

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

THIAGO CABRAL ZILLI

**ALTERAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS E
BACTERIOLÓGICAS EM FILÉS DE PEITO DE
FRANGO PRONTOS PARA CONSUMO
EMBALADOS EM ATMOSFERA MODIFICADA E
ARMAZENADOS SOB REFRIGERAÇÃO**

**UNIVERSIDADE
FEDERAL
FLUMINENSE**

**NITERÓI / RJ
2014**

THIAGO CABRAL ZILLI

**ALTERAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS E BACTERIOLÓGICAS EM FILÉS DE PEITO
DE FRANGO PRONTOS PARA CONSUMO EMBALADOS EM ATMOSFERA
MODIFICADA E ARMAZENADOS SOB REFRIGERAÇÃO**

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

Orientador: Prof. Dr. SÉRGIO BORGES MANO

Coorientador: Dr. MOSAR LEMOS

Niterói / RJ

2014

THIAGO CABRAL ZILLI

ALTERAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS E BACTERIOLÓGICAS EM FILÉS DE PEITO DE FRANGO PRONTOS PARA CONSUMO EMBALADOS EM ATMOSFERA MODIFICADA E ARMAZENADOS SOB REFRIGERAÇÃO

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

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Sérgio Borges Mano – Orientador
Universidade Federal Fluminense

Dr. Mosar Lemos - PNP/UFF – Coorientador
Universidade Federal Fluminense

Prof. Dr. Thiago Alvares – IQ/UFRJ
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Prof. Dra. Micheli Ferreira - PNP/UFF
Universidade Federal Fluminense

Niterói / RJ
2014

À minha namorada, Sammara Cavalcanti, meus pais e amigos, sempre me levantando após minhas quedas e me proporcionando os melhores momentos de minha vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre alumiar a estrada e me permitir trilhar o caminho certo.

Aos meus pais, Alda Maria Zilli e Emilio Cesar Zilli, por todo carinho, paciência, compreensão, amor e lições que me proporcionaram durante toda a minha vida, sempre colocando meus pés no chão e me ensinando que para se ter sucesso é preciso ter lógica, ser honesto, justo, respeitoso, humilde, agradecido, trabalhar muito e saber aproveitar as oportunidades nas horas certas.

Aos meus irmãos, Pablo e Alexandre Zilli, pelos seus exemplos de sucesso profissional que são, mostrando que competência e responsabilidade estão atreladas a nunca perderem seu senso de humor e foco.

À minha avó, Rosa Cabral, e tia, Judith Junqueira, pelo amor incondicional, pelas preces, pela ternura e os momentos alegres inesquecíveis juntos. Exemplos de força, humildade, lucidez e alegria para toda a família.

À minha namorada, Sammara Cavalcanti, minha companheira de aventuras, pelo amor eternizado, pelo carinho acalentador, pela admiração crescente, pelo porto seguro nos momentos de tristeza, dúvida e desafio, pela felicidade das conquistas juntos, pelos jantares deliciosos, pela cumplicidade extrema, pela calma que proporciona ao meu coração, espírito e mente. É o que tenho de mais precioso. Meu amor para a vida inteira.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Sergio Mano, ao Prof. Dr. Robson Franco, à Profa. Dra. Mônica Freitas, à Profa. Dra. Eliane Mársico, ao Prof. Dr. Dalton Mattos, ao Prof. Dr. Carlos Conte, à Profa. Dra. Cláudia Teixeira e ao Prof. Dr. Luciano Antunes pela disponibilização dos espaços e fômites utilizados neste experimento e pelos valiosos ensinamentos e conselhos acadêmicos.

Ao meu coorientador Dr. Mosar Lemos, pela serenidade, didática, maturidade, compreensão, contribuição operacional e teórica, pela experiência repassada, por

todo o tempo dedicado, pelos ensinamentos e conselhos acadêmicos. Ao senhor o meu respeito, admiração e meu agradecimento.

Aos estagiários do laboratório de controle físico-químico de produtos de origem animal da UFF; Júnior, Pâmela, Pedro e Ariane, e à equipe do CLAN (Centro Laboratorial Analítico) pela atenção aos ensinamentos repassados e aplicação dos mesmos com responsabilidade e seriedade e pela dedicação com que ajudaram na condução dos experimentos, apesar de todas as dificuldades com horários. Obrigado.

Ao Dr. Carlos Hall (PUC-RJ), que com a sua inteligência, paciência, juventude e carisma me orientou, teórica e praticamente, acerca dos procedimentos estatísticos utilizados neste experimento. Muito obrigado, Dr. Mágico.

A todos os meus colegas da pós-graduação, pelos momentos únicos e de boas risadas dentro e fora da faculdade, pelo companheirismo e pelo auxílio. Iremos nos encontrar novamente com toda a certeza.

A todos os professores da pós-graduação pela amizade, atenção, paciência, seriedade e pelos ensinamentos não só profissionais, mas para a vida inteira.

A Drausio, Mariana e André pelos momentos de risadas em meio às turbulências do mundo acadêmico e por serem tão atenciosos e prestativos, sempre com alegria e real intenção de ajudarem os alunos com toda a burocracia e trâmites acadêmicos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Higiene Veterinária e Processamento de Produtos de Origem Animal por me proporcionar mais essa oportunidade para expansão dos meus conhecimentos e horizontes, tanto acadêmico quanto profissional.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pelo apoio financeiro.

“A autorrealização ou o entendimento da própria Realidade deve ser o propósito fundamental de toda educação, e não meramente o acúmulo de informações sobre o mundo externo.”

Sathya Sai Baba

RESUMO

Objetivou-se nesta pesquisa avaliar o comportamento de crescimento bacteriano e as alterações físico-químicas em filés de peito de frango temperados, grelhados, prontos para consumo, embalados em diferentes atmosferas (EAM) e mantidas sob refrigeração doméstica ($6\pm 2^{\circ}\text{C}$) durante período de 15 dias. Foram embaladas 72 amostras submetidas aos seguintes tratamentos (atmosferas): ar atmosférico (Controle), vácuo (T1); 20%CO₂/80%N₂ (T2), 40%CO₂/60%N₂ (T3), 60%CO₂/40%N₂ (T4), 80%CO₂/20%N₂ (T5). Foram realizadas contagens de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (BHAM) e psicrotróficas e análises físico-químicas (pH e taxa de oxidação lipídica – n° de TBARS). Utilizou-se modelo de regressão de Gompertz modificado para determinação das curvas de comportamento bacteriano. Sugeriu-se que o aumento da concentração de CO₂ no meio em EAM exerce influência sobre a diminuição das contagens máximas de mesófilos ($P < 0,05$) e sobre a redução do pH ($P < 0,001$) e da taxa de oxidação lipídica ($P < 0,001$) no produto avaliado. Enquanto a contagem bacteriana máxima ajustada de BHAM – em Ln(N/N₀) – chegou a 8,95 UFC/g no Controle no último dia de análise, esta foi de 2,94 UFC/g em T5 (uma redução de 67%). Comparando T2 (4,70 UFC/g) – com T5, esta redução foi de 37%. O tratamento que apresentou menor valor de pH, principalmente a partir do 5° dia de estocagem sob refrigeração ($6\pm 2^{\circ}\text{C}$), foi o com maior concentração de CO₂ em EAM (T5). Já o que propiciou uma menor oxidação lipídica do produto em todos os dias de estocagem analisados foi T3. Avaliou-se, neste experimento, que o aumento da concentração de CO₂ utilizada em EAM proporcionou melhorias em todos os parâmetros estudados, sugerindo esta tecnologia como alternativa para produtores de alimentos na redução, ou mesmo supressão, da utilização de conservantes e aditivos em produtos prontos para o consumo à base de carne de frango.

Palavras-chave: filés, frango, prontos para consumo, atmosferas modificadas, dióxido de carbono.

ABSTRACT

This research evaluated the behavior of bacterial growth and physicochemical changes in ready-to-eat seasoned chicken breast fillets packaged under six different atmospheres (MAP) and maintained under domestic refrigeration ($6\pm 2^{\circ}\text{C}$) over a period of 15 days. 72 samples were subjected to the following treatments (atmospheres): air (control), vacuum (T1); 20%CO₂/80%N₂ (T2), 40%CO₂/60%N₂ (T3), 60%CO₂/40%N₂ (T4) 80%CO₂/20%N₂ (T5). Aerobic mesophilic (AMHB) and psychrotrophic heterotrophic bacteria counts and physicochemical analyzes (pH values and lipid oxidation rate – TBARS values) were performed. A modified Gompertz regression model was used to determine the bacterial behavior curves. It has been suggested that the increase in CO₂ concentration in MAP medium influences the decrease of maximum bacteria counts ($P < 0.05$), of pH values ($P < 0.001$) and of the lipid oxidation rate ($P < 0.001$) on the evaluated product. While the maximum adjusted AMHB count - in Ln (N / N₀) - reached 8.95 CFU/g in Control group on the last day of analysis, this was of 2.94 CFU/g in T5 (a reduction of 67%). Comparing T2 (4.70 CFU/g) - with T5, this reduction reached 37%. The treatment that showed the lowest pH value, especially from the 5th day forth of storage under refrigeration ($6\pm 2^{\circ}\text{C}$), was the one with greater MAP CO₂ concentration (T5). The one which led to a lower lipid oxidation rate on all days of storage was T3. This experiment evaluated that the increase of MAP CO₂ concentration provided improvements in all studied parameters, suggesting this technology as an alternative for food producers for reduction or even suppression of use of preservatives and additives in ready-to-eat poultry products.

Keywords: fillets, poultry, ready-to-eat, modified atmospheres, carbon dioxide.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Fig. 1 Estimativa para a produção de carnes (mil ton) no Brasil até 2021, p. 24
- Fig. 2 Estimativa para o consumo de carnes (mil ton) no Brasil até 2021, p. 25
- Fig. 3 Estimativa para a exportação brasileira de carnes (mil ton) até 2021, p. 26
- Fig. 4 Ação do O₂ sobre as transformações da mioglobina em carnes vermelhas, p. 34
- Fig. 5 Exemplo de associação de polímeros distintos em uma embalagem multicamadas Embalagem cartonada Tetra Pak para leites tipo Longa Vida, p. 42
- Fig. 6 Demonstração da relação direta entre coeficiente de permeabilidade ao vapor-d'água (π) e umidade relativa (HR) do ambiente para materiais higroscópicos, p. 45
- Fig. 7 Variação da propriedade de barreira da poliamida ao vapor-d'água em relação à umidade (HR) do ambiente em que se encontra, p. 45
- Fig. 8 Esquema das interações de uma substância (no caso o vapor-d'água) com o produto, o polímero do filme da embalagem e o meio externo, p. 46
- Fig. 9 Esquemas de estruturas de embalagens multicamadas e associação poliamida/polietileno, p. 47
- Fig. 10 Concentrações de CO₂, encontradas nas embalagens submetidas à injeção da mistura CO₂/N₂, em filés de peito de frango, temperados, grelhados, prontos para consumo, mantidos por 15 dias em ambiente resfriado (6±2°C) embalados em diferentes atmosferas, p. 66
- Fig. 11 Contagens de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (em log UFC/g por dia de estocagem) em filés de peito de frango, temperados, grelhados, prontos para consumo mantidos por 15 dias em ambiente resfriado (6±2°C) embalados em 6 diferentes atmosferas, p. 68
- Fig. 12 Contagens de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (em log UFC/g por Atmosfera) em placas 3M[®] Petrifilm[®] AC em filés de peito de frango, temperados, grelhados, prontos para consumo mantidos por 15 dias em ambiente resfriado (6±2°C) embalados em 6 diferentes atmosferas, p. 68
- Fig. 13 Comportamentos de crescimento de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas – em Ln(N/N₀) UFC/g x dias de estocagem – em filés de peito de frango, temperados, grelhados, prontos para consumo mantidos por 15 dias em ambiente resfriado (6±2°C) embalados em 6 diferentes atmosferas, p. 69
- Fig. 14 Ampliação da curva de comportamento de crescimento de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas – em Ln(N/N₀) UFC/g x dias de estocagem – em filés de peito de frango, temperados, grelhados, prontos para consumo mantidos por 15 dias em ambiente resfriado (6±2°C) embalados em 6 diferentes atmosferas, p. 70

- Fig. 15 Duração da fase de latência (valor de λ) de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas em filés de peito de frango, temperados, grelhados, prontos para consumo mantidos por 15 dias em ambiente resfriado ($6\pm 2^\circ\text{C}$) embalados em 6 diferentes atmosferas, p. 70
- Fig. 16 Número máximo de colônias (A assintótico) de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas em filés de peito de frango, temperados, grelhados, prontos para consumo mantidos por 15 dias em ambiente resfriado ($6\pm 2^\circ\text{C}$) embalados em 6 diferentes atmosferas, p. 71
- Fig. 17 Variação diária dos valores de pH obtidos em amostras de filés de peito de frango, temperados, grelhados, prontos para consumo mantidos por 15 dias em ambiente resfriado ($6\pm 2^\circ\text{C}$) embalados em 6 diferentes atmosferas, p. 73
- Fig. 18 Variação entre valores de pH máximos e mínimos entre dias de estocagem e coeficiente de determinação (R^2) inter-Tratamentos em amostras de filés de peito de frango, temperados, grelhados, prontos para consumo mantidos por 15 dias em ambiente resfriado ($6\pm 2^\circ\text{C}$) embalados em 6 diferentes atmosferas, p. 73
- Fig. 19 Variação diária dos valores de n° de TBARS encontrada em filés de peito de frango, temperados, grelhados, prontos para consumo mantidos por 7 dias em ambiente resfriado ($6\pm 2^\circ\text{C}$) embalados em 6 diferentes atmosferas, p. 75
- Fig. 20 Variação entre valores de n° de TBARS máximos e mínimos entre dias de estocagem e coeficiente de determinação (R^2) inter-Tratamentos em amostras de filés de peito de frango, temperados, grelhados, prontos para consumo mantidos por 15 dias em ambiente resfriado ($6\pm 2^\circ\text{C}$) embalados em 6 diferentes atmosferas, p. 76
- Fig. 21 Modelo esquemático para indicação dos parâmetros (A , μ e λ) de crescimento bacteriano - em $\ln(N/N_0)$ x tempo - usados na regressão pela função de Gompertz modificada, p. 99
- Fig. 22 Cálculo da função de Gompertz modificada para modelagem de curvas crescimento bacteriano com base nos parâmetros A , μ e λ , p. 100

