup>	18 (30,0) <sup>bBα</sup>	19 (31,7) <sup>bBβ</sup>	41 (68,3) <sup>bBβ</sup>	56 (93,3) <sup>bAγ</sup>	4 (6,7) <sup>bAγ</sup>

Valores na mesma coluna (meia carcaça revestida comparada a controle) acompanhados de letras minúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

Valores na mesma coluna (meia carcaça quente comparada à resfriada) acompanhados de letras maiúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

Valores na mesma linha (negativo com negativo ou positivo com positivo) acompanhados de letras gregas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

### 9.1.4 Enterobactérias

Tabela 23: Valores medianos, mínimos e máximos de Enterobactérias em UFC/cm<sup>2</sup> das meias carcaças

Meia Carcaça	Quente			Resfriada		
	Mediana	Mínimo	Máximo	Mediana	Mínimo	Máximo
Revestida	0,000 <sup>aA</sup>	0,000	1,042	0,062 <sup>aB</sup>	0,000	104,354
Controle	0,000 <sup>aA</sup>	0,000	1,250	0,000 <sup>bA</sup>	0,000	0,938

Valores na mesma coluna acompanhados de letras minúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).  
Valores na mesma linha acompanhados de letras maiúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

Tabela 24 – Frequência de ocorrências de Enterobactérias nas meias carcaças. Entre parênteses percentuais correspondentes

Meia Carcaça	Quente		Resfriada	
	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo
Revestida	41 (68,3) <sup>aA</sup>	19 (31,7) <sup>aA</sup>	17 (28,3) <sup>aB</sup>	43 (71,7) <sup>aB</sup>
Controle	33 (55,0) <sup>aA</sup>	27 (45,0) <sup>aA</sup>	39 (65,0) <sup>bA</sup>	21 (35,0) <sup>bA</sup>

Valores na mesma coluna acompanhados de letras minúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).  
Valores na mesma linha (negativo com negativo ou positivo com positivo) acompanhados de letras maiúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

Tabela 25: Valores medianos, mínimos e máximos de Enterobactérias por região (coxão, peito e pescoço) da meia carcaça do primeiro estudo em UFC/cm<sup>2</sup>

Meia Carcaça		Coxão			Peito			Pescoço		
		Mediana	Mínimo	Máximo	Mediana	Mínimo	Máximo	Mediana	Mínimo	Máximo
Quente	Revestida	0,000 <sup>aAα</sup>	0,000	0,375	0,000 <sup>aAα</sup>	0,000	0,438	0,000 <sup>aAα</sup>	0,000	3,125
	Controle	0,000 <sup>aAα</sup>	0,000	0,250	0,000 <sup>aAβ</sup>	0,000	3,750	0,000 <sup>aAαβ</sup>	0,000	1,188
Resfriada	Revestida	0,000 <sup>aAα</sup>	0,000	1,000	0,063 <sup>aBβ</sup>	0,000	1,375	0,000 <sup>aAαβ</sup>	0,000	313,000
	Controle	0,000 <sup>aAα</sup>	0,000	0,750	0,000 <sup>bAα</sup>	0,000	2,813	0,000 <sup>bAα</sup>	0,000	0,250

Valores na mesma coluna (meia carcaça revestida comparada a controle) acompanhados de letras minúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

Valores na mesma coluna (meia carcaça quente comparada à resfriada) acompanhados de letras maiúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

Valores na mesma linha acompanhados de letras gregas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

Tabela 26 – Frequência de ocorrências de Enterobactérias por região (coxão, peito e pescoço) das meias carcaças. Entre parênteses percentuais correspondentes

Meia Carcaça		Coxão		Peito		Pescoço	
		Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo
Quente	Revestida	58 (96,7) <sup>aAα</sup>	2 (3,3) <sup>aAα</sup>	51 (85,0) <sup>aAαβ</sup>	9 (15,0) <sup>aAαβ</sup>	50 (83,3) <sup>aAβ</sup>	10 (16,7) <sup>aAβ</sup>
	Controle	57 (95,0) <sup>aAα</sup>	3 (5,0) <sup>aAα</sup>	41 (68,3) <sup>bAβ</sup>	19 (31,7) <sup>bAβ</sup>	52 (86,7) <sup>aAα</sup>	8 (13,3) <sup>aAα</sup>
Resfriada	Revestida	54 (90,0) <sup>aAα</sup>	6 (10,0) <sup>aAα</sup>	27 (45,0) <sup>aBβ</sup>	33 (55,0) <sup>aBβ</sup>	37 (61,7) <sup>aBβ</sup>	23 (38,3) <sup>aBβ</sup>
	Controle	55 (91,7) <sup>aAα</sup>	5 (8,3) <sup>aAα</sup>	49 (81,7) <sup>bAα</sup>	11 (18,3) <sup>bAα</sup>	54 (90,0) <sup>bAα</sup>	6 (10,0) <sup>bAα</sup>

Valores na mesma coluna (meia carcaça revestida comparada a controle) acompanhados de letras minúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

Valores na mesma coluna (meia carcaça quente comparada à resfriada) acompanhados de letras maiúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

Valores na mesma linha (negativo com negativo ou positivo com positivo) acompanhados de letras gregas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

9.1.5 *Escherichia coli*Tabela 27: Valores medianos, mínimos e máximos de *Escherichia coli* em UFC/cm<sup>2</sup> das meias carcaças

Meia Carcaça	Quente			Resfriada		
	Mediana	Mínimo	Máximo	Mediana	Mínimo	Máximo
Revestida	0,000 <sup>aA</sup>	0,000	0,688	0,000 <sup>aA</sup>	0,000	0,625
Controle	0,000 <sup>aA</sup>	0,000	64,583	0,000 <sup>aA</sup>	0,000	0,750

Valores na mesma coluna acompanhados de letras minúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).  
Valores na mesma linha acompanhados de letras maiúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

Tabela 28 – Frequência de ocorrências de *Escherichia coli* nas meias carcaças. Entre parênteses percentuais correspondentes

Meia Carcaça	Quente		Resfriada	
	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo
Revestida	52 (86,7) <sup>aA</sup>	8 (13,3) <sup>aA</sup>	45 (75,0) <sup>aA</sup>	15 (25,0) <sup>aA</sup>
Controle	46 (76,7) <sup>aA</sup>	14 (23,3) <sup>aA</sup>	54 (90,0) <sup>aA</sup>	6 (10,0) <sup>aA</sup>

Valores na mesma coluna acompanhados de letras minúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).  
Valores na mesma linha (negativo com negativo ou positivo com positivo) acompanhados de letras maiúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

Tabela 29: Valores medianos, mínimos e máximos de *Escherichia coli* por região (coxão, peito e pescoço) das meias carcaças do primeiro estudo em UFC/cm<sup>2</sup>