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 Estimativa para a produção de carnes (mil ton) no Brasil até 2021, p. 24
- Tabela 2 Estimativa para o consumo de carnes (mil ton) no Brasil até 2021, p. 25
- Tabela 3 Estimativa para a exportação brasileira de carnes (mil ton) até 2021, p. 26
- Tabela 4 Médias e Desvio Padrão de contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas, Coliformes e E.coli (em \log_{10} UFC/g = NMP/cm²) em carcaças durante 5 etapas do fluxo de abate de frangos, p. 49
- Tabela 5 Frequência de ocorrência de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e coliformes e o risco desta contaminação se dar (OR) em cada etapa do abate de frangos, p. 50
- Tabela 6 Concentração de gases no interior das embalagens no grupo Controle e nos diversos tratamentos (T1 a T5) utilizados para análise de filés de peito de frango, temperados, grelhados, prontos para consumo, mantidos por 15 dias em ambiente resfriado ($6\pm 2^{\circ}\text{C}$), p. 63
- Tabela 7 Contagens de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (em log UFC/g) em placas 3M[®] Petrifilm[®] AC em filés de peito de frango, temperados, grelhados, prontos para consumo acondicionados por 15 dias em 6 diferentes atmosferas e resfriados ($6\pm 2^{\circ}\text{C}$), p. 67
- Tabela 8 Valores médios de pH obtidos das triplicatas das amostras de filés de peito de frango, temperados, grelhados, prontos para consumo mantidos por 15 dias em ambiente resfriado ($6^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$) embalados em 6 diferentes atmosferas, p. 72
- Tabela 9 Valores de n° de TBARS obtidos das médias das triplicatas de amostras de filés de peito de frango, temperados, grelhados, prontos para consumo mantidos por 7 dias em ambiente resfriado ($6^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$) embalados em 6 diferentes atmosferas, p. 75

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

Aerob.	aerobiose
AM	Atmosfera Modificada
APC	Ágar padrão para contagem (aeróbios)
APPCC	Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle
BPF	Boas Práticas de Fabricação
BHAM	bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas
BHAP	bactérias heterotróficas aeróbias psicrotróficas
CBHAM	contagem de bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas
CBHAP	contagem de bactérias Heterotróficas Aeróbias Psicrotróficas
COMb	Carboximioglobina
CO ₂	Dióxido de Carbono
CODEX	Codex Alimentarium
DT	<i>doubling time</i> (do português: tempo de duplicação)
DTA	Doença Transmitida por Alimentos
EAM	Embalagem em Atmosfera Modificada
et al.	e colaboradores
EVOH	etileno-vinilo álcool
FDA	Food and Drugs Administration
FQ	físico-químico
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento
LANARA	Laboratório Nacional de Referência Animal
min	minuto(s)
Mb	Mioglobina
Microb.	microbiológico
MRE	“Meal Ready to Eat” (do português: refeição pronta para consumo)
N ₂	Nitrogênio
O ₂	Oxigênio
PA	Poliamida
PEAD	Polietileno de alta densidade
PEBD	Polietileno de baixa densidade
PET	Polietileno tereftalato
pH	potencial hidrogeniônico
PP	Polipropileno

PPHO	Procedimentos Padronizados de Higienização Operacional
OS	Poliestireno
PSO	Procedimentos Sanitários Operacionais
PVC	Polivinilcloro
PVDC	Policloreto de vinilideno
RJ	Rio de Janeiro
RTE	“Ready-To-Eat” (do português: pronto para consumo)
TBA	“Tiobarbituric acid” (do português: ácido tiobarbitúrico)
TBARS	“Tiobarbituric acid reactive substances” (do português: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico)
UFC	unidade(s) formadora(s) de colônias
UFF	Universidade Federal Fluminense
WHO	World Health Organization (do português: Organização Mundial de Saúde)
°C	grau(s) Celsius
%	percentual
®	marca registrada
µl	microlitro
λ	lâmbda
μ	mu (leia-se: mi)
A	A assintótico
≈	semelhante a
a_w	atividade de água
atm	atmosfera
g	grama(s)
hs	horas
kg	quilograma
log	logaritmo
LN	logaritmo neperiano
m ²	metro(s) quadrado(s)
mg	miligrama(s)
mL	mililitro(s)
N	Normal
n°	número
ton	tonelada(s)

SUMÁRIO

RESUMO, p. 7

ABSTRACT, p. 8

LISTA DE ILUSTRAÇÕES, p. 9

LISTA DE TABELAS, p. 12

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS, p. 13

1. INTRODUÇÃO, p. 17

2. REVISÃO DE LITERATURA, p. 19

2.1 MÉTODOS DE CONSERVAÇÃO DOS ALIMENTOS E SUA HISTÓRIA, p. 19

2.2 DINÂMICA GLOBAL ATUAL, p. 21

2.3 A CARNE DE FRANGO NO BRASIL E NO MUNDO, p. 23

2.4 MUDANÇA DOS HÁBITOS ALIMENTARES, p. 27

2.5 EMBALAGEM EM ATMOSFERA MODIFICADA, p. 30

2.5.1 Utilização do O₂, p. 32

2.5.2 Utilização do CO₂, p. 38

2.5.3 Utilização do N₂, p. 40

2.6 EMBALAGENS E SEU USO EM ATMOSFERA MODIFICADA, p. 40

2.7 MICROBIOTA DA CARNE DE AVES, p. 48

2.8 VANTAGENS DO USO DA EMBALAGEM EM ATMOSFERA MODIFICADA, p. 54

2.9 INCONVENIENTES DO USO DA EMBALAGEM EM ATMOSFERA MODIFICADA, p. 54

2.10 CARNE DE AVES E A TECNOLOGIA DE EMBALAGEM EM ATMOSFERA MODIFICADA, p. 57

3. MATERIAL e MÉTODOS, p. 59

3.1 MATERIAL, p. 59

3.1.1 Material permanente, p. 59

3.1.2 Material de consumo, p. 60

3.2 MÉTODOS, p. 61

3.2.1 Colheita, transporte e preparo das amostras, p. 61

3.2.2 Amostragem e acondicionamento, p. 62

3.2.3 Concentrações dos gases para cada Tratamento, p. 62

3.3 ANÁLISES BACTERIOLÓGICAS, p. 63

3.3.1 Preparo das diluições, p. 63

- 3.3.2 Procedimentos para Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas e para Psicotróficas, p. 64
- 3.3.3 Contagem e conversão em UFC/g, p. 64
- 3.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS, p. 64
- 3.4.1 Determinação de pH, p. 64
- 3.4.2 Determinação do número de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, p. 65
- 3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA, p. 65

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO, p. 66

- 4.1 CONCENTRAÇÃO DE CO₂ NAS EMBALAGENS, p. 66
- 4.2 CONTAGENS DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS AERÓBIAS MESÓFILAS E DE PSICOTRÓFICAS, p. 66
- 4.3 pH, p. 72
- 4.4 NÚMERO DE SUBSTÂNCIAS REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO, p. 74

5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES, p. 78

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS, p. 80

7. ANEXOS, p. 90

- 7.1 CARACTERÍSTICAS DE BARREIRA E APLICAÇÕES DOS PRINCIPAIS POLÍMEROS USADOS EM EMBALAGENS PARA ALIMENTOS, p. 90
- 7.2 PROPRIEDADE DOS PRINCIPAIS POLÍMEROS UTILIZADOS PARA CONFECÇÃO DE EMBALAGENS USADAS PARA ATMOSFERA MODIFICADA DE CARNÊS BOVINA E DE FRANGO, p. 92

8. APÊNDICES, p. 93

- 8.1 AJUSTES DA FUNÇÃO DE GOMPERTZ SOBRE OS VALORES DE CONTAGEM DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS AERÓBIAS MESÓFILAS (EM LN UFC/G) EM FILÉS DE PEITO DE FRANGO, TEMPERADOS, GRELHADOS, PRONTOS PARA CONSUMO MANTIDOS POR 15 DIAS EM AMBIENTE RESFRIADO (6±2°C) EMBALADOS SOB 6 DIFERENTES ATMOSFERAS: CONTROLE (AEROBIOSE) = AR ATMOSFÉRICO; T1 = VÁCUO; T2 = 20%CO₂/80%N₂; T3 = 40%CO₂/60%N₂; T4 = 60%CO₂/40%N₂; T5 = 80%CO₂/20%N₂, p. 93
- 8.2 CRESCIMENTO DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS AERÓBIAS MESÓFILAS AJUSTADO PELA FUNÇÃO DE GOMPERTZ (EM LN UFC/G) EM FILÉS DE PEITO DE FRANGO, TEMPERADOS, GRELHADOS, PRONTOS PARA CONSUMO MANTIDOS POR 15 DIAS EM AMBIENTE RESFRIADO (6±2°C) EMBALADOS SOB 6 DIFERENTES ATMOSFERAS: CONTROLE (AEROBIOSE) = AR ATMOSFÉRICO; T1 = VÁCUO; T2 = 20%CO₂/80%N₂; T3 = 40%CO₂/60%N₂; T4 = 60%CO₂/40%N₂; T5 = 80%CO₂/20%N₂, p. 96

1. INTRODUÇÃO

O relatório da Assessoria de Gestão Estratégica do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), divulgado em 2012, aponta que, até o final do ano 2021, a carne de frango brasileira apresentará as maiores taxas anuais de crescimento dentre as principais espécies de corte brasileiras avaliadas (bovinos, suínos, frangos) e que, durante todos esses anos, será a mais produzida e a mais exportada em volume no mundo (BRASIL, 2012). Esta perspectiva de crescimento da produção e do consumo de carnes de frango em escala global, traduzido pelo maior nº de exportações, demonstra estar havendo uma ainda maior internacionalização das relações produtivas e comerciais neste segmento.

Com isso, as indústrias de carne de frango no Brasil, principalmente, se veem diante do desafio de enviarem seus produtos para um número cada vez maior de lugares (alguns ainda bem distantes) ao mesmo tempo em que devem assegurar que estes cheguem ao seu destino final com a qualidade com a qual saíram de suas respectivas produções. Devido a isto, muitas empresas utilizam conservantes na composição de seus produtos com o objetivo de estenderem a vida comercial dos mesmos permitindo-os resistirem por mais tempo a alterações sensoriais, físico-químicas e/ou microbiológicas. Contudo, há uma crescente preocupação tanto dos consumidores (MACNAIR, 2011) quanto da comunidade científica (CONTRERAS, 2011) em relação à quantidade - e, certas vezes, à própria utilização - de alguns aditivos conservantes empregados nos alimentos.

Paradoxalmente, produtos chamados “de conveniência”, representados pelos “*fast foods*” e em crescente escala pelos produtos prontos para consumo (em inglês: *ready-to-eat* - RTE) estão sendo cada vez mais consumidos. Estes produtos possuem, em geral, uma quantidade mais elevada de aditivos conservantes em suas composições - tal como o sódio e açúcares (WHO, 2006) - com o intuito, esclarecido, de promoverem maior sabor ao produto (e, portanto, maior aceitação no mercado). O aumento do consumo deste tipo de produto está evoluindo cada vez mais rápido devido à dinâmica mundial moderna que imprime uma pressão às pessoas pelo uso do tempo e as leva a hábitos mais práticos e rápidos (e, por vezes, insalubres) de consumo, principalmente no que tange às suas refeições.

Nesta linha de pensamento, técnicas de conservação dos alimentos têm sido revisadas e novas descobertas de forma a estenderem ainda mais a validade

comercial dos últimos mantendo a qualidade original do produto sem a necessidade, ou com uma maior redução, da utilização de substâncias conservantes para tal. Neste contexto, insere-se a tecnologia EAM - Embalagem em Atmosfera Modificada. (PARAMITHIOTIS, et al.2009).

Em uma tentativa de atendimento desta demanda atual do mercado por produtos RTE (prontos para consumo – do inglês “*Ready-To-Eat*”), principalmente, os a base de frango, com menor ou nenhuma quantidade de substâncias conservantes e aditivos, além de maior validade comercial sem prejuízo às suas características de qualidade, esta pesquisa tem por objetivo geral verificar quais as possíveis alterações bacteriológicas e físico-químicas ocorrem em filés de peito de frango, temperados, grelhados prontos para o consumo, embalados sob diferentes atmosferas modificadas, associado à sua conservação em ambiente resfriado controlado com temperatura de $6\pm 2^{\circ}\text{C}$.

Mais especificamente, esta pesquisa focou, nestes produtos analisados, em monitorar as contagens de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e psicrotróficas, durante período de 15 dias, avaliando qual concentração de CO_2 exerceu maior influência para observação de menores contagens microbiológicas dos produtos avaliados; além de verificar as alterações de pH e das taxas de oxidação lipídica (através avaliação do n° de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico) sofridas pelos produtos analisados embalados em distintas atmosferas: Aerobiose (Controle), Vácuo (T1); e sob Atmosfera Modificada (AM) com quatro distintas misturas de gases: 20% de CO_2 e 80% N_2 (T2); AM com 40% de CO_2 e 60% N_2 (T3); AM com 60% de CO_2 e 40% N_2 (T4); AM com 80% de CO_2 e 20% N_2 (T5).

2. REVISÃO DE LITERATURA

Esta revisão abordará aspectos relativos à evolução dos processos de conservação de alimentos até o advento da tecnologia de Embalagem em Atmosfera Modificada (EAM), baseando-a nas mudanças dos hábitos de consumo da população mundial moderna, no foco dos produtores de alimentos em atingirem mais exigentes e distantes mercados consumidores, no crescente aumento da demanda global por produtos a base de carnes de aves e nas particularidades técnicas da EAM, necessárias para eficácia da mesma em cada tipo de alimento submetido a esta tecnologia de conservação.

2.1 MÉTODOS DE CONSERVAÇÃO DOS ALIMENTOS E SUA HISTÓRIA

Pode-se dizer que os métodos de conservação de alimentos acompanharam a evolução histórica do homem (PERLÈS, 1998).

Desde eras pré-históricas, o homem primitivo, ainda nômade, percebeu que ao secar alimentos ao sol em dias mais quentes ou defumá-los no fogo (então já dominado), os mesmos acabavam por durarem por mais tempo sem estragarem. Com este mesmo intuito, em regiões mais frias (já durante a era glacial) ele percebeu que poderia estocar no gelo e nas partes mais escuras e frias de suas cavernas a carne obtida de sua caça (NUMMER, 2002).

Estas técnicas rudimentares de conservação já apontavam a atividade de água do alimento; reduzida tanto com a secagem quanto com o congelamento do alimento; e a temperatura como fatores intrínsecos à conservação dos alimentos.

Isto lhe permitiu estocar as sobras dos últimos, obtidas em tempos de fartura, de forma a possuírem provisões para períodos de escassez. A partir de então, o homem não necessitaria mais estar consumindo somente alimentos frescos recém-colhidos da natureza ou caçados e poderia se estabelecer em um mesmo local por um maior período de tempo. Para Nummer (2002), esta foi a base para a convivência em comunidade.

Juntamente com esta convivência, houve um desafio de manutenção dos recursos obtidos. O homem já havia começado a domesticar os animais já possuindo rebanhos (principalmente de caprinos), contudo ainda não havia dominado as técnicas de cultivo da terra. O consumo desregrado dos provimentos

acabava por esgotar os estoques nos locais onde as comunidades estavam instaladas. Isto ainda lhes forçava a se deslocarem para locais com maior abundância destas provisões.

Segundo Perlès (1998), principalmente após o período glacial (por volta de 8.000 a.C), houve um aumento da temperatura global e uma mudança alguns hábitos do homem¹. Homens e animais passam a se reunir em torno a lagos e rios e também a migrarem para o litoral em busca de alimento pelo fato destas áreas possuírem maior oferta de recursos naturais. Durante a permanência nestes sítios, o homem observou abundância de árvores frutíferas e que as sementes destas que porventura caíssem neste solo fértil acabavam por germinar e gerar novos indivíduos. Utilizando-se desta simples observação, no intuito de atender à demanda por alimentos tanto sua quanto de seus descendentes, acabou, inventivamente, por desenvolver maiores conhecimentos e habilidades de agricultura e criação de animais de tração e para abate; principalmente caprinos, ovinos, suínos e bovinos (FLANDRIN; MONTANARI, 1998).

Sendo assim, o caçador nômade, converteu-se em pastor de rebanhos e, por fim, em agricultor e pecuarista sedentário, cultivando cereais para si e forragem para seu rebanho. O desenvolvimento da agricultura marcou o início real da civilização.

O homem passou, então, a diversificar a sua dieta até então basicamente composta por raízes, frutas, cereais e vegetais coletados e a carne da caça e da pesca. Novos alimentos e sabores foram sendo descobertos e introduzidos nos hábitos alimentares das aldeias (tais como laticínios, moluscos, pássaros, caracóis, e cobras). O alimento passava a ser encarado como reconhecimento de um laço social e como característica cultural de uma civilização (FLANDRIN; MONTANARI, 1998).

Com a evolução do homem, foram feitas descobertas de novos sabores (condimentos/especiarias) e também de novos métodos de acondicionamento e formulação capazes de estender a validade dos produtos alimentícios, tais como: a imersão em banha, a salga, a cura, a fermentação, a utilização de vinagre, azeite,

¹ O fim da era glacial provocou degelos; com estes, houve a formação de rios e lagos e a fertilização da terra em suas margens. Este novo cenário permitiu um adensamento da vegetação e o desaparecimento das grandes manadas de herbívoros, que até então dominavam o cenário gélido, dando lugar aos animais de médio e pequeno porte (tal como veados, renas, javalis, lebres e coelhos) mudando os hábitos de caça do homem primitivo.

açúcar e do mel (FLANDRIN; MONTANARI, 1998; NUMMER, 2002). Contudo, este aprimoramento teve sua explosão principalmente após a 1ª. Revolução Industrial (com início na Europa por volta do ano 1750 – segunda metade do século XVIII) quando a agricultura começou a perder espaço nos centros urbanos para as grandes fábricas: o início da industrialização. Isso promoveu um maior distanciamento entre campo e cidade o que se traduziu em grandes perdas econômicas de produtores durante o transporte de seus produtos frescos, enviados para abastecerem a força de trabalho nos centros urbanos (CARNEIRO, 2003). Os vegetais e outros alimentos frescos cederam espaço no comércio e na mesa dos consumidores a produtos que poderiam ser transportados com maior facilidade e que apodreceriam mais tardiamente. Com isso, começou a haver um aumento da demanda e da produção de produtos industrializados.

Esta necessidade de minimizar as perdas na produção e o desejo de cobrir cada vez maiores distâncias alcançando novos territórios e potenciais mercados de atuação ainda persistem até os dias atuais como objetivos do produtor moderno. O reflexo disso está na transnacionalização das relações comerciais de alimentos modernas e também na evolução da tecnologia de conservação destes produtos. Técnicas tais como a criação dos enlatados, a apertização, a tinalização, a refrigeração mecânica e a pasteurização foram descobertas a partir do início do século XIX e aprimoradas com o passar dos anos.

Outras tecnologias foram descobertas mais recentemente tais como a Embalagem em Atmosfera Modificada (EAM) – ao final do século XIX - e a Irradiação de alimentos – em meados do século XX. Contudo, apesar de sua utilização já ser uma realidade em muitas indústrias, ambas ainda estão em fase de estudos para maior obtenção de conhecimentos que assegurem não só sua maior difusão perante os produtores, como também seu constante aprimoramento.

2.2 DINÂMICA GLOBAL ATUAL

Com a cada vez maior transnacionalização das relações produtivas e comerciais (BRASIL, 2012), o produtor e a indústria de alimentos modernos se vêem diante do desafio de enviar seus produtos para lugares cada vez mais distantes. Devido a todos os procedimentos que o produto deve percorrer (tanto de processos produtivos quanto administrativos e de logística) até chegar efetivamente no

consumidor final, muitas vezes este acaba por chegar ao seu destino próximo ao fim prazo de validade e/ou já com sinais característicos de alterações físico-químicas e até mesmo microbiológicas. Isto, além de ser prejudicial para o consumidor², também o é para o produtor que, além do prejuízo financeiro, vê sua marca abalada; mesmo tendo produzido um produto dentro das especificações de qualidade e cumprindo todas as normas sanitárias exigidas pela legislação e regulamento técnico que o aborda.

Isto fez com que o produtor de alimentos moderno buscasse investir mais em alternativas viáveis voltadas a assegurar que seus produtos tenham sua vida útil estendida e que cheguem ao seu destino final com a qualidade com qual saíram de suas respectivas linhas de produção (CHIAVARO, et al., 2008). A utilização de aditivos químicos conservantes tem sido uma destas alternativas desde a época do Antigo Egito, quando já se utilizava a salga como método de conservação. Estes possuem por funções básicas aumentar o prazo de validade dos produtos³ e manter, melhorar (MILLS, 2011) ou até mesmo mascarar (SHEARS, 2010) suas características sensoriais. Dentre os mais utilizados estão o ácido ascórbico, o açúcar, o vinagre, nitrato e nitrito e o próprio Cloreto de Sódio (sal comum).

Contudo, embora haja um limite técnico legal para a utilização destes aditivos relacionada a cada tipo de produto ao qual foram adicionados (BRASIL, 1965; BRASIL, 1998; CODEX, 1995), Macnair (2011) e Contreras (2011) relatam, respectivamente, uma crescente preocupação dos consumidores e da comunidade científica quanto à forma e intensidade de utilização de alguns destes conservantes nos alimentos. Esta preocupação é justificada tendo em vista que alguns destes, comprovadamente, provocam prejuízos à saúde do consumidor caso ingeridos em excesso (WINGER et al., 2012; CIARDI, et al., 2012) – ou, ainda, caso o último possua alguma hipersensibilidade ao composto químico do aditivo utilizado (DAVIDSON, et al, 2005; MINICH, 2009). Ainda existem outros que também são utilizados, contudo ainda não estão totalmente elucidados quanto às suas interações

² O prejuízo ao consumidor pode vir traduzido sob a forma dele se sentir lesado por obter um produto já próximo ao fim do seu prazo de validade e, além disso, pode ter sua saúde afetada ao consumir estes produtos, caso já apresentem alguma alteração (mesmo que imperceptível – como no caso de uma contaminação por uma bactéria patogênica).

³ Cada tipo de conservante empregado interage com a matriz através de processos químicos inerentes e específicos. Geralmente estas reações se dão por redução do potencial de oxiredução do alimento, baixando seu pH e tendo um efeito antioxidante e, portanto, bacteriostático (no que tange a bactérias putrefativas aeróbias).

(e principalmente as de seus excessos e de seus efeitos residuais, caso existam) no organismo de quem os consome.

2.3 A CARNE DE FRANGO NO BRASIL E NO MUNDO

O maior consumo de carnes de frango em relação às carnes vermelhas, tanto no Brasil quanto em uma escala global, se deu principalmente devido ao seu menor custo de aquisição (menor preço de mercado) – portanto indiretamente relacionado à renda da população -, à maior variedade (e oferta) de produtos originados a partir desta matriz e às preocupações dos consumidores quanto a estarem ingerindo um alimento nutritivo e, no entendimento da população em geral, mais saudável do que as carnes vermelhas.

O Brasil, desde 1999, é o terceiro maior produtor (perdendo apenas para os EUA, em primeiro, e para a China) e o maior exportador do mundo, em volume, de carne de frango.

Segundo UBABEF (2013), o setor exportador de carne de frango no Brasil tem sido impactado, desde 2010 pela retração da economia mundial devido à crise financeira internacional, com a redução de preços e de encomendas de países importadores importantes. Além disso, altas em 2011 e 2012 nos preços do milho e da soja⁴ acabaram por encarecer ainda mais o produto em escala global.

Apesar das quedas registradas nos anos de 2010 e 2011 - que acabaram por diminuir a participação brasileira no mercado global de carnes de frango em 2012, o Brasil mantém o *status* de maior exportador de carne de frango mundial em volume. A UBABEF (União Brasileira de Avicultura) estima que em 2013 – dados ainda não divulgados - ainda haja reflexos da crise mundial sobre o setor, mas que, ainda assim, é esperado um crescimento de 3% tanto na produção quanto na exportação de carne de frango para este mesmo ano.

Já de acordo com o Relatório da Assessoria de Gestão Estratégica do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2012) observa-se que há uma estimativa mais otimista de crescimento da produção de carne de frango até

⁴ Principais insumos para a fabricação de rações para aves. Sendo assim, a variação de seus valores de mercado acaba por afetar também os preços, e, portanto, o consumo da carne de frango.

2021 de 4,2% ao ano (aproximadamente o dobro do esperado para todas as séries avaliadas: carnes bovina, suína e de frango) – Tabela 1 e Figura 1.

Tabela 1 – Estimativa para a produção de carnes (mil ton) no Brasil até 2021 (BRASIL, 2012).

Ano	CARNES PRODUÇÃO (mil toneladas)								
	Bovina			Suína			Frango		
	Projeção	inf.	Lsup.	Projeção	inf.	Lsup.	Projeção	inf.	Lsup.
2011/12	8.947	8.076	9.818	3.334	2.970	3.699	13.028	12.439	13.617
2012/13	9.973	8.742	11.205	3.405	2.890	3.920	14.315	13.726	14.904
2013/14	10.523	9.015	12.032	3.490	2.859	4.121	15.043	14.210	15.876
2014/15	10.714	8.972	12.455	3.573	2.898	4.247	15.031	14.010	16.052
2015/16	11.202	9.254	13.149	3.644	2.929	4.360	16.322	15.143	17.501
2016/17	11.338	9.349	13.326	3.711	2.957	4.465	17.046	15.728	18.364
2017/18	11.143	9.114	13.172	3.778	2.973	4.583	17.038	15.270	18.806
2018/19	11.203	9.135	13.272	3.850	2.997	4.703	18.325	16.461	20.189
2019/20	11.457	9.350	13.565	3.923	3.024	4.821	19.053	16.848	21.258
2020/21	11.551	9.405	13.697	3.995	3.058	4.932	19.041	16.541	21.541
2021/22	11.834	9.591	14.078	4.067	3.092	5.041	20.332	17.568	23.096

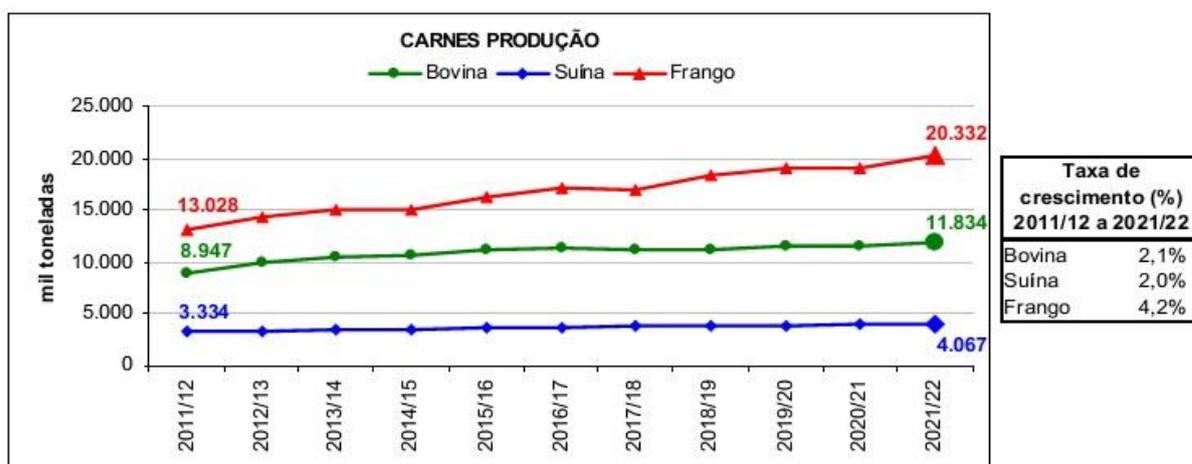


Figura 1 – Estimativa para a produção de carnes (mil ton) no Brasil até 2021 (BRASIL, 2012).

Neste mesmo relatório, aponta-se um crescimento anual de até 2,7% no consumo (Tabela 2 e Figura 2) e de 3% na exportação (Tabela 3 e Figura 3) da carne de frango brasileira. Este crescimento deverá ser obtido através de: concretizações de aberturas de novos mercados⁵, da maior qualificação das exportações, da maior participação em importantes feiras e *workshops* internacionais de alimentos - estreitando-se laços produtivos e comerciais (UBABEF, 2013), da menor valorização da carne de frango frente às matrizes substitutas

⁵ Só em 2013, espera-se a conclusão do processo de abertura de mercado com a Índia e de abertura de novos países tais como Nigéria e Argélia - na África, e Indonésia, Malásia e Camboja - na Ásia.

(bovina e suína) e da expectativa de melhoria da colheita da safra mundial de grãos. Inclusive, estima-se também um aumento, embora menos expressivo, na demanda do mercado interno proveniente da expansão do poder de consumo por parte das classes C e D emergentes.

Tabela 2 - Estimativa para o consumo de carnes (mil ton) no Brasil até 2021 (BRASIL, 2012).