Meia Carcaça		Coxão			Peito			Pescoço		
		Mediana	Mínimo	Máximo	Mediana	Mínimo	Máximo	Mediana	Mínimo	Máximo
Quente	Revestida	0,000 <sup>aAα</sup>	0,000	0,063	0,000 <sup>aAα</sup>	0,000	0,125	0,000 <sup>aAα</sup>	0,000	2,063
	Controle	0,000 <sup>aAα</sup>	0,000	193,750	0,000 <sup>aAα</sup>	0,000	1,813	0,000 <sup>aAα</sup>	0,000	0,188
Resfriada	Revestida	0,000 <sup>aAα</sup>	0,000	1,438	0,000 <sup>aAα</sup>	0,000	1,813	0,000 <sup>aAα</sup>	0,000	0,625
	Controle	0,000 <sup>aAα</sup>	0,000	1,188	0,000 <sup>aAα</sup>	0,000	1,125	0,000 <sup>aAα</sup>	0,000	0,875

Valores na mesma coluna (meia carcaça revestida comparada a controle) acompanhados de letras minúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

Valores na mesma coluna (meia carcaça quente comparada à resfriada) acompanhados de letras maiúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

Valores na mesma linha acompanhados de letras gregas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

Tabela 30 – Frequência de ocorrências de *Escherichia coli* por região (coxão, peito e pescoço) das meias carcaças. Entre parênteses percentuais correspondentes

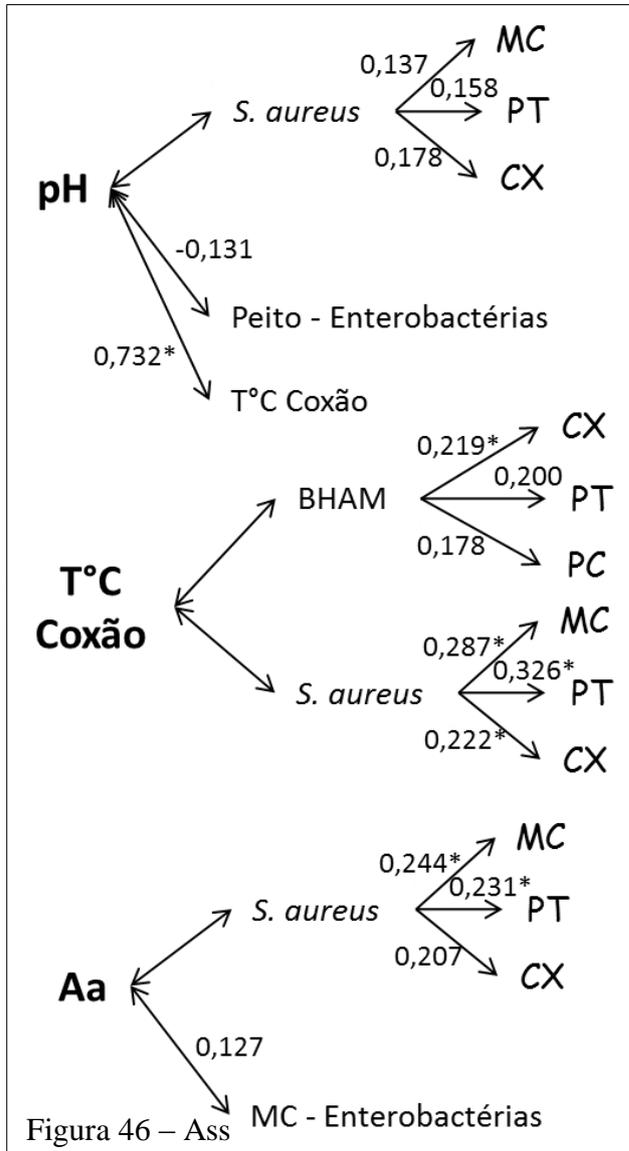
Meia Carcaça		Coxão		Peito		Pescoço	
		Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo
Quente	Revestida	58 (96,7) <sup>aAα</sup>	2 (3,3) <sup>aAα</sup>	56 (93,3) <sup>aAα</sup>	4 (6,7) <sup>aAα</sup>	57 (95,0) <sup>aAα</sup>	3 (5,0) <sup>aAα</sup>
	Controle	57 (95,0) <sup>aAα</sup>	3 (5,0) <sup>aAα</sup>	51 (85,0) <sup>aAα</sup>	9 (15,0) <sup>aAα</sup>	58 (96,7) <sup>aAα</sup>	2 (3,3) <sup>aAα</sup>
Resfriada	Revestida	55 (91,7) <sup>aAα</sup>	5 (8,3) <sup>aAα</sup>	52 (86,7) <sup>aAα</sup>	8 (13,3) <sup>aAα</sup>	56 (93,3) <sup>aAα</sup>	4 (6,7) <sup>aAα</sup>
	Controle	59 (98,3) <sup>aAα</sup>	1 (1,7) <sup>aAα</sup>	56 (93,3) <sup>aAα</sup>	4 (6,7) <sup>aAα</sup>	58 (96,7) <sup>aAα</sup>	2 (3,3) <sup>aAα</sup>

Valores na mesma coluna (meia carcaça revestida comparada a controle) acompanhados de letras minúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

Valores na mesma coluna (meia carcaça quente comparada à resfriada) acompanhados de letras maiúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

Valores na mesma linha (negativo com negativo ou positivo com positivo) acompanhados de letras gregas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

9.1.6 Estudos das associações



As associações calculadas neste estudo não discriminaram o momento (meia carcaça quente ou resfriada), nem o tratamento (meia carcaça revestida ou controle). Globalmente foram feitas associações entre as variáveis avaliadas (parâmetros físico-químicos e bacterianos).

Foram adotadas siglas para facilitar a visualização dos esquemas: Meia carcaça (MC), Coxão (CX), Peito (PC), Pescçoço (PC), Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (BHAM ou AC), *S. aureus* (STX), Enterobactérias (EB) e *E. coli* (EC).

Nestes esquemas estão representadas apenas as associações consideradas relevantes para melhor compreensão e avaliação dos resultados do estudo. Demais associações não foram abordadas. Com poucas exceções, praticamente todas as correlações encontradas neste estudo foram positivas.

As associações variaram muito quanto ao nível de significância encontrado, porém, todas com  $p \leq 0,05$ . Valores seguidos de asterisco (\*) demonstram associações que tiveram maior relevância estatística ( $p \leq 0,001$ ), ou seja, um intervalo de confiança de 99,9%.

De um modo geral as correlações, embora inúmeras, tiveram magnitudes baixas a médias. Exceto para as associações entre as regiões coletadas (geralmente o peito) e a meia carcaça. Isso se explica pelo fato da meia carcaça ser calculada a partir da média entre as regiões de coleta.