Ano	Bovina			Suína			Frango		
	Projeção	linf.	Lsup.	Projeção	linf.	Lsup.	Projeção	linf.	Lsup.
2011/12	7.423	6.742	8.103	2.791	2.444	3.139	9.726	9.123	10.329
2012/13	8.113	7.151	9.075	2.808	2.317	3.300	9.972	9.246	10.698
2013/14	8.386	7.320	9.453	2.870	2.268	3.472	10.553	9.417	11.690
2014/15	8.306	7.145	9.467	2.929	2.293	3.564	10.690	9.412	11.969
2015/16	8.534	7.258	9.811	2.998	2.330	3.665	11.198	9.577	12.819
2016/17	8.751	7.452	10.050	3.048	2.350	3.746	11.286	9.532	13.039
2017/18	8.687	7.370	10.005	3.100	2.354	3.846	11.760	9.716	13.805
2018/19	8.804	7.426	10.183	3.147	2.356	3.938	11.826	9.663	13.988
2019/20	9.163	7.723	10.603	3.202	2.369	4.036	12.285	9.870	14.701
2020/21	9.332	7.856	10.807	3.257	2.390	4.124	12.341	9.819	14.862
2021/22	9.427	7.887	10.968	3.313	2.414	4.213	12.794	10.048	15.540

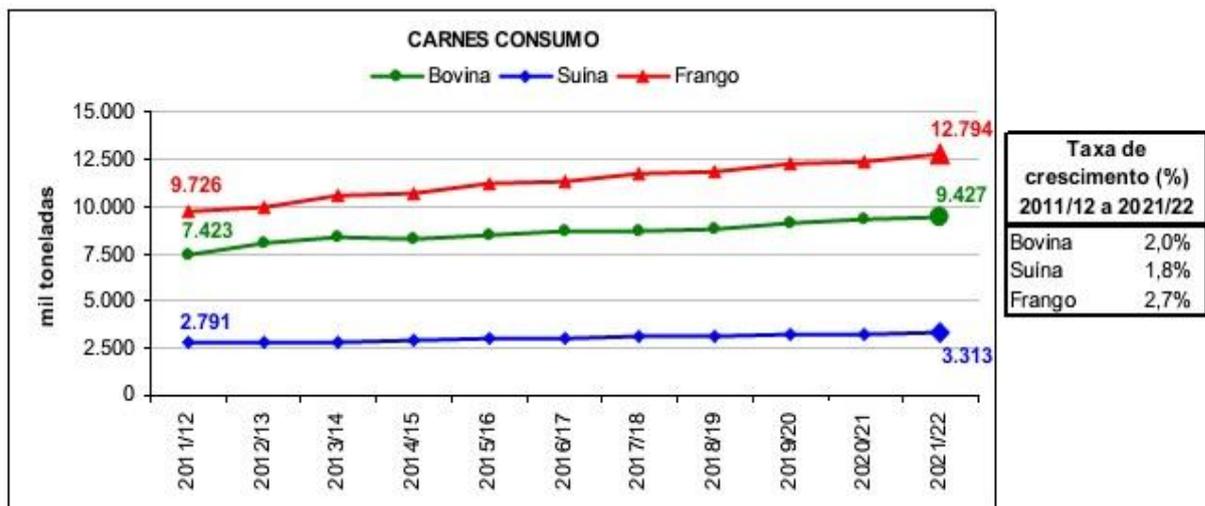


Figura 2 - Estimativa para o consumo de carnes (mil ton) no Brasil até 2021 (BRASIL, 2012).

O Brasil é um dos maiores produtores mundial de proteína animal do mundo e tem no mercado interno seu principal destino. A produção brasileira de carnes (bovina, suína e de aves) em 2012 foi estimada em, aproximadamente, 26 milhões de toneladas. Cerca de 75% dessa produção é consumida internamente no país. Segundo dados do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, o consumo per capita de carnes no Brasil tem aumentado ao longo dos anos, chegando a 14,8 kg de carne suína, 36 kg para carne bovina e 47,1 kg de carne de aves.

Tabela 3 - Estimativa para a exportação brasileira de carnes (mil ton) até 2021 (BRASIL, 2012).

Ano	Bovina			Suína			Frango		
	Projeção	linf.	Lsup.	Projeção	linf.	Lsup.	Projeção	linf.	Lsup.
2011/12	1.344	1.033	1.656	532	427	638	4.191	3.826	4.556
2012/13	1.330	782	1.878	541	392	690	4.332	3.919	4.746
2013/14	1.344	593	2.095	546	340	751	4.514	3.889	5.139
2014/15	1.370	444	2.295	558	309	808	4.661	3.925	5.397
2015/16	1.401	323	2.480	570	277	863	4.809	3.830	5.789
2016/17	1.435	220	2.650	584	253	914	4.956	3.845	6.067
2017/18	1.470	132	2.809	597	231	964	5.107	3.742	6.472
2018/19	1.506	54	2.958	612	213	1.011	5.242	3.722	6.763
2019/20	1.541		3.099	626	196	1.056	5.387	3.608	7.165
2020/21	1.577		3.234	641	182	1.099	5.519	3.571	7.467
2021/22	1.613		3.363	655	170	1.140	5.658	3.448	7.868

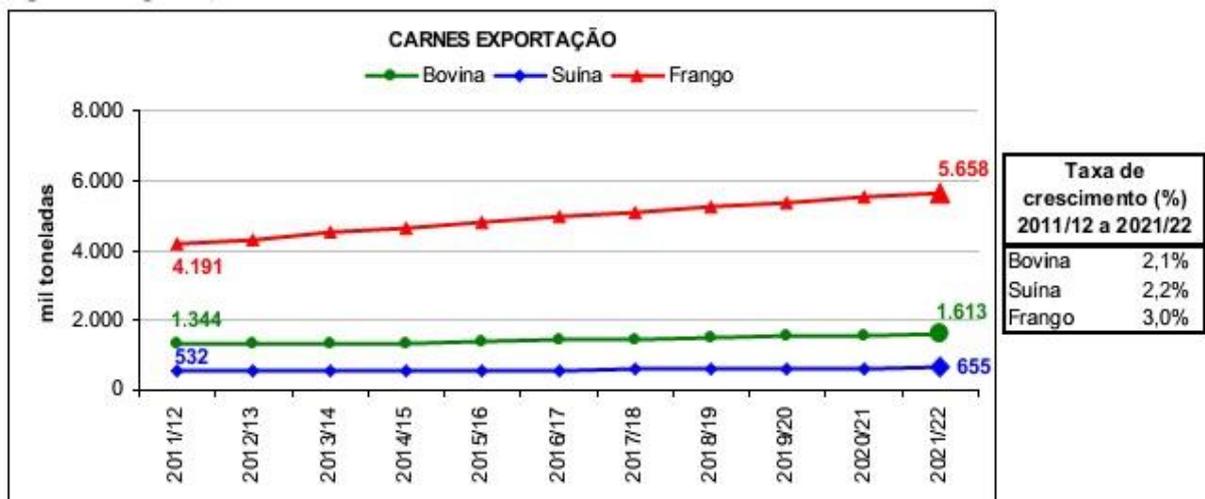


Figura 3 – Estimativa para a exportação brasileira de carnes (mil ton) até 2021 (BRASIL, 2012).

Segundo Bonamigo et al. (2013), há uma substituição pelas classes menos favorecidas – C e D - da preferência nas intenções de consumo de carne bovina pela de frango devido ao menor preço da segunda com relação à primeira. Na pesquisa por eles relatada, os principais atributos determinantes para a intenção de compra de carne de frango são respectivamente: validade (74,2%); preço (73,4%); cor (62,8%); e odor (49,4%).

Esta nova intenção de consumo modifica também as relações de demanda de mercado e conseqüentemente influencia o aumento da produção brasileira e do comércio de carne de frango e derivados.

2.4 MUDANÇA DOS HÁBITOS ALIMENTARES

A dinâmica mundial moderna imprime uma pressão às pessoas pela utilização mais eficiente do tempo. O estresse habitual encontrado em grande parte da população, principalmente a das grandes cidades, acaba por fazer com que alguns sacrifícios, principalmente aqueles quanto ao tempo disponível para preparo e consumo das refeições, sejam praticados de maneira corriqueira (HUGHES, 2004; AC NIELSEN, 2006; COSTA et al., 2007). Estes hábitos, de uma maneira geral, vêm traduzidos sob um aumento da alimentação composta por produtos/refeições prontos para o consumo, de fácil transporte e de “*fast foods*” (GEEROMS et al., 2008; SOFOS, 2008; BUCKLEY, et al., 2007 *apud* SANTOS; OLIVEIRA, 2012).

Este novo hábito de consumo também foi incentivado pelo aumento da participação feminina no mercado de trabalho (BOWERS, 2000), por um maior número de indivíduos morando sozinhos, pela praticidade e comodidade que oferecem às famílias que optam por consumir estes produtos como substitutos de suas refeições caseiras (GEEROMS et al., 2008) e pelo avanço da oferta de produtos e serviços pela internet (inclusive os de alimentação).

Segundo relatório da AC Nielsen (2006)⁶, empresa especializada em pesquisas de mercado, 20% da população mundial que realiza compras pela internet, fazem, frequentemente, compras de produtos pronto para o consumo, chamados “*ready-to-eat*” (RTEs), enquanto que outros 45% o fazem de maneira “ocasional”. Contudo, uma média de 44% de toda RTE consumida no mundo é adquirida em supermercados e outros 22% em mercearias.

Produto pronto para o consumo, por definição, é aquele que não necessita passar por qualquer tipo de processamento ou adição de outro ingrediente para ser consumido (BRASIL, 2005; FDA, 2009). O processamento (térmico, por exemplo) deste tipo de produto pode ser sugerido ao consumidor por alguns produtores apenas para fins de maior palatabilidade do alimento ingerido⁷. Devido exatamente a esta menor possibilidade de eliminação de qualquer eventual patógeno que tenha,

⁶ Embora existam relatórios mais recentes de pesquisas de mercado para este segmento, não se teve acesso aos mesmos pelo fato de não estarem abertos para consulta do público.

⁷ Quando não há restrições quanto à segurança do alimento, não são necessárias quaisquer determinações de tempo ou temperatura específicos de processamento, ficando a critério do consumidor fazê-lo ou não e determinar o seu tempo de duração.

porventura, contaminado o produto entre os processos de acabamento e embalagem, ainda na linha de produção, e nem a garantia de que não houve a proliferação destes mesmos durante o seu acondicionamento⁸ é que há uma grande preocupação quanto à segurança deste tipo de alimento (HWANG; HWANG, 2010; LUBER et al., 2011; LAMBERTZ et al., 2012).

Anteriormente, o conceito de RTE era apenas utilizado para ração humana de soldados do exército, para alguns enlatados e para especificar alguns produtos vegetais lavados e embalados. Posteriormente, este termo passou a ser utilizado também para iogurtes e cereais (os mais consumidos até hoje), para bebidas, algumas saladas, sanduíches, para os chamados “*snacks*” - representados por porções pequenas biscoitos à base de trigo, milho ou batata, amendoins, e outros produtos secos embalados prontos para o consumo - e, finalmente, para produtos industrializados RTE a base de carne, que são focados neste experimento.

Em geral, estes produtos, além de substâncias tais como corantes e xarope de milho com altas concentrações de frutose, relacionadas a casos de obesidade e diabetes, possuem, em sua composição, aditivos flavorizantes⁹ e conservantes (principalmente, o sódio). Os últimos são adicionados à composição com a finalidade de manterem, melhorarem ou até mesmo mascararem as características sensoriais e microbiológicas originais do produto acabado (LUCK; JAGER, 1997; BRUL; COOTE, 1999). Contudo, por estarem prontos para o consumo, alguns RTEs possuem condições suscetíveis¹⁰ ao desenvolvimento bacteriano mais acelerado. Devido a isso, muitos produtores se utilizam de uma maior concentração de aditivos conservantes e de flavorizantes na composição de seus produtos.

⁸ O controle das condições de umidade, luminosidade e temperatura de armazenamento e exposição é um fator que interfere diretamente sobre a qualidade do produto. Quando feito de forma inapropriada, oferece condições para crescimento e desenvolvimento de microrganismos residentes (e invasores oportunistas) e esporos que, eventualmente, possam estar presentes no produto em questão e que não tenham sido eliminados durante o processamento do mesmo.

⁹ Flavorizantes: aditivos alimentares que promovem o “*flavor*.” aroma + sabor – aumentam a aceitação de mercado. Algumas empresas empregam uma maior quantidade de flavorizantes em seus produtos RTE para mascarar a maior acidez dos mesmos ocasionada pela queda de pH provocada pela ação dos conservantes (principalmente quando em concentrações mais elevadas).

¹⁰ Condições suscetíveis para o crescimento bacteriano incluem, dentre outras características, água livre e concentração protéica da matriz e condições microbiológicas do produto acabado pós-produção do mesmo. Para esta condição se tornar ótima é necessário que produto seja submetido a uma temperatura inadequada de acondicionamento.

Alguns aditivos empregados ainda não estão totalmente esclarecidos quanto aos seus efeitos adversos e residuais sua pós-ingestão excessiva ou contínua. Por serem ingeridos há décadas pela população mundial¹¹, já começaram a serem observados alguns distúrbios que possam estar associados aos efeitos destes aditivos. Estas observações foram suficientes para mobilizar a comunidade médica-científica de forma a alertar para os malefícios à saúde (CDC, 2012); tanto os comprovados quanto os ainda em estudo; ocasionados pela ingestão desregrada e corriqueira destas substâncias e, por consequência, dos produtos que as apresentam em sua composição em maior quantidade - caso de RTEs, embutidos cozidos, *fast foods*, dentre outros.

Com isso, começou a haver uma maior conscientização dos consumidores de uma forma geral, com relação a este tema (IFIC, 2010 *apud* SLOAN, 2011). Isto fez com que houvesse um aumento da demanda por alimentos frescos ou minimamente processados, com menor (ou nenhuma) concentração de conservantes ou pesticidas (CARNEIRO et al., 2012), seguros e com validade estendida (BERNABÉU; TENDERO, 2005; PARAMITHIOTIS et al., 2009). A associação deste desejo de consumir um alimento seguro, mais saudável, econômico e de melhor qualidade (YAN et al., 2005) com a necessidade de maior praticidade e menor gasto de tempo para consumi-lo, criou uma nova demanda de mercado (CHURCH, 1994; SOFOS, 2008; SANTOS; OLIVEIRA, 2012).

O novo desafio de atender a esta nova demanda e criar uma alternativa à utilização de conservantes fez com que a indústria de alimentos novamente começasse a investir em pesquisas de modo a tentar diminuir o emprego destas substâncias na composição de seus produtos sem prejuízos à qualidade e inocuidade (segurança) dos mesmos e sem encarecerem suas produções (SOFOS, 2008) mantendo; ou ainda melhorando; seu diferencial competitivo.