Na Figura 46 estão esquematizadas as associações identificadas para os parâmetros físico-químicos (pH, temperatura e atividade de água). Apenas as contagens de *S. aureus* para meia carcaça e regiões do peito e coxão tiveram associação com todos os parâmetros físico-

químicos avaliados. As contagens de BHAM para todas as regiões tiveram associação com a temperatura interna do coxão. Entre os parâmetros físico-químicos, houve associação apenas entre pH e a temperatura interna do coxão.

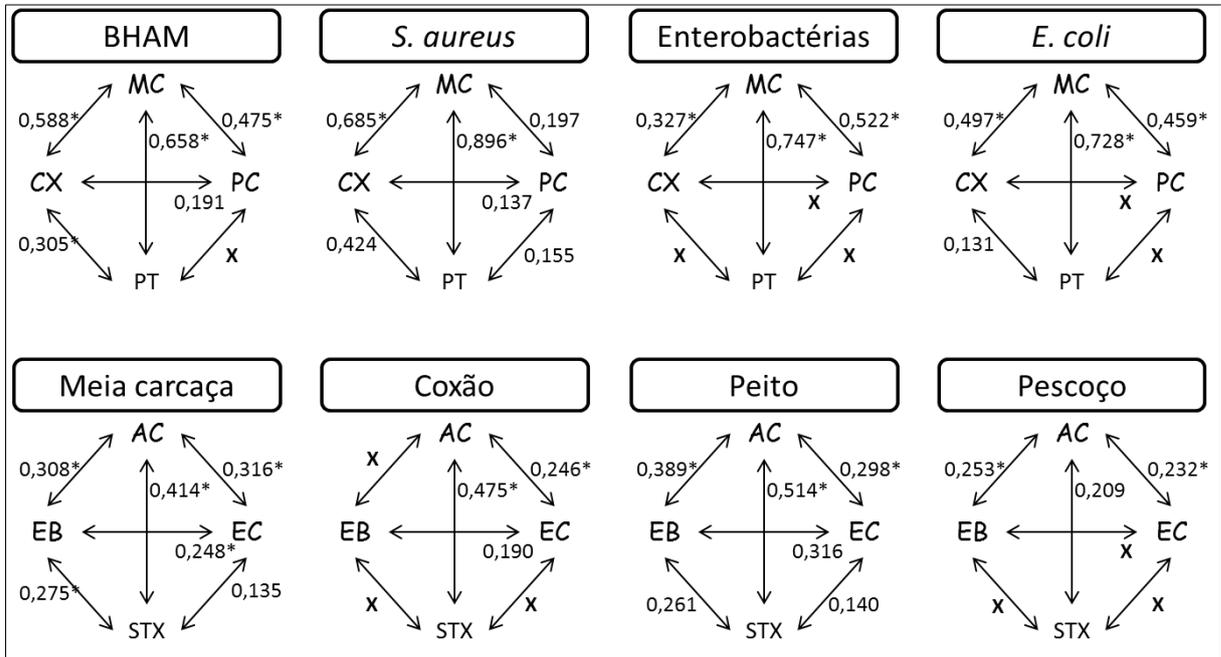


Figura 47 – Esquemas das associações – pontos de coleta e bactérias

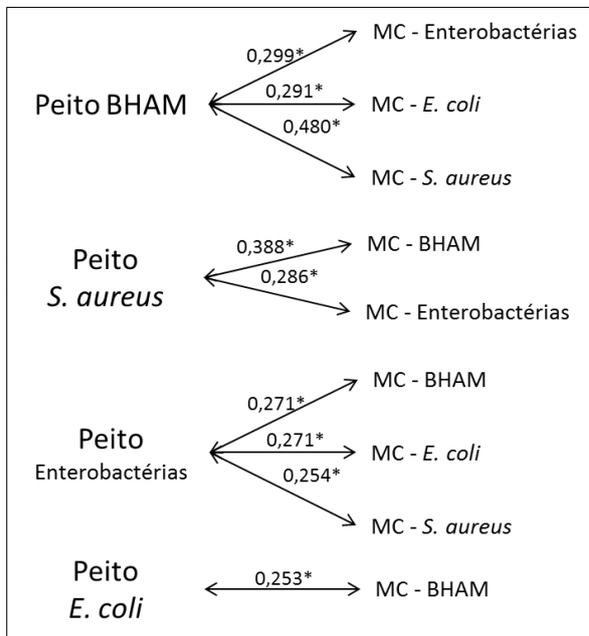


Figura 48 – Associações entre análises bacterianas em relação à região do peito.

Apenas as contagens de *S. aureus* demonstraram associação entre todas as áreas avaliadas (meia carcaça, coxão, peito e pescoço). Para BHAM faltou à associação entre peito e pescoço. Comparando agora os grupos bacterianos dentro de uma mesma área, apenas a meia carcaça e o peito demonstraram que há associação entre todos os grupos bacterianos avaliados. Para coxão e pescoço houve ausência de associação principalmente entre *S. aureus* e os demais grupos. (Figura 47).

Fugindo da sistemática dos esquemas da Figura 47, na Figura 48 é possível visualizar as associações entre o peito e a meia carcaça para diferentes grupos bacterianos. Observa-se que as contagens no peito para BHAM tem associação positiva com as contagens em meia

carcaça de Enterobactérias, *E. coli* e *S. aureus*. O mesmo ocorreu para Enterobactérias em relação aos outros grupos avaliados. *S. aureus* associou-se a BHAM e Enterobactérias. *E. coli* apenas a BHAM.

### 9.1.7 Controle das possíveis variáveis do experimento

Não foi possível estabelecer um procedimento estatístico para avaliar as coletas prévias pelo baixo número de amostras por variável, portanto, as observações deste subtítulo foram obtidas a partir de análises descritivas.

Todas as esponjas sem uso (novas) adicionadas de 10 ml de SSPT apresentaram ausência de crescimento de BHAM. Nas análises para BHAM nas cinco luvas estéreis recém-colocadas previamente a coleta por esponja do primeiro dia, apenas uma apresentou contagem (0,133 UFC/cm<sup>2</sup>). Das seis luvas avaliadas no segundo dia, apenas uma apresentou contagem (0,267 UFC/cm<sup>2</sup>).

Dos cinco rolos de filme plástico utilizados no revestimento, apenas dois apresentaram contagens, apenas um dos rolos apresentou contagem de BHAM nas bordas (0,16 UFC/cm<sup>2</sup>), e outro apenas nas bordas (0,48 UFC/cm<sup>2</sup>) e no início (0,012 UFC/cm<sup>2</sup>). Os demais rolos e locais não apresentaram contagens.

Tabela 31 – Valores médios de B.H.A.M. das mãos, mangotes e aventais em UFC/cm<sup>2</sup> da equipe que revestiu as meias carcaças esquerdas

	Primeiro dia		Segundo dia	
	Antes	Depois	Antes	Depois
Mãos	0,080	0,053	0,720	1,200
Mangotes	10,624	0,048	23,760	0,400
Aventais	0,890	0,230	1,790	0,488

Na avaliação de luvas, mangotes e aventais da equipe que revestiu as meias carcaças não houve crescimento em nenhuma das placas para Enterobactérias e *Escherichia coli*. Houve crescimento de *Staphylococcus aureus* apenas no mangote, com crescimento em quatro placas de um total de 19 placas, as quatro com 0,08 UFC/cm<sup>2</sup>, sendo uma no início do primeiro dia, duas no início do segundo dia e a última no final do segundo dia. O crescimento de BHAM pode ser visualizado na Tabela 01, no primeiro dia as médias de contagens nas mãos, mangotes e aventais indicaram uma possível tendência de redução durante as operações

experimentais, o mesmo ocorreu no segundo dia, com exceção das mãos que aparentemente apresentaram maiores contagens após as operações experimentais do segundo dia

## 9.2 SEGUNDA ETAPA DO ESTUDO

### 9.2.1 Maturação Sanitária

Os registros das temperaturas pelo sensor térmico ambiente ligado ao sistema da empresa na câmara de resfriamento podem ser visualizados no Gráfico 03. Pode ser observado que os requisitos mínimos para a Maturação Sanitária foram satisfeitos, ou seja, temperatura igual ou superior a 2°C por um período mínimo de 24 horas. A área avermelhada demonstra às 24 horas de resfriamento (Maturação Sanitária) das meias carcaças do experimento (Gráfico 03).

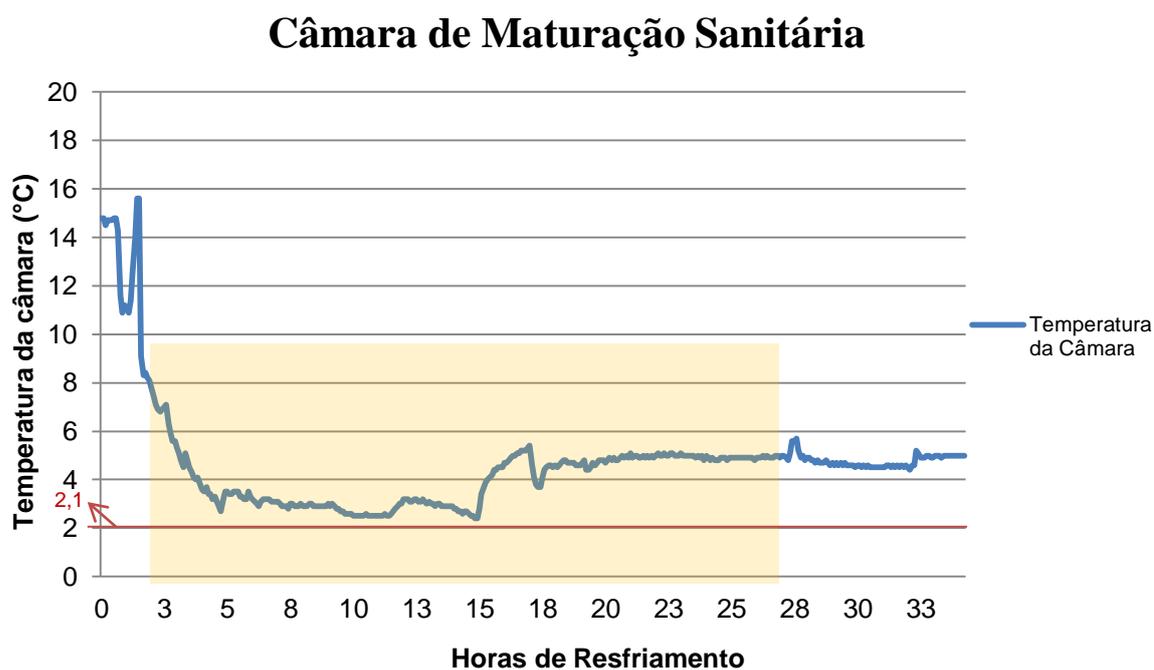


Gráfico 03 - Curva de temperaturas da câmara durante o período do resfriamento (Maturação Sanitária). Limite de segurança de 2,1°C (linha vermelha). Curva de temperatura da câmara enquanto durante a presença das meias carcaças do experimento (área avermelhada).

Durante o período de resfriamento (24 horas de Maturação Sanitária) das meias carcaças do experimento, a velocidade do ar dentro da câmara foi mensurada em sete pontos

distintos (cruzes azuis na Figura 49), em sete momentos (carregamento, hora 0, 3 horas, 6, 9, 13 e 24 horas). A média por ponto (velocidades indicadas em cada ponto), média geral durante o resfriamento e média por tempo de resfriamento estão indicados na Figura 46. A linha vermelha em negrito corresponde à posição das meias carcaças do experimento durante o resfriamento. Ao lado de cada ponto de observação também se observa o sentido mais forte do vento, o qual foi utilizado para direcionar o anemômetro a localizar o maior registro de velocidade.

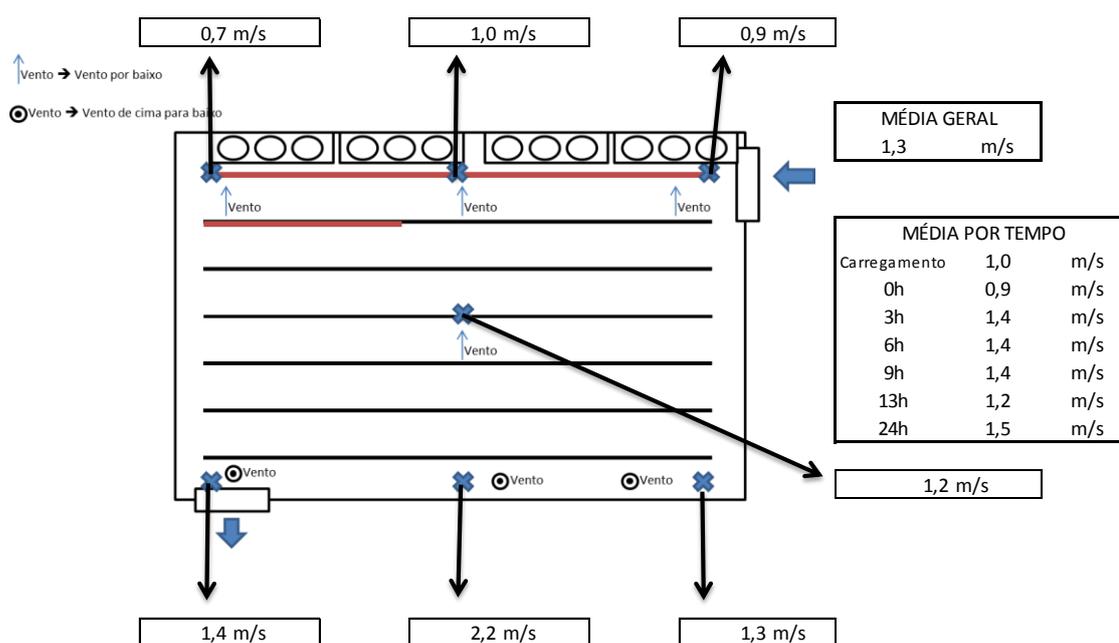


Figura 49 – Velocidade do vento média por ponto investigado, direção do vento, média geral e média por tempo de resfriamento da câmara durante as 24 horas de Maturação Sanitária das meias carcaças do experimento. Posicionamento das meias carcaças do experimento (linha vermelha em negrito).