Para a área de alimentos vegetais, isto se traduziu no avanço não só no aumento da demanda por produtos orgânicos como também no aumento das pesquisas, assim como da utilização, de sementes transgênicas (SILVA; COSTA, 2012). Estas sementes são OGMs (Organismos Geneticamente Modificados) que geram indivíduos – transgênicos - mais resistentes a pragas (JAMES, 2011). Apesar

¹¹ A partir de 2ª Guerra Mundial houve uma explosão (“boom”) de consumo dos produtos “de conveniência”, orquestrada pelo mercado consumidor e também pelo produtor norte-americano (MANO et al., 1999).

das pesquisas, não existem evidências científicas de que a ingestão ou o cultivo de alimentos transgênicos seja perigoso para a saúde ou para o meio ambiente. Contudo, sua utilização ainda gera muito questionamento por partes dos consumidores e da comunidade científica.

Já para os de origem animal, as indústrias têm investido continuamente em pesquisa de novos e modernos tipos de tecnologias voltadas para melhor conservação e aumento da vida útil de seus produtos. Um exemplo deste investimento em novas tecnologias é a utilização de irradiação (MANTILLA et al., 2009b) ou, ainda, de pressão hidrostática para aumento da garantia de esterilização de um alimento. Contudo, as pesquisas voltadas para a tecnologia de embalagem que envolve estes produtos (MCMILLIN, 2008) foram as que, até então, se mostraram como alternativas mais economicamente viáveis para serem aplicadas em escala industrial, além de mais aceitas pelo mercado - tal qual a tecnologia de Embalagem em Atmosfera Modificada (EAM), que permite estender o prazo de vida comercial destes alimentos sem a adição de conservantes, mantendo suas características sensoriais, físico-químicas, microbiológicas e nutricionais (CHIAVARO et al., 2008). É para produtos que são confeccionados a partir da utilização desta tecnologia de EAM que este trabalho está voltado.

2.5 EMBALAGEM EM ATMOSFERA MODIFICADA

A Embalagem em Atmosfera Modificada (EAM) é uma tecnologia que foi descoberta acidentalmente no final do século XIX (RANGEL, 2009) e estudada ao longo do século XX, contudo somente sendo aplicada comercialmente por uma empresa francesa em 1974 e que desde esta data vem sendo aprimorada e aplicada em uma cada vez maior variedade de produtos alimentícios (CHURCH, 1994).

Esta tecnologia se utiliza de uma modificação ativa da atmosfera dentro da embalagem do produto (mais efetivamente, através da técnica de vácuo compensado¹²) inserindo uma mistura de gases estéreis tal como o oxigênio (O₂), o dióxido de carbono (CO₂) e o nitrogênio (N₂). Estes gases devem estar em concentrações pré-determinadas e específicas para cada tipo e massa de alimento

¹² *Vácuo compensado* é uma técnica em que se faz a retirada de todo o ar presente na embalagem, para então se injetar o gás (ou mistura de gases) até atingir a concentração desejada dentro da mesma; sendo, após isto, selada termicamente.

analisado permanecendo em contato com o último no intuito de preservá-lo por mais tempo (maior vida útil) diminuindo o metabolismo de microrganismos e, portanto, o seu desenvolvimento, e evitando a deterioração do alimento (CHURCH, 1995; JEREMIAH, 2001; MANO et al., 2002; JAYAS; JEYAMKONDAN, 2002; FLOROS; MATSOS, 2005; MANTILLA, 2010; ARVANITOYANNIS; STRATAKOS, 2012).

Também podem ser utilizados outros gases tais como argônio (mais usado em EAM para frutos e vegetais) – possui função similar ao N_2 , o monóxido de carbono (para carnes vermelhas), o ozônio, dentre outros – dependendo do tipo de produto e do parâmetro que se quer preservar ou melhorar (PARRY, 1993; SANTOS; OLIVEIRA, 2012). Contudo, a aplicação destes gases ainda está em fase experimental.

A modificação da atmosfera dentro da embalagem pode ser obtida também passivamente por meio da própria respiração (se houver) do produto embalado, da difusão e solubilidade dos gases utilizados e da permeabilidade da embalagem a estes gases e ao ar atmosférico (CHURCH, 1994). Carnes não respiram; diferentemente dos vegetais (SIEGEL, 2001 *apud* MCMILLIN, 2008), que continuam realizando as trocas gasosas mesmo depois de colhidos.

Em ambos os tipos de modificação (ativa ou passiva) da atmosfera circundante ao alimento, uma vez que a mesma se estabeleça dentro da embalagem e a última seja hermeticamente selada, esta atmosfera é mantida por um equilíbrio dinâmico entre respiração do alimento, a solubilidade do gás no último e a permeabilidade do filme da embalagem ao O_2 e ao vapor-d'água (AZEREDO et al., 2000). O tempo em que se dará este equilíbrio está diretamente relacionado ao volume de espaço livre entre a embalagem e o produto e à massa da matriz embalada (EMBRAPA, 2003); e inversamente relacionado à solubilidade dos gases à matriz e também à permeabilidade da embalagem aos gases e ao vapor-d'água – como será visto mais a frente neste trabalho.

O emprego da tecnologia de EAM está associado a fatores como: o tipo/natureza do alimento embalado (e sua taxa de respiração); a qualidade pós-produção¹³ do produto acabado; as concentrações dos gases utilizados na mistura empregada na EAM; as propriedades de barreira e resistência mecânica do filme

¹³ A Qualidade pós-produção (ou, original) do produto acabado se refere às condições sensoriais, físico-químicas e microbiológicas do último e que estão diretamente relacionadas às condições higiênico-sanitárias e de controle de qualidade a que fora submetido durante seu processamento.

plástico¹⁴ da embalagem utilizada; e se esta tecnologia está ou não associada a outras técnicas de conservação, tal qual a utilização de aditivos conservantes (em menor quantidade) ou, ainda, o armazenamento em ambiente refrigerado controlado aliado à manutenção da cadeia de frio até a mesa do consumidor (SANTOS; OLIVEIRA, 2012) – principalmente quando se trata de produtos frescos embalados (PARRY, 1993; SIVERTSVIK et al., 2002).

Esta interação entre estes fatores determina a eficácia da aplicação da tecnologia de EAM e se dá pelo fato do alimento minimamente processado¹⁵, submetido a esta tecnologia ser perecível e não estéril (SANTOS; OLIVEIRA, 2010). Sendo assim, ele possui uma flora microbiana¹⁶ residente em suas fibras e superfície que pode vir a se desenvolver quando em condições ótimas para tal; acabando por alterar condições físico-químicas, microbiológicas e/ou sensoriais do produto e, acabando por influir negativamente no seu prazo de validade.

Segundo Parry (1993), o tempo de vida comercial dos produtos em refrigeração embalados em EAM pode ser até quatro vezes maior do que o dos em refrigeração embalados sob atmosfera aeróbia (com filme permeável e sem vácuo). E ainda, experimentos como o de Jiménez et al (1997), que aponta um aumento da validade de filé de peito de frango resfriado em EAM de 5 (em ar atmosférico) para 21 dias, corroboram para o entendimento da atuação da atmosfera modificada na extensão da vida útil deste produto.

2.5.1 Utilização do O₂

Gás necessário em Embalagem em Atmosfera Modificada (EAM) para possibilitar a respiração dos alimentos e manutenção das características de frescor dos mesmos – principalmente de frutos e vegetais, que continuam realizando trocas gasosas mesmo após terem sido colhidos (MANTILLA, 2010).

¹⁴ O filme plástico para a confecção das embalagens primárias dos produtos acabados (ou da matriz analisada) pode ser constituído por diversos tipos de materiais distintos; cada um com a sua respectiva espessura e permeabilidade aos gases atmosféricos.

¹⁵ Produtos minimamente processados não devem ser manipulados após terem saído da indústria – isto é, em seus centros de distribuição e/ou mercados.

¹⁶ A flora microbiana de um produto acabado é tão maior quanto o descumprimento dos padrões de Qualidade referentes à melhoria e/ou manutenção dos procedimentos higiênico-sanitários operacionais na linha de produção - principalmente, BPF, APPCC, PPHO e PSO.

Segundo Santos e Oliveira (2012), o fato da maioria das reações provocadas pela ação do O₂ sobre o alimento possuir caráter negativo quanto à manutenção das características físico-químicas (através, por exemplo, da oxidação de lipídios), sensoriais (efeito-vácuo¹⁷) e ainda microbiológicas do mesmo (provendo condições aeróbias dentro da embalagem que favorecem o crescimento de microrganismos aeróbios putrefativos) faz com que se evite a utilização deste gás em EAM para alguns tipos de produtos ou, ainda, sendo este utilizado em menores concentrações.

A tecnologia de embalagem de produtos a vácuo consiste na retirada do ar de dentro da embalagem do produto minimizando, desta forma, a concentração de O₂ presente no interior da mesma. A eficácia de aplicação do vácuo através da técnica do vácuo compensado nunca é 100%, pois sempre permanece uma média de 1% de O₂ – chamado oxigênio residual - ainda no interior da embalagem (BLAKISTONE, 1999). Este resíduo de gás também permanece bastante tempo sem ser adsorvido pela matriz devido à baixa solubilidade¹⁸ do O₂ - 4,89 cm³/100 mL a 0 °C na água do alimento (SANTOS; OLIVEIRA, 2012), instaurando dentro da embalagem, dessa forma, um ambiente microaerobiótico. Pelo fato de modificar o meio (atmosfera) dentro da embalagem, esta tecnologia (vácuo) também pode ser considerada uma EAM.

Uma concentração deste gás abaixo de 1% em carnes vermelhas embaladas a vácuo e resfriadas faz com que haja uma desoxigenação da oximioglobina¹⁹ gerando a desoximioglobina, que promove à carne uma coloração

¹⁷ O efeito-vácuo é caracterizado pela compressão do produto dentro da embalagem de onde fora retirado o ar (para o emprego do vácuo). Esta compressão pode descaracterizar a forma/textura do alimento, afetar cor e sabor e, ainda, propiciar maior liberação de exsudato de alguns produtos embalados com esta técnica – sendo, assim, um efeito de considerado negativo à qualidade do produto.

¹⁸ A solubilidade de todos os gases nos alimentos depende do teor em água e gordura do alimento e da pressão parcial do gás na atmosfera aplicada (Lei de Henry). A solubilidade é inversamente proporcional à temperatura de acondicionamento do produto.

¹⁹ A mioglobina (Mb) - presente em maior quantidade nos miócitos de animais de carne vermelha - se liga ao O₂ do meio (seja externo ou dentro da própria embalagem) através da molécula de seu íon ferroso (Fe⁺²) alocada em seu grupamento heme - reação de oxigenação, que já se inicia já no *post-mortem* - formando a oximioglobina (MCMILLIN, 2008), que confere à carne uma coloração vermelho-brilhante. A desoxigenação (retirada forçada de O₂, através de máquina de vácuo, por exemplo) desta molécula; gerará a desoximioglobina (vermelho-púrpura). Se a carne for exposta ao O₂ e à luz por um tempo maior (depende do tipo de corte e da sua massa), há oxidação da molécula do grupamento heme das Mb de Fe⁺² a Fe⁺³ e, conjuntamente, ligação da Mb com molécula de H₂O (MANCINI; HUNT, 2005) gerando, desta forma, a metamioglobina (marrom). Estas reações são reversíveis (FARIA et al., 2001).

vermelho-púrpura (ZHOU et al., 2010); cor esta obtida também durante o processo de maturação de carnes (vácuo/ 7 a 21 dias/ 0-1°C) – menos aceita pelo mercado consumidor, de uma forma geral (Figura 4).

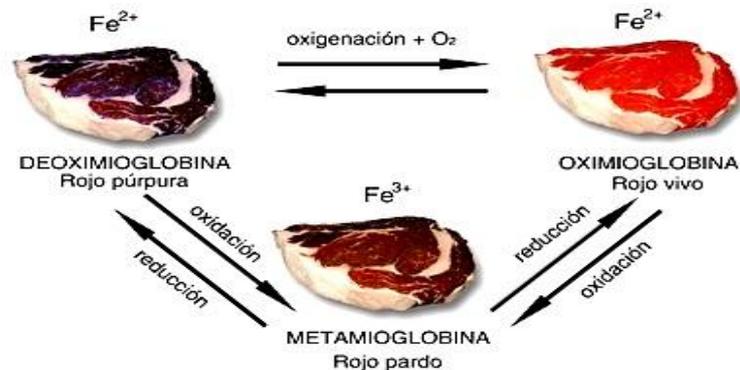


Figura 4 – Ação do O_2 sobre as transformações da mioglobina em carnes vermelhas. Fonte: < http://gominolasdepetroleo.blogspot.com.br/2011_09_01_archive.html >

Mcmillin (2008) elucida que o O_2 residual é diminuindo gradualmente no interior da embalagem sendo consumido pela respiração do próprio produto e da flora microbiana aeróbica residente no último – modificação passiva da atmosfera. Como produto desta respiração é gerado gás carbônico (CO_2) diminuindo, assim, o potencial redox deste alimento e, desta forma, contribuindo para a inibição do crescimento de microrganismos (BLAKISTONE, 1999).

Uma diminuição do O_2 residual para frutas, vegetais e produtos mais sensíveis a reações de foto-oxidação²⁰ – tal qual produtos fatiados e curados - pode ser obtida através do acondicionamento do produto em ambiente desprovido de iluminação incandescente (FARIA et al., 2001). Este oxigênio residual também pode ser mais “suprimido” com a injeção de maior concentração de N_2 no interior da embalagem em atmosfera modificada (AM).

A redução da concentração de O_2 – além de reduzir efeitos físico-químicos tal como a oxidação de lipídeos (rancificação) do produto (SIVERTSVIK et al., 2002), impede que alguns microrganismos patogênicos e também outros deteriorantes aeróbios se desenvolvam minimizando, desta forma, alterações significativas no produto (ZHOU et al., 2010) e prolongando sua validade.

²⁰ A reação de foto-oxidação é um mecanismo alternativo para formação de radicais livres – como o peróxido. A presença de riboflavina, clorofila no tecido vegetal e da mioglobina no animal, em presença de luz e oxigênio, possibilita esta reação e promove prejuízos à coloração do produto (CHURCH, 1994).

Contudo, atmosferas com pequenas concentrações ou ausência de O₂; criam um ambiente, apesar de adverso à proliferação de aeróbios patogênicos e de deteriorantes, ótimo para o crescimento de microrganismos microaerófilos - tais como bactérias ácido-láticas (BAL), *Listeria* sp. e *Campylobacter jejuni* -, anaeróbios facultativos – tais como *E. coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella spp* - e também dos anaeróbios estritos. Destes últimos, os de maior importância quanto à inocuidade de alimentos, são o *Clostridium perfringens* (que também é aerotolerante, sobrevivendo em presença de O₂) e o *Clostridium botulinum* devido às toxinas que sintetizam, que promove efeitos ao consumidor do alimento em que esteja presente, podendo, até mesmo, levá-lo a óbito (no caso da toxina botulínica).