### 9.2.2 Resfriamento (estocagem) dos quartos bovinos

As 72 horas de resfriamento (estocagem) dos quartos do experimento registradas pelos sensores térmicos ambientes ligados ao sistema da empresa na câmara de equalização (câmara pulmão) podem ser observadas no Gráfico 04. A área avermelhada corresponde ao intervalo horário em que a temperatura ambiente da câmara também foi acompanhada por “Data Logger”, como observado no Gráfico 05.

Durante o período de resfriamento (72 horas de equalização/estocagem) dos quartos do experimento, a velocidade do ar dentro da câmara foi mensurada em sete pontos distintos (cruzes azuis na Figura 50). A média por ponto (velocidades indicadas em cada ponto) e

média geral durante o resfriamento estão indicados na Figura 50. Essas médias foram obtidas a partir dos registros com 0, 2, 5, 13, 24, 31, 46 e 72 horas de resfriamento. Nesses oito momentos também foram registrados as temperaturas do sensor digital localizado no lado externo da câmara, como também dos sensores de mercúrio localizados no interior da câmara, suas médias também podem ser observadas na Figura 50. Ao lado de cada ponto de observação também pode ser identificado o sentido mais forte do vento, o qual foi utilizado para direcionar o anemômetro a localizar o maior registro de velocidade.

## Câmara de Resfriamento (Equalização) - Pulmão

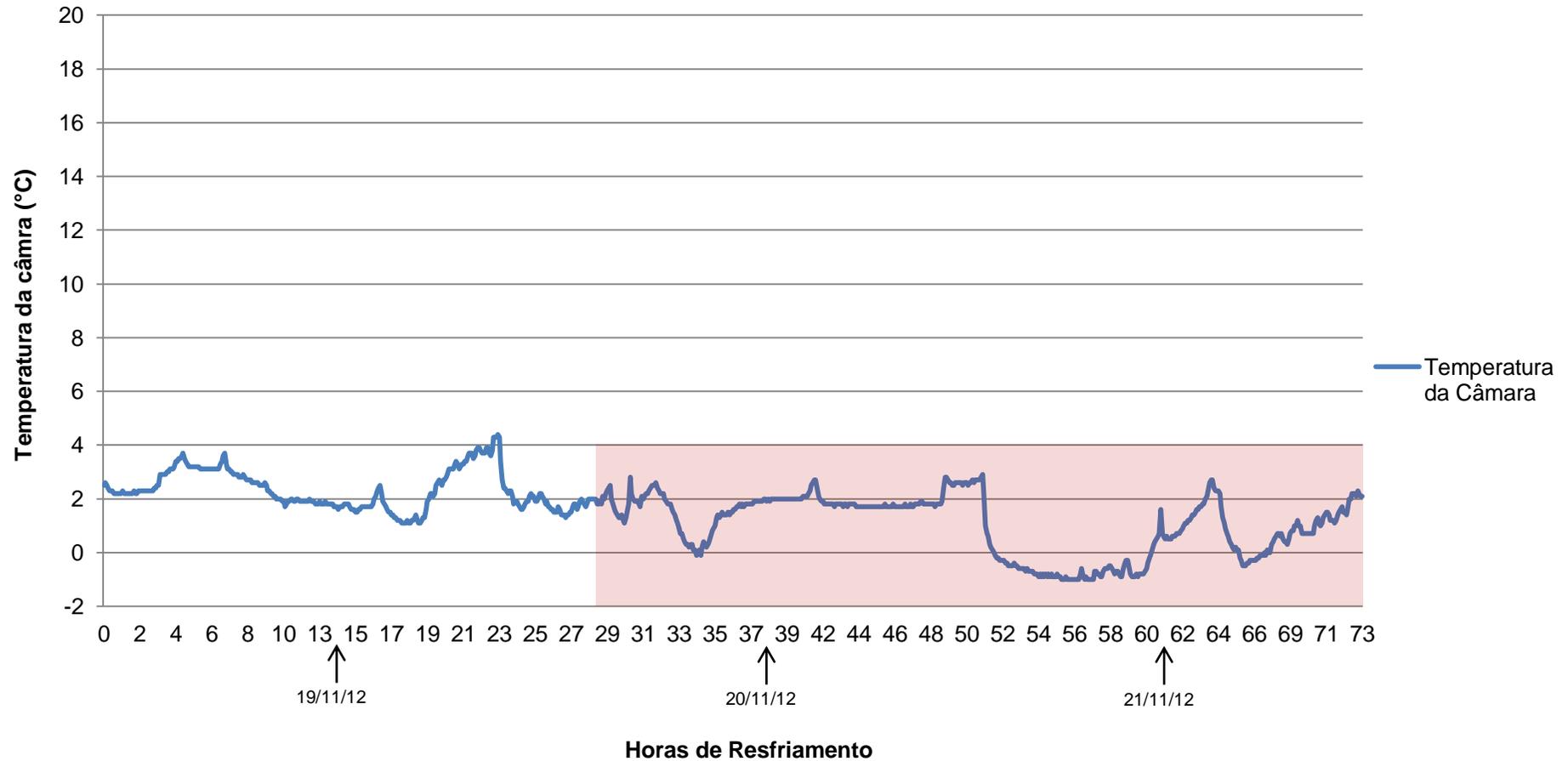


Gráfico 04 - Curva de temperaturas da câmara de armazenamento durante o período do resfriamento (estocagem) por 72 horas. Faixa horária também avaliada por “Data Logger” a ser inserido no Gráfico 05 (área avermelhada).

### Câmara de Resfriamento (Equalização) - "Data Logger"

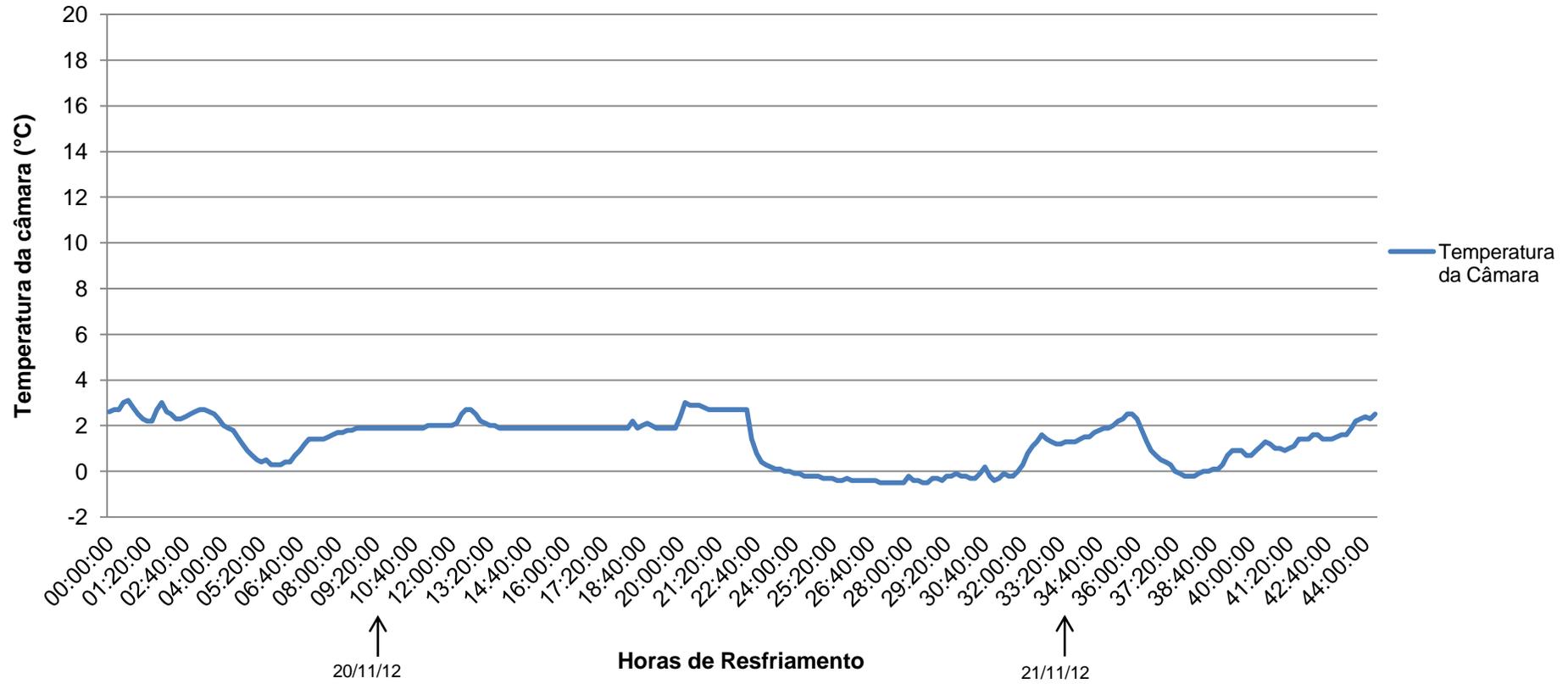


Gráfico 05 - Curva de temperaturas da câmara de armazenamento obtida por "Data Logger".

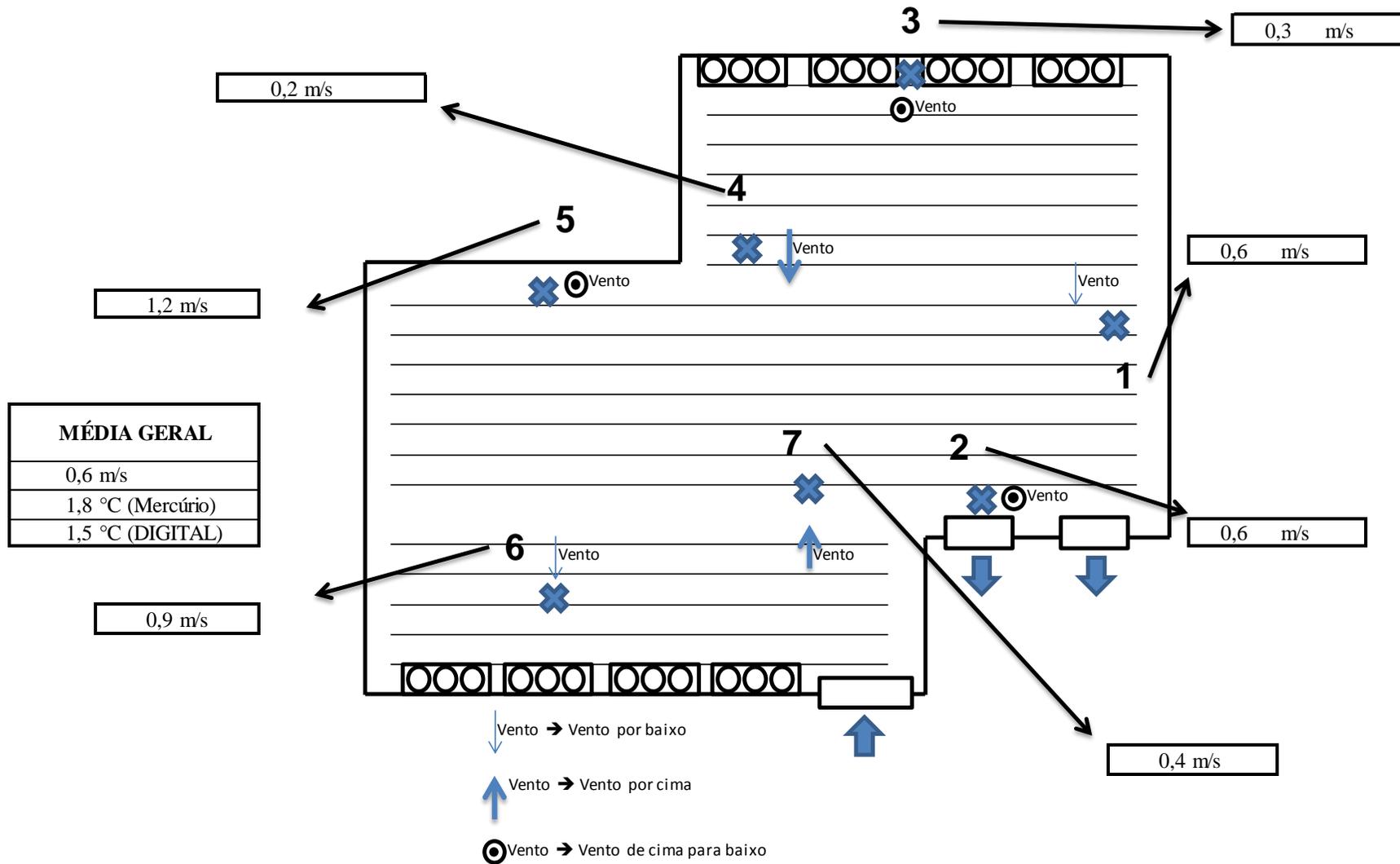


Figura 50 – Velocidade do ar média por ponto investigado, direção do ar e média geral da câmara durante as 72 horas de estocagem dos quartos do experimento na câmara de armazenamento.