Por esta razão, alimentos submetidos à tecnologia de EAM com baixa concentração de O₂ ou vácuo devem possuir um dos atributos que evitem a proliferação do *C. botulinum* tais como atividade de água (a_w) < 0,93; pH ≤ 4,6; possuir em sua composição compostos bactericidas ou bacteriostáticos (tais como aditivos conservadores – sorbato de potássio, cloreto de sódio; ou de cura – nitrito ou nitrato); ser acondicionado em temperaturas ≤ +4 °C ou congelado (JAY, 2005; ARVANITOYANNIS; STRATAKOS, 2012).

Diferentemente dos microrganismos aeróbios deteriorantes (que indicam para o consumidor quando o alimento está contaminado), os patógenos anaeróbios não provocam deterioração no produto, portanto sendo de mais difícil identificação se estes estão em concentrações que poderiam prejudicar a saúde do consumidor – infecção e/ou toxinfecção – ou que já tenham produzido alguma toxina no próprio alimento - intoxicação. Isto fez com que começasse a haver um questionamento quanto a simples aplicação do vácuo como tecnologia de conservação se seria efetiva no que tange à inocuidade do alimento; e relacionando-o, até mesmo, à saúde coletiva (CHURCH, 1994).

Assim, para aumentar a eficácia desta tecnologia de conservação faz-se associação desta com outra técnica, a refrigeração, de forma a controlar o desenvolvimento microbiano que não fora afetado pela retirada de O₂ do meio.

Também com este mesmo propósito, pode-se empregar em EAM uma mistura de 2 ou 3 gases - principalmente O₂, CO₂ e N₂ (CHURCH, 1994; CHURCH; PARSONS, 1995), mas podem ser utilizados outros gases estéreis, tal qual o monóxido de carbono (VENTURINI, 2007; ARVANITOYANNIS; STRATAKOS, 2012) - para que as especificidades de cada um destes auxiliem a redução (ou estase)

desta flora e ainda melhorar as características negativas ao alimento originadas devido ao seu acondicionamento sob uma atmosfera com pouca concentração de oxigênio (VENTURINI et al., 2009).

Principalmente em frutas e vegetais frescos, uma maior concentração de O_2 é responsável pela manutenção do seu frescor tendo em vista que possibilitará maior tempo de troca gasosa através da sua respiração. Para o comércio destes tipos de produtos frescos, frequentemente se utilizam embalagens com alta permeabilidade aos gases (como será visto adiante). Mas mesmo assim deve-se ter bastante cautela ao submeter este tipo de alimento a esta atmosfera rica em O_2 . Isto porque como a respiração é um processo no qual se utiliza o O_2 e se tem como produto o CO_2 , níveis acima de 8% do primeiro promoveriam um aumento da taxa de respiração do produto; o que, por sua vez, promoveria um acúmulo excessivo de CO_2 no interior da embalagem²¹. Para estes produtos, uma concentração de gás carbônico maior do que 5% no interior da embalagem já seria suficiente para prejudicá-los sensorialmente (EMBRAPA, 2003). Além disso, como já visto, uma maior concentração de O_2 propicia uma maior proliferação de microrganismos aeróbios deterioradores/putrefativos.

Sendo assim, com a intenção de aumentar a vida útil destes alimentos, poderia se assumir que uma atmosfera com pouco (ou nenhum) O_2 , como a empregada na técnica da embalagem a vácuo, pudesse ser a melhor a ser utilizada para produtos desta natureza, tendo em vista que pararia este processo respiratório por completo. Todavia, um ambiente desprovido de O_2 , além de prejudicar diretamente a característica de frescor do produto, estimula o processo fermentativo das próprias frutas e dos vegetais. Este processo é responsável pela produção de acetaldeído e etanol, que promovem sabor e aroma indesejáveis ao produto.

Já para carnes vermelhas frescas, a atmosfera mais utilizada para seu acondicionamento em EAM é a de alta concentração de O_2 , por volta de 80%, pois esta concentração será suficiente para transformação da mioglobina em oximioglobina até as partes mais centrais da peça na carne – o que garantirá sua coloração vermelha-brilhante por mais tempo (MCMILLIN, 2008; VENTURINI et al., 2009; ZHOU et al., 2010).

²¹ As embalagens para este tipo de produto devem possuir permeabilidade para o CO_2 de 3 a 5 vezes mais do que para o O_2 (EMBRAPA, 2003).

Apesar de ser importante para a manutenção destas características desejadas para estes tipos de alimentos, esta alta concentração de O₂ cria um ambiente propício para a proliferação das bactérias aeróbias deterioradoras, como já visto. Por este motivo, alimentos em EAM submetidos a esta atmosfera não podem ser estocados por grandes períodos de tempo.

Como alternativa a este entrave, já se estuda (e usa) empregar dentro da embalagem de carnes vermelhas uma atmosfera com baixa concentração de O₂, associada a baixas concentrações de monóxido de carbono (CO); inferiores a 0,4% (HACHMEISFER et al., 2001) devido à sua alta toxicidade; que já são suficientes para promover uma estabilização da cor de carnes vermelhas através da formação de complexo COMb²² - além de também possuir grande efeito bacteriostático e aumentando o prazo de validade do produto (EILERT, 2005; SANTOS et al., 2007; ZHOU et al., 2010).

Já para carnes brancas (tal qual a carne de aves), como a manutenção da coloração não é um parâmetro de escolha dos seus consumidores - diferentemente do que ocorre com as carnes vermelhas - recomenda-se para produtos cárneos de aves em EAM a utilização de atmosfera com baixa (ou nenhuma) concentração de O₂, com 20-30% ou mais de CO₂ e o restante do espaço-livre da embalagem, que acondiciona o referido produto, completada com Nitrogênio - N₂ (SIVERTSVIK et al., 2002). Enquanto que a retirada do O₂ tem por objetivos evitar a rancificação das gorduras (oxidação lipídica) desta matriz e a proliferação de microrganismos deteriorantes e patógenos aeróbios (tal como bactérias do gênero *Pseudomonas* spp.), a injeção de CO₂ tem, principalmente, o de garantir a sua segurança microbiológica (SANTOS; OLIVEIRA, 2012).

A segurança microbiológica (ou inocuidade) do alimento é a característica mais levada em consideração antes de se escolher as concentrações mais adequadas para a mistura dos gases que serão utilizados para carnes de aves em EAM.

²² Devido à afinidade do CO pela desoximioglobina ser muito maior do que a do O₂ pela última, o CO se liga fortemente ao íon ferroso (Fe⁺²) da mesma formando a carboximioglobina (COMb). Esta ligação forte não permite, durante um maior tempo, que haja a oxidação desta molécula impedindo assim a formação de metamioglobina – coloração marrom (não aceita pelo consumidor). Além disso, a COMb possui maior estabilidade térmica do que a desoxi e a oximioglobinas. O CO pode também deslocar moléculas de oxigênio das oximioglobinas para se ligar à Mb e formar a COMb.

2.5.2 Utilização do CO₂

Os efeitos bacterio e fungistático da Embalagem em Atmosfera Modificada (EAM) são caracterizados, principalmente, pelo emprego do dióxido de carbono (CO₂) na mistura utilizada. Este gás atua não só estendendo a fase de latência (LAG), mas também duplicando o tempo da fase logarítmica (LOG) de crescimento bacteriano; proporcionando, desta forma um aumento da validade comercial (ARVANITTOYANNIS; STRATAKOS, 2012). Quanto maior a concentração de CO₂ no interior da embalagem, maior a sua eficácia de controle microbiológico do produto em EAM (RANGEL, 2009).

O CO₂ atua mais eficientemente na fase LAG do que na LOG chegando a inibir completamente o desenvolvimento de alguns microrganismos mais sensíveis a este gás – efeito bacteriostático. Contudo, outros menos sensíveis (tais como os Gram-positivos ou os anaeróbios) ainda são capazes de se desenvolverem, dependendo da concentração de CO₂ utilizada na mistura. Devido a isto, produtos submetidos à EAM necessitam possuir uma carga microbiana inicial, pós-produção, baixa (ARVANITTOYANNIS; STRATAKOS, 2012).

A solubilidade do CO₂ pode ser avaliada tanto no produto em questão (relacionado à taxa de respiração e à natureza da matriz analisada) quanto com relação à permeabilidade da embalagem utilizada - para produtos que respiram (tais como vegetais e frutas), devem ser utilizadas embalagens permeáveis aos gases; ao contrário daqueles que não respiram (como carnes, massas e queijos). A solubilidade deste gás (assim como a do O₂) é inversamente proporcional à temperatura de acondicionamento do produto – quanto menor a temperatura, maior a sua solubilidade e maior a eficácia antimicrobiana (PARRY, 1993); daí a necessidade do acondicionamento dos produtos em EAM dever ser feito sob refrigeração (quanto menor, maior a solubilidade do gás – Lei de Henry). Pelo fato deste gás ser altamente hidro e lipossolúvel, e de água e gordura serem dois atributos inerentes a todas as carnes (de todas as espécies de abate, inclusive às de frango), a solubilização do CO₂ na matriz cárnea sempre acaba ocorrendo (em menor ou maior escala). Desta forma, uma vez solubilizado na mesma, o gás é liberado mais lentamente mantendo sua ação conservante por mais tempo, mesmo após ter sido aberta a embalagem.

Devido à sua alta solubilidade em água - portanto possuindo bastante afinidade a esta molécula, o CO_2 , ao atravessar as membranas das células musculares da matriz, reage com a água de constituição no citoplasma formando várias moléculas de ácido carbônico, que são dissociadas em HCO_3^- e H^+ , sendo assim liberado para o meio e baixando, dessa forma, o pH da matriz (RANGEL, 2009; BUENO; MARTÍNEZ, 2010). Ao mesmo tempo, também é altamente solúvel em gorduras. Sendo assim, conclui-se que, além da massa do produto, da contagem bacteriana inicial e da própria concentração do gás no interior da embalagem, a difusão deste gás na matriz será mais eficaz dependendo dos teores de umidade e lipídeos do alimento embalado (quanto maiores, maior será a penetração do CO_2 no alimento – difusão - e maior efeito inibitório de crescimento de microrganismos).

Sendo assim, quanto maior forem as concentrações de umidade e gorduras de um produto, maior será a adsorção deste gás no mesmo. Caso haja um excesso de adsorção de CO_2 pela matriz, isto incorrerá em efeitos sensoriais negativos ao produto tais como gosto ácido, escurecimento das fibras, conforme já visto – associado, em carnes vermelhas, à formação de metamioglobina - para minimizar este escurecimento, segundo Santos et al (2007), pode ser aplicada à mistura uma pequena concentração de monóxido de carbono -, formação de exsudato - portanto perda de água e nutrientes; principalmente em carnes frescas (CHURCH, 1994) – e em efeito-vácuo, podendo causar o colapso da embalagem e dando ao produto um aspecto indesejável semelhante ao que obteria caso tivesse sido aplicado somente o vácuo na embalagem do produto sob AM.

O declínio do pH da matriz também é influenciado pela proliferação de bactérias ácido-láticas (BAL) - por serem aeróbias tolerantes, podem se desenvolver tanto em ambientes com O_2 residual quanto em atmosferas com até 100% de CO_2 - que produzem ácido lático como produto de sua fermentação. Com o pH reduzido, há a criação de um meio mais adverso ao desenvolvimento de microrganismos e uma, portanto, maior inibição de seu crescimento (JAY, 2005). Este efeito passa a ser, inclusive, bactericida para bactérias mais sensíveis (tal como as *Pseudomonas* spp. – Gram-negativas). Contudo, este declínio, quando exacerbado, apesar melhorar a segurança microbiológica do produto, provoca alterações sensoriais - maior acidez e coloração mais escura de carnes vermelhas (não ocorre escurecimento em carne de aves) - indesejadas pelo consumidor (RAO; SACHINDRA, 2002 *apud* ARVANITTOYANNIS; STRATAKOS, 2012). Outros

mecanismos de inibição podem ser ligados à ação antimicrobiana do CO₂ tais como a diminuição da descarboxilação enzimática, alteração da permeabilidade da membrana celular e a desnaturação das proteínas no interior dos microrganismos - esta também facilitada pelo declínio do pH intracelular (JAY, 2005).

2.5.3 Utilização do N₂

O Nitrogênio (N₂) - por ser menos solúvel do que o O₂ e o CO₂, não é absorvido pelo alimento e possui menor permeabilidade através da embalagem do que estes mesmos gases - é utilizado como gás de enchimento. A escolha do N₂ para isto se dá por se tratar de um gás inerte, isto é, que não reage com pigmentos, aditivos inseridos no produto ou gases da atmosfera que o envolve e tampouco reage com os microrganismos. Além disso, ainda mantém a integridade da embalagem, impedindo o colapso da mesma e, portanto impedindo a formação do efeito-vácuo indesejável (ZHOU et al., 2010; MANTILLA, 2010).

Segundo RANGEL (2009), até aponta que o N₂ aplicado à EAM pode ser utilizado também no intuito de 'deslocar' as moléculas de O₂, reduzindo, assim, a concentração de O₂ residual livre - variando de 0,4% a 0,7% no interior da embalagem - e, com isso, diminuindo também a velocidade de oxidação do alimento. Além disso, esta redução irá retardar o desenvolvimento de microrganismos deteriorantes aeróbios.

2.6 EMBALAGENS E SEU USO EM ATMOSFERA MODIFICADA

A embalagem primária envolve diretamente e protege o produto contra eventuais efeitos físicos (contaminações por corpos e odores estranhos), físico-químicos e microbiológicos (putrefativos e/ou patogênicos) a que os produtos poderiam ser submetidos caso estivessem acondicionados sem invólucro, em contato direto com o ar atmosférico. Diversos tipos de embalagens são utilizados para acondicionar os alimentos. Cada uma é mais adequada para a matriz utilizada a ser embalada. As primeiras embalagens foram confeccionadas a partir de celulose (composto orgânico obtido da madeira e também utilizado para a fabricação de papel). Atualmente, as embalagens mais utilizadas para alimentos são constituídas por, basicamente, vidro, lata, papelão ou plástico.

O advento de embalagens plásticas flexíveis (inclusive a baixas temperaturas), duráveis, transparentes, termossoldáveis e de baixo custo foi um avanço ao acondicionamento de produtos alimentícios (RANGEL, 2009). Além de poderem acondicionar diversos tipos e formas diferentes de produtos, estas embalagens são atraentes para os consumidores pois, além de poderem ter seus rótulos impressos diretamente em seu painel principal, a maioria é transparente de forma a permitir que o consumidor visualize as características sensoriais mais aparentes do alimento que está adquirindo. Em adição, são duráveis, resistentes e não comprometem a segurança do produto; como no caso de uma possível avaria em uma embalagem de vidro, por exemplo, que originaria um contaminante físico acabando por comprometer a segurança do alimento ali acondicionado (MCMILLIN, 2008; SANTOS; OLIVEIRA, 2012).