### 9.2.3 Perdas de peso das meias carcaças

Tabela 32 – Valores percentuais medianos, mínimos e máximos das perdas de peso das meias carcaças com 24, 48, 72 e 96 horas de resfriamento

Meia carcaça		Tempo de Resfriamento			
		24 horas	48 horas	72 horas	96 horas
Controle	Mediana	2,234 <sup>aA</sup>	2,526 <sup>aB</sup>	2,923 <sup>aC</sup>	3,209 <sup>aD</sup>
	Mínimo	1,090	1,289	1,487	1,735
	Máximo	5,985	6,300	6,537	6,773
Revestida	Mediana	1,004 <sup>bA</sup>	1,443 <sup>bB</sup>	1,871 <sup>bC</sup>	2,237 <sup>bD</sup>
	Mínimo	0,642	1,076	1,517	1,762
	Máximo	1,349	1,753	2,220	2,607

Valores na mesma coluna acompanhados de letras minúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,001$ ).  
Valores na mesma linha acompanhados de letras maiúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,001$ ).

Tabela 33 – Valores percentuais medianos, mínimos e máximos das perdas de peso das meias carcaças entre 24/48, 48/72 e 72/96 horas de resfriamento

Meia carcaça		Tempo de Resfriamento		
		24/48 horas	48/72 horas	72/96 horas
Controle	Mediana	0,274 <sup>aA</sup>	0,394 <sup>aB</sup>	0,289 <sup>aAB</sup>
	Mínimo	0,088	0,201	0,154
	Máximo	0,511	0,603	0,441
Revestida	Mediana	0,420 <sup>bA</sup>	0,494 <sup>bA</sup>	0,295 <sup>aB</sup>
	Mínimo	0,232	0,248	0,154
	Máximo	0,610	0,672	0,509

Valores na mesma coluna acompanhados de letras minúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).  
Valores na mesma linha acompanhados de letras maiúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,001$ ).

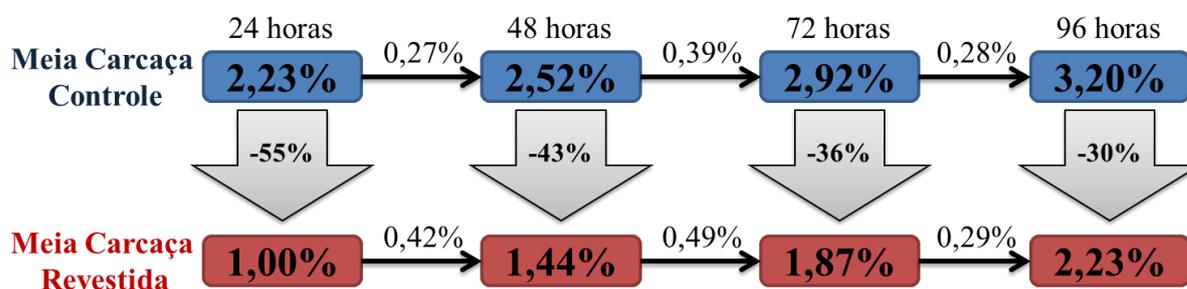


Figura 51 – Esquema comparativo entre as perdas de peso das meias carcaças controle versus perdas de peso das meias carcaças revestidas.

### 9.2.4 Perdas de peso dos dianteiros

Tabela 34 – Valores percentuais medianos, mínimos e máximos das perdas de peso dos dianteiros com 24, 48, 72 horas de resfriamento (estocagem)

Dianteiro		Tempo de Resfriamento (estocagem)			
		24 horas	48 horas	72 horas	72 horas <sup>(*)</sup>
Meia Carcaça Controle	Mediana	0,555 <sup>aA</sup>	0,864 <sup>aB</sup>	1,228 <sup>aC</sup>	-
	Mínimo	0,199	0,423	0,846	-
	Máximo	0,962	1,215	1,683	-
Meia Carcaça Revestida	Mediana	0,739 <sup>bA</sup>	1,187 <sup>bB</sup>	1,472 <sup>bC</sup>	-
	Mínimo	0,528	0,779	1,134	-
	Máximo	1,033	1,417	1,741	-
Dianteiro Revestido	Mediana	-0,182 <sup>cA</sup>	-0,182 <sup>cA</sup>	0,000 <sup>cB</sup>	0,043 <sup>C</sup>
	Mínimo	-0,549	-0,337	-0,198	-0,156
	Máximo	0,274	0,274	0,549	0,606

Valores na mesma coluna acompanhados de letras minúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,001$ ).

Valores na mesma linha acompanhados de letras maiúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,001$ ).

(\*) Perda de peso dos dianteiros revestidos com 72 horas de estocagem depois da retirada do revestimento plástico.

Tabela 35 – Valores percentuais medianos, mínimos e máximos das perdas de peso dos dianteiros entre 24/48, 48/72 e 72/72 horas de resfriamento (estocagem)

Dianteiro		Tempo de Resfriamento (estocagem)		
		24/48 horas	48/72 horas	72/72 horas <sup>(*)</sup>
Meia Carcaça Controle	Mediana	0,356 <sup>aA</sup>	0,349 <sup>aA</sup>	-
	Mínimo	0,000	0,000	-
	Máximo	0,591	0,554	-
Meia Carcaça Revestida	Mediana	0,376 <sup>aA</sup>	0,357 <sup>aA</sup>	-
	Mínimo	0,131	0,178	-
	Máximo	0,604	0,504	-
Dianteiro Revestido	Mediana	0,000 <sup>bA</sup>	0,181 <sup>bB</sup>	0,040 <sup>B</sup>
	Mínimo	-0,281	0,000	0,034
	Máximo	0,273	0,560	0,072

Valores na mesma coluna acompanhados de letras minúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,001$ ).

Valores na mesma linha acompanhados de letras maiúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

(\*) Perda de peso dos dianteiros revestidos após a retirada do revestimento plástico.