Há uma grande variedade de opções de embalagens plásticas que possibilitam uma dosagem mais adequada na especificação e dimensionamento da embalagem ao produto (relacionados, principalmente, à maior flexibilidade destas embalagens) tornando-as altamente competitivas, em relação aos demais materiais.

Contudo, algumas desvantagens da utilização deste material tiveram de ser relevadas para a evolução da sua utilização em nível industrial. Diferentemente das embalagens compostas por vidro ou metal, as plásticas possuem graus de permeabilidade a gases (O_2 , CO_2 ; dentre outros) e ao vapor d' água que podem ser menores ou maiores dependendo do material utilizado para a sua confecção. Além disso, as embalagens plásticas são permeáveis a alguns tipos de vapores orgânicos (tais como odores do meio externo) e, quando transparentes; embora mais comercialmente atrativas do que as embalagens opacas e/ou as compostas por laminados metálicos; permitem que haja uma incidência de luz diretamente sobre o produto (particularmente de comprimentos de onda menores como o ultravioleta - UV) o que poderia, em produtos mais fotossensíveis, catalisar reações de oxidação e rancificação da matriz alimentícia, descoloração e desenvolvimento de odores indesejáveis ao produto (EMBALAGENS PLÁSTICAS, 2013).

O avanço da tecnologia de embalagens plásticas permitiu que fossem elaboradas embalagens com barreiras à luz (para produtos mais sensíveis) e filmes, para a confecção das mesmas, com materiais (polímeros) de diferentes taxas de permeabilidade a gases (principalmente ao O_2) e ao vapor-d'água.

Como já dito anteriormente, a permeabilidade (baixa, média ou alta) da embalagem aos gases e vapor-d'água é um dos determinantes para a aplicação, em EAM, da concentração mais adequada de gás (ou mistura de gases) a ser utilizado; assim como são as características do produto (natureza, massa, teor de gordura, umidade relativa, taxa de respiração, contaminação inicial) e as do próprio gás (solubilidade e limite máximo de uso, caso haja) empregado na técnica utilizada (SANTOS; OLIVEIRA, 2012).

Sendo, assim, é coerente dizer que a tecnologia dos materiais de embalagem evoluiu juntamente com os avanços da tecnologia de atmosfera modificada.

Diversas características que compõem o filme utilizado para a confecção das embalagens influenciam na manutenção (ou melhoria) dos atributos do alimento embalado sob AM (MANTILLA, 2010; ZHOU et al., 2010).

Com relação ao filme, a polimerização de monômeros químicos tais como carbono, hidrogênio, nitrogênio, oxigênio, cloro e flúor; dá origem ao polímero (orgânico ou inorgânico) que comporá o filme utilizado para a confecção das embalagens plásticas utilizadas em EAM (CORSO, 2007). As propriedades de cada polímero e a sua configuração nas embalagens; podendo estar dispostos em mono ou multicamadas – Figura 5; garantem as características de barreira, flexibilidade, transparência, resistência e custo das últimas (MANTILLA, 2010). Contudo, aquela à qual este trabalho se atentará, e talvez a mais importante delas, será a propriedade de barreira do filme aos gases (principalmente, oxigênio).

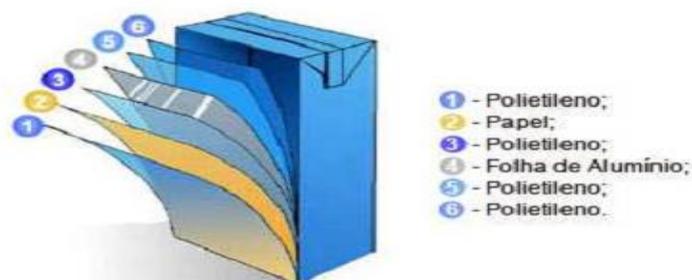


Figura 5 – Exemplo de associação de polímeros distintos em uma embalagem multicamadas – Embalagem cartonada Tetra Pak para leites tipo Longa Vida (BARAO, 2012).

Esta barreira se dá não só devido à composição das camadas da embalagem (caso possua mais de uma), mas também devido à densidade do filme utilizado. O filme pode ser de alta densidade (baixa permeabilidade a gases e vapor-d'água), média ou, ainda, de baixa densidade (alta permeabilidade). Diferentes tipos de filmes podem ser utilizados nas multicamadas de modo que as características individuais de cada um destes, em conjunto, auxiliem a manutenção dos atributos desejáveis do produto embalado.

Para um sistema de EAM eficaz que utiliza embalagens plásticas, os filmes utilizados em multicamadas para a confecção destas devem: 1) minimizar a saída ou entrada de vapor-d'água na embalagem; 2) impedir a ocorrência de troca gasosa com o meio (saída ou entrada) – isto é, possuir pouca permeabilidade a gases; 3) promover uma boa resistência mecânica para evitar que danos à embalagem possam provocar vazamentos do gás, alterações de permeabilidade da membrana da embalagem ou ainda uma contaminação do produto; 4) serem transparentes para garantir a visualização do produto (aumenta a confiança e a aceitação do consumidor); 5) ter boa soldabilidade para garantir a hermeticidade do fechamento da embalagem, mantendo a AM ao redor do produto (GUERREIRO, 2006).

Na maioria dos casos, os nomes dos polímeros utilizados para a confecção de embalagens plásticas para utilização em EAM são derivados do nome dos monômeros que o constituem, antecidos do prefixo *poli* (CORSO, 2007).

Alguns dos polímeros mais empregados na confecção dos filmes utilizados em embalagens para EAM são: polietileno de baixa (PEBD) ou alta (PEAD) densidade; polietileno tereftalato (PET); etileno-vinilo álcool (EVOH); polipropileno (PP); polivinilcloreto (PVC); policloreto de vinilideno (PVDC); o poliestireno (PS) e a poliamida (PA) – esta última também chamada de *nylon* (MCMILLIN, 2008; MANTILLA, 2010). Em uma embalagem multicamadas pode-se utilizar mais de um polímero associando cada uma de suas particularidades em consonância com os interesses do produtor/mercado. De acordo com os polímeros utilizados em cada matriz, há variações quanto à permeabilidade (em foco) – além de outros atributos - quando comparados entre si; mesmo que, por exemplo, possuam a mesma densidade (MCMILLIN, 2008). Por esta razão, deve-se escolher o filme mais adequado para cada natureza de matriz embalada. O poliestireno expandido (EPS), para fins de curiosidade, é um polímero gerado pelo mesmo método do que os outros acima citados; contudo, este é muito utilizado na confecção de bandejas

plásticas (para filmes de embalagem utiliza-se somente o poliestireno - PS) para acondicionamento de produtos manipulados no varejo/atacado previamente ao processo de embalagem dos mesmos.

Cada polímero possui suas características particulares de barreira a contaminantes físicos, químicos e microbiológicos (ver Anexo 7.1) além de suas propriedades termoplásticas e sua permeabilidade aos gases e ao vapor-d'água (ver Anexo 7.2 e Quadro 1).

Quadro 1 - Permeabilidade aos gases e vapor-d'água dos principais filmes plásticos utilizados em Embalagem em Atmosfera Modificada - adaptado de Witt (2003) e Embalagens Plásticas (2003).

Polímero	Abreviatura	Flexível	Semi-Rígido	Termomoldável	Barreira O ₂	Barreira Vapor	Barreira Gordura	Termosoldável
Poliamida	PA	•		•	A	B	A	
Policloreto de Vinilo	PVC	•	•	•	B	M	B	•
Polietileno de Baixa Densidade	PEBD	•		•	B	A	B	•
Polietileno de Alta Densidade	PEAD	•	•	•	B	A	B	•
Polietileno Tereftalato	PET		•	•	M	M	A	
Polipropileno	PP	•	•	•	B	A	B	•
Poliestireno	PS	•	•	•	B	B	B	
Etileno-vinílico álcool	EVOH			•	A	B	A	
Policloreto de vinilideno	PVDC			•	A	A	A	

A = Alta / M = Média / B = Baixa

O custo de cada embalagem confeccionada com os respectivos polímeros - em mono ou multicamadas - está diretamente relacionado às propriedades de barreira a gases de cada um dos últimos que a constituam (MANTILLA, 2010; SANTOS; OLIVEIRA, 2012).

Para produtos frescos, a embalagem deve ser um pouco permeável ao vapor-d'água para evitar o ressecamento da superfície dos mesmos (MCMILLIN, 2008).

Para produtos que respiram (como vegetais) e para aqueles onde a interação com O₂ é necessária (como em carnes vermelhas – *blooming*²³) devem ser

²³ *Blooming* – É quando uma carne vermelha adquire uma coloração vermelho-cereja, devido à reação da desoximioglobina com o O₂ atmosférico (devido à permeabilidade da embalagem ao mesmo) tornando-se oximioglobina. Esta reação é muito frequente de ser observada em carnes vermelhas retiradas de embalagens à vácuo e recém expostas nas gôndolas para venda. Algumas empresas, para acelerarem ainda mais e melhorarem a eficácia deste processo, se utilizam de embalagens constituídas por filmes microperfurados (MCMILLIN, 2008).

usados filmes com alta permeabilidade (baixa barreira) ao O_2 e ao CO_2 - tal como o PVC - de modo que haja uma difusão destes gases ao redor do produto e, desta forma, a manutenção das atividades fisiológicas (tal como respiração e amadurecimento) e sensoriais (como coloração) do produto (MANTILLA, 2010).

Já para produtos cárneos embalados sob AM, em que se prioriza um maior prazo de validade aos mesmos, há a necessidade da utilização de filmes de alta barreira a gases. Sendo assim, filmes de PA, por possuírem baixa permeabilidade aos gases, têm sido muito empregados em alimentos embalados pela técnica de EAM tais como carnes vermelhas e de aves frescas ou processadas, além de queijos e embalagens do tipo *cook-in* - desenvolvidos para sofrerem processamento térmico pelo próprio consumidor sem que para isto seja necessária a retirada de sua embalagem.

Contudo, a poliamida, devido à sua característica higroscópica, é altamente permeável ao vapor-d'água. Segundo Pinto (2002), para materiais higroscópicos quanto maior a umidade relativa de um ambiente, maior será a sua permeabilidade ao vapor e, portanto menores serão as suas propriedades de barreira em relação ao mesmo (Figuras 6 e 7). Desta forma, as embalagens compostas unicamente por filme de poliamida devem ser armazenadas exclusivamente em locais secos.

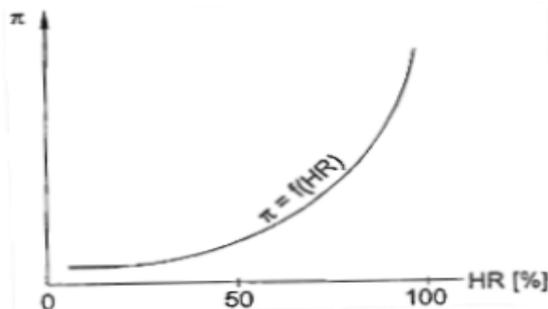


Figura 6 – Demonstração da relação direta entre coeficiente de permeabilidade ao vapor-d'água (π) e umidade relativa (HR) do ambiente para materiais higroscópicos (PINTO, 2002).

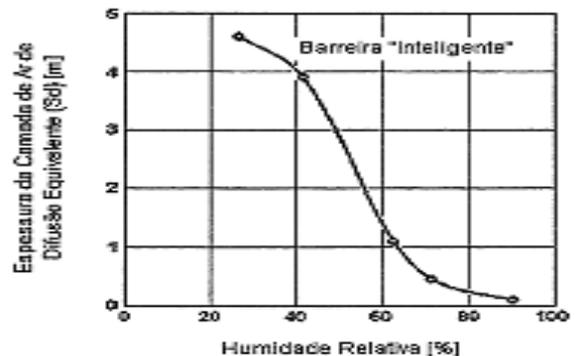


Figura 7 – Variação da propriedade de barreira da poliamida ao vapor-d'água em relação à umidade (HR) do ambiente em que se encontra (PINTO, 2002).

Esta proporcionalidade direta da poliamida com a permeabilidade ao vapor também deve ser aplicada à temperatura de acondicionamento da embalagem segundo esta correlação que descreve a Equação 1.

A Equação a seguir demonstra a correlação entre temperatura de acondicionamento e permeabilidade da poliamida aos vapores d' água (PINTO, 2002).

$$\pi = \pi_0 \cdot e^{\left(-\frac{E}{R.T}\right)}$$

Onde: T = temperatura absoluta; π = coeficiente de permeabilidade ao vapor-d'água; π_0 = Constante para T= ∞ ; e = Número neperiano (≈ 2.718); E = Energia de Ativação

A PA permite a difusão do vapor da embalagem também para o meio externo ao mesmo tempo em que possui alta barreira aos gases. Contudo, esta difusão ocorre de maneira gradual e lenta (Figura 8).



Figura 8 – Esquema das interações de uma substância (no caso o vapor-d'água) com o produto, o polímero do filme da embalagem e o meio externo (OLIVEIRA, 2012).

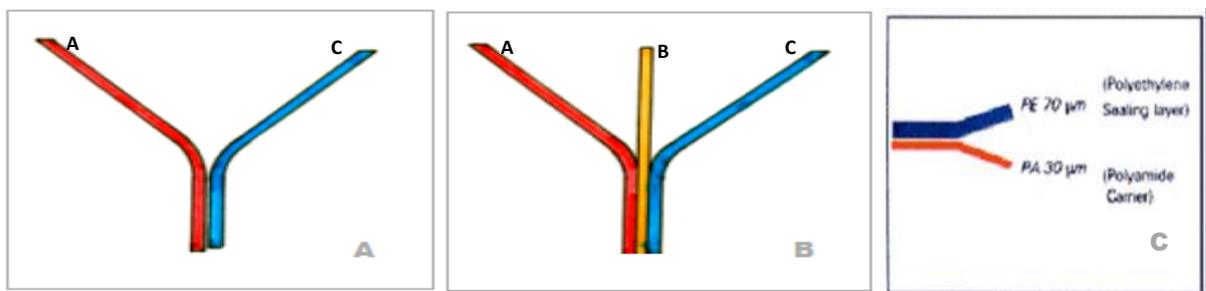
Esta alta propriedade de barreira e alta permeabilidade ao vapor-d'água são características de eleição para filmes de carnes frescas em EAM, pois ao mesmo tempo em que se pode imprimir uma mistura de gases para melhor acondicionamento do produto e aumento da sua validade comercial, não haverá ressecamento da superfície da carne – mantendo-a, assim, atrativa para o consumidor.