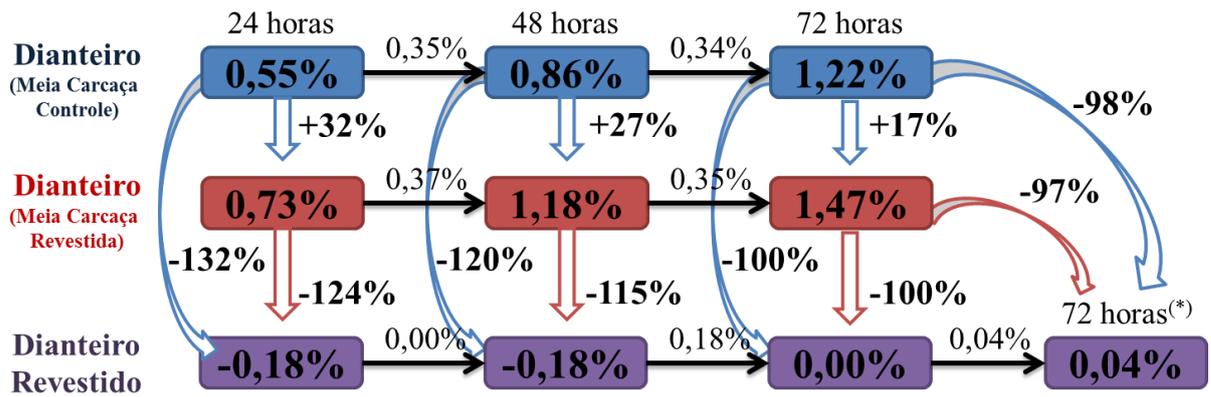


Figura 52 – Esquema comparativo entre as perdas de peso dos dianteiros. Dianteiro (meia carcaça controle) versus dianteiro (meia carcaça revestida) versus dianteiro revestido.

Os sacos plásticos utilizados para o revestimento dos dianteiros durante a equalização/estocagem possuíam em média 0,07042kg cada. Durante a equalização/estocagem acumulou-se líquido (provavelmente exsudato) e resíduos no fundo dos sacos plásticos (Figura 50), esse acúmulo teve peso médio de 0,021kg. Esse foi significativamente relevante na determinação da perda de peso.



Figura 53 – (A e B) Líquido (provavelmente exsudato) e resíduos no fundo dos sacos plásticos que revestiram os dianteiros durante a equalização/estocagem.

### 9.2.5 Perdas de peso dos traseiros especiais

Tabela 36 – Valores percentuais medianos, mínimos e máximos das perdas de peso dos traseiros especiais com 24, 48, 72 horas de resfriamento (estocagem)

Traseiro Especial		Tempo de Resfriamento (estocagem)			
		24 horas	48 horas	72 horas	72 horas <sup>(*)</sup>
Meia Carcaça Controle	Mediana	0,336 <sup>aA</sup>	0,699 <sup>aB</sup>	0,951 <sup>aC</sup>	-
	Mínimo	0,104	0,311	0,518	-
	Máximo	0,535	0,829	1,240	-
Meia Carcaça Revestida	Mediana	0,467 <sup>bA</sup>	0,913 <sup>bB</sup>	1,181 <sup>bC</sup>	-
	Mínimo	0,168	0,503	0,609	-
	Máximo	0,696	1,087	1,413	-
Traseiro Especial Revestido	Mediana	0,168 <sup>cA</sup>	0,167 <sup>cA</sup>	0,320 <sup>cB</sup>	0,346 <sup>B</sup>
	Mínimo	0,000	0,000	0,155	0,180
	Máximo	0,425	0,612	0,765	0,790

Valores na mesma coluna acompanhados de letras minúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,001$ ).

Valores na mesma linha acompanhados de letras maiúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,001$ ).

(\*) Perda de peso dos traseiros especiais revestidos com 72 horas de estocagem depois da retirada do revestimento plástico.

Tabela 37 – Valores percentuais medianos, mínimos e máximos das perdas de peso dos traseiros especiais entre 24/48, 48/72 e 72/72 horas de resfriamento (estocagem)

Traseiro Especial		Tempo de Resfriamento (estocagem)		
		24/48 horas	48/72 horas	72/72 horas <sup>(*)</sup>
Meia Carcaça Controle	Mediana	0,326 <sup>aA</sup>	0,300 <sup>aA</sup>	-
	Mínimo	0,169	0,159	-
	Máximo	0,545	0,417	-
Meia Carcaça Revestida	Mediana	0,470 <sup>bA</sup>	0,314 <sup>aB</sup>	-
	Mínimo	0,203	0,102	-
	Máximo	0,727	0,469	-
Traseiro Especial Revestido	Mediana	0,000 <sup>cA</sup>	0,160 <sup>bB</sup>	0,028 <sup>B</sup>
	Mínimo	-0,239	0,000	0,026
	Máximo	0,307	0,248	0,041

Valores na mesma coluna acompanhados de letras minúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

Valores na mesma linha acompanhados de letras maiúsculas distintas são estatisticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

(\*) Perda de peso dos traseiros especiais revestidos após a retirada do revestimento plástico.

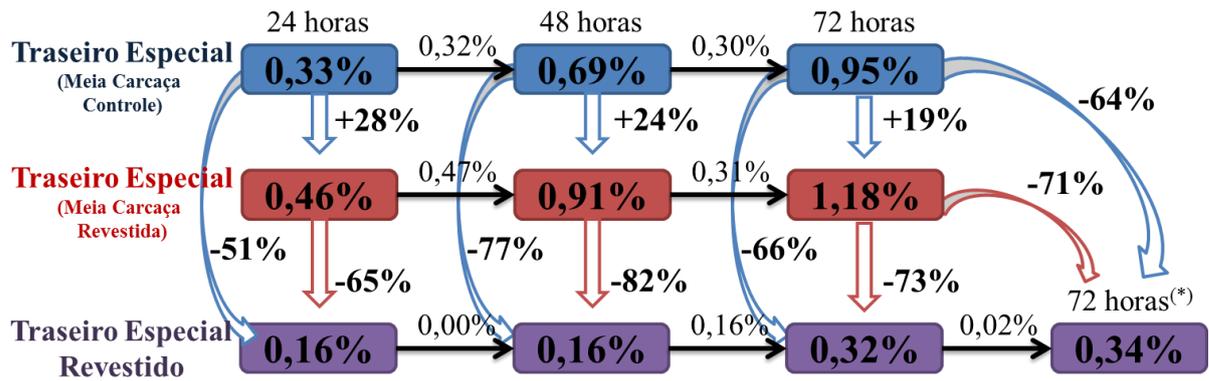


Figura 54 – Esquema comparativo entre as perdas de peso dos traseiros especiais. Traseiro especial (meia carça controle) versus traseiro especial (meia carça revestida) versus traseiro especial revestido.

Quando os quartos foram revestidos com filmes ou embalagens plásticas inúmeras vantagens foram observadas como por exemplo: a redução expressiva da quebra de peso, o aspecto estético positivo de quartos embalados e estocados nas câmaras frigoríficas, principalmente no que se refere a deslocamento e manipulação dos quartos entre os trilhos aéreos.

Observações *in loco* mostraram que o revestimento com embalagens plásticas é mais vantajoso que o filme plástico. O processo de revestimento com a embalagem plástica é mais rápido, mais fácil e demanda menos mão de obra, além de rasgar menos durante os deslocamentos e manipulações. E, ao fim, é mais fácil, mais rápido e demanda menos mão de obra para ser retirado. Outra grande vantagem é ser ecologicamente mais adequado, visto que pode ser reciclado, enquanto o filme plástico não, o que também possivelmente altera os custos para a empresa.