Quando os alimentos são cozidos (ou grelhados – caso deste experimento), deve-se levar em consideração também que, devido à sua alta temperatura quando embalado, pode haver formação de vapor-d'água proveniente da “transpiração” do produto no interior da embalagem. Pela difusão do vapor neste material se dar de forma lenta, além de afetar o balanço térmico (equalização da temperatura com a temperatura ambiente), este vapor no interior da embalagem aumentaria a umidade relativa do meio interno de forma a já possibilitar o crescimento de alguns microrganismos oportunistas (tais como fungos e algumas bactérias). Para minimizar isto, a escolha da PA como filme de composição da embalagem de produtos cozidos

e sob AM deve ser associada à utilização de CO₂ em concentrações mínimas entre 10% e 20% (PATSIAS et al., 2008). Esta concentração mínima é necessária para que haja diminuição do potencial redox (e do pH) do meio interno à embalagem promovendo, assim, os efeitos fungio e bacteriostáticos deste gás (CO₂).

Outra desvantagem da utilização deste polímero é que ele não possui grande termossoldabilidade. Sendo assim, utilizar este material em um filme monocamada para manter uma atmosfera modificada no interior da embalagem, não se mostraria eficaz tendo em vista que a última não seria hermeticamente selada e, por isso, não manteria eficazmente o ambiente em AM. Desta forma, constantemente utiliza-se a poliamida em uma embalagem multicamadas (com 2 ou mais filmes coextrusados), geralmente associada ao polietileno (mais barato), que além da propriedade de barreira aos gases (proporcionada pela poliamida) possuirá a de barreira ao vapor-d'água e soldabilidade a altas temperaturas (ambas proporcionadas pelo polietileno) – Figura 9. Esta associação é muito utilizada, com sucesso, para embalar produtos alimentícios secos como cereais, farinhas, café e leite em pó (HEINZ; HAUTZINGER, 2007).

Ainda existem algumas variações quanto à utilização destas associações em produtos cárneos devido ao fato de ainda se estar em desenvolvimento e experimentação quais filmes e atmosferas são os mais adequados a cada composição de cada matriz cárnea utilizada. Além do polietileno, o polímero EVOH também é comumente utilizado em associações com a poliamida para confecção de embalagens, principalmente para estes mesmos produtos.



Esquema A = Filme multicamadas (duas): - camada A (externa): resistência mecânica e barreira a gases; - camada C (interna): selante.

Esquema B = Filme multicamadas (três ou mais): - camada A (externa): resistência mecânica, - camada B (intermediária): barreira gases; - camada C (interna): selante.

Esquema C = Filme multicamadas (duas): - camada PA (vermelha - externa): resistência mecânica e barreira O₂, - camada PE (azul - interna): selante e barreira vapor-d'água.

Figura 9 – Esquemas de estruturas de embalagens multicamadas e associação poliamida/polietileno - adaptado de Heinz e Hautzinger (2007) e Witt (2003).

Um sistema de EAM inadequadamente implantado para um tipo específico de produto pode não só ser ineficaz como, ainda, possuir o efeito reverso ao desejado, acelerando o processo deteriorativo do produto ao invés de retardá-lo.

2.7 MICROBIOTA DA CARNE DE AVES

A microbiota da carne de aves tem sido cada vez mais associada a um aumento da incidência surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs). Isto se dá não só devido ao aumento do seu consumo pela população mundial, como já visto anteriormente neste trabalho; aumentando, desta forma, também o n° de pessoas acometidas; mas também devido a fatores intrínsecos inerentes à própria musculatura desta carne tais como o seu elevado teor de nutrientes, a alta atividade de água (a_w) e pH próximo a neutro – quando ainda crua; atributos estes que propiciam o desenvolvimento de microrganismos mesófilos e psicotróficos antes mesmo de seu processamento e consumo.

A carga microbiana das carcaças de frango e seus derivados são representados por uma microbiota oriunda, principalmente, das aves vivas e, outra parte, incorporada em qualquer uma das etapas do abate (tal como depenagem e eventração) ou do seu processamento (manipulação, processamento térmico, embalagem, armazenamento, distribuição, exposição).

A microbiota inicial da carne de aves fresca é muito variada. Os aeróbios mesófilos compõem a maioria dos microrganismos que contaminam a carne de frango - conforme visto em pesquisa feita por Rodrigues et al (2008) na qual foi observado que a contagem de aeróbios mesófilos foi maior do que as de coliformes e *E.coli* em todas as etapas de um abate de frangos (Tabela 4). As bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (BHAM) não se desenvolvem em temperaturas abaixo de +5° C e são destruídas a temperaturas acima de 74°C (USDA, 2006). Estes mesmos microrganismos são os principais responsáveis pelos processos putrefativos ocorridos com o produto quando exposto a temperaturas ótimas de crescimento – até 43°C.

Tabela 4 – Médias e Desvio Padrão de contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas, Coliformes e *E.coli* (em \log_{10} UFC/g = NMP/cm²) em carcaças durante 5 etapas do fluxo de abate de frangos (RODRIGUES et al., 2008).

Fase de abate ⁽¹⁾	-----Médias ± Desvio Padrão ⁽²⁾ -----			
	Aeróbios mesófilos	Coliformes totais	Coliformes termotolerantes	<i>Escherichia coli</i>
A	4,1 ± 0,5 ^a	3,1 ± 0,6 ^a	3,0 ± 0,6 ^a	0,8 ± 1,2 ^a
B	3,9 ± 0,5 ^a	2,9 ± 0,7 ^a	2,7 ± 0,8 ^a	0,5 ± 1,0 ^a
C	3,8 ± 0,6 ^a	3,2 ± 0,4 ^a	3,0 ± 0,6 ^a	0,7 ± 1,2 ^a
D	3,7 ± 0,4 ^a	3,2 ± 0,6 ^a	3,0 ± 0,6 ^a	0,6 ± 0,9 ^a
E	1,7 ± 1,1 ^b	0,7 ± 0,8 ^b	0,7 ± 0,8 ^b	0,1 ± 0,4 ^a

NOTAS: (1) A: antes do chuveiro de higienização na entrada da área limpa (após a depenagem); B: após o primeiro chuveiro de lavagem; C: após a evisceração manual; D: após o chuveiro de lavagem final; E: na saída do pré-resfriamento. (2) Médias seguidas de mesma letra, na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Kruskal-Wallis.

Na carne de aves frescas podem ser isoladas bactérias mesófilas produtoras de toxinfecções alimentares como *Salmonella spp.*, *Clostridium botulinum*, *C. perfringens*, *Campylobacter jejuni*; *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

Portanto, para retardar a proliferação destes mesmos (ou até mesmo evitá-la), faz-se necessário acondicionar esta carne em ambientes refrigerados ou de congelamento (CARVALHO et al., 2005).

Já os psicotróficos conseguem se proliferar em temperaturas baixas, inclusive inferiores a 0° C. Portanto, ao mesmo tempo em que previnem o processo de putrefação do produto, as baixas temperaturas selecionam grande parte das bactérias psicotróficas que passam a ter menor concorrência para se ligarem ao seu substrato e colonizarem o alimento. Estas bactérias são as pertencentes, principalmente, aos gêneros *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, estando também presentes espécies anaeróbias facultativas como enterobactérias psicotróficas, *Aeromonas sp.*, *Shewanella putrefacens*, *Brochothrix thermosphacta* e ainda *Listeria monocytogenes* e bactérias ácido lácticas - tais como *Streptococcus sp.*, *Lactococcus spp* e *Lactobacillus spp.* (JIMÉNEZ et al., 1997; JAY, 2005; PATSIAS et al., 2006; MANTILLA, 2010).

Esta maior susceptibilidade à incidência de carga microbiana, determinada pela conjunção dos atributos inerentes a esta matriz (frango), torna este produto, quando fresco, altamente perecível – menor prazo de validade (JAY, 2005) - e, além disso, faz com que seja necessário atentar mais para o seu consumo, tendo em vista que pode carrear microrganismos patogênicos produtores de toxinfecções

alimentares (já citados anteriormente), sendo importantes causadores de DTAs em humanos (PARRY et al., 1993; PATSIAS et al., 2006; MANTILLA^(a) et al., 2009).

Esta menor vida comercial (do inglês: *shelf life*) está associado também, conforme já visto, à contaminação inicial da matéria-prima (seja o frango vivo ou o produto originado de seu abate), apontada como o principal fator responsável pela menor vida útil destes produtos tendo em vista que, quando frescos (“*in natura*”) não passam por qualquer outro tipo de processamento capaz de eliminar essa microbiota contaminante antes de ser adquirido pelo consumidor. Esta contaminação inicial carregada pelas próprias aves pré-abate (através de suas mucosas, penas, bico, cloaca, vísceras, etc.) varia durante o processo de abate propriamente dito; conforme elucidado no experimento realizado por Rodrigues et al. (2008) e demonstrado nas Tabelas 4 e 5.

Tabela 5 – Frequência de ocorrência de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e coliformes e o risco desta contaminação se dar (OR) em cada etapa do abate de frangos (RODRIGUES et al., 2008).

Microrganismo	Fase de abate	Frequência (%)	p ⁽¹⁾	OR (IC 95%)
Aeróbios Mesófilos	A	24 (92,3)	0,0000000	144,0 (14,8 < OR < 2446,2)
	B	23 (85,5)	0,0000000	92,0 (11,4 < OR < 1089,7)
	C	19 (73,1)	0,0000020	32,6 (5,2 < OR < 268,1)
	D	16 (61,5)	0,0000500	19,2 (3,2 < OR < 48,9)
	E	2 (7,7)	-	1,0
Coliformes totais	A	19 (76,0)	0,0000003	76,0 (7,6 < OR < 1863,1)
	B	18 (72,0)	0,0000009	61,7(6,4 < OR < 1479,3)
	C	23 (92,0)	0,0000000	276,0 (18,9 < OR < 10379,2)
	D	22 (88,0)	0,0000000	176,0 (14,4 < OR < 5210,3)
	E	0 (0,0)	-	1,0
Coliformes termotolerantes	A	18 (72,0)	0,0000009	61,7 (6,4 < OR < 1476,3)
	B	14 (56,0)	0,0000714	30,6 (3,4 < OR < 704,2)
	C	22 (88,0)	0,0000000	176,0 (14,4 < OR < 5210,3)
	D	20 (80,0)	0,0000001	96,0 (9,2,4 < OR < 2437,4)
	E	0 (0,0)	-	1,0

(1) Valor de p para o teste do Qui-quadrado; (2) IC: Intervalo de confiança 95%; ($x < OR < y$): Valor de referência para risco de contaminação/etapa.

Como pode ser visto em ambas as Tabelas, há um decréscimo da concentração microbiana com o andamento do processo de abate de frangos e pré-resfriamento das carcaças (fase E). A maior possibilidade de ocorrência de contaminação para coliformes totais e termotolerantes (fecais) se deu na fase C do experimento de Rodrigues et al. (2008) – conforme visto na Tabela 5. Nesta fase (C) é executado o processo de eventração (que pode ser manual ou, ainda,

automatizado²⁴) das carcaças. Devido a isso, nela há maior risco de rompimentos de vísceras intestinais com conseqüente extravasamento do conteúdo gastrointestinal e contaminação das carcaças com enterobactérias²⁵. Devido a este maior risco, e com o intuito de que a carcaça tenha a menor carga microbiana inicial possível, torna-se impreterível a instauração nesta fase de um Ponto Crítico de Controle Biológico - PCC B (RODRIGUES et al., 2008). Contudo, nota-se também que apenas os coliformes apresentaram-se mais frequentes na fase C. Os microrganismos aeróbios mesófilos não compartilharam deste aumento. Isto se deveu, segundo os autores do experimento, ao fato de ter havido uma seleção parcial desta microbiota não só pelo processo de transformação do músculo em carne (*rigor mortis*, quando há um decréscimo do pH da musculatura e um conseqüente retardo do desenvolvimento das colônias de aeróbios mesófilos) como também devido ao fato dos mesófilos serem menos competitivos do que os coliformes.

O intervalo de tolerância para a maioria dos microrganismos mesófilos - representados no Anexo I da Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001, pelos Coliformes a 45°C (BRASIL, 2001) - em carnes e produtos cárneos, está representado no Quadro 2.

Quadro 2 - Padrões microbiológicos para alimentos - adaptado do Anexo I da Resolução RDC nº 12 (BRASIL, 2001).

GRUPO DE ALIMENTOS	MICROORGANISMO	Tolerância para Amostra INDICATIVA	Tolerância para Amostra Representativa			
			n	c	m	M
5 CARNES E PRODUTOS CÁRNEOS						
d) carnes cruas preparadas de aves, refrigeradas ou congeladas, temperadas	Coliformes a 45°C/g	10 ⁴	5	3	10 ³	10 ⁴
h) carnes embaladas a vácuo, não maturadas	Coliformes a 45°C/g	10 ⁴	5	2	10 ³	10 ⁴
j) produtos cárneos cozidos ou não, maturados ou não, fracionados ou fatiados, mantidos sob refrigeração	Coliformes a 45°C/g	10 ⁵	5	2	10 ²	10 ³

a) m: é o limite que separa o lote aceitável ou lote com qualidade intermediária aceitável; b) M: é o limite que separa o produto aceitável do inaceitável; c) n: é o nº de unidades; d) c: é o número máximo aceitável de unidades de amostras com contagens entre os limites de m e M.

²⁴ Em processos produtivos onde a eventração de frangos é automatizada, há uma maior incidência de contaminações das carcaças. Aqui no Brasil, onde o plantel de aves é muito heterogêneo quanto a peso e tamanho, a eventração automatizada provoca muitos prejuízos econômicos e de inocuidade alimentar.

²⁵ A possibilidade, nesta fase, de contaminação da carcaça por fezes (carreiam enterobactérias; dentre elas a *Escherichia coli* - podem provocar toxinfecções severas em humanos

A presença muito acima do tolerado (ver Quadro 2) destes coliformes pode indicar falhas na manutenção das condições higiênico-sanitárias em alguma etapa do processo produtivo (FRANCO; LANDGRAF, 1996). Caso se observe uma alta concentração de termotolerantes na análise microbiológica do produto acabado – representados, principalmente, pela *E. coli*; isto é indicativo de contaminação da carcaça por conteúdo fecal (problema da eventração). Já uma alta concentração de coliformes totais indica que houve uma higienização/sanitização inadequada de fômites e equipamentos utilizados para na produção e no armazenamento dos produtos e/ou um tratamento térmico insuficiente – no caso de termoprocessados (CARVALHO et al., 2005).

Tanto em aero quanto anaerobiose, as enterobactérias geram como produto final de seu metabolismo sulfetos e aminas biogênicas. Dessa forma, a avaliação da concentração dessas aminas nesta matriz pode ser usada como um dos parâmetros indicadores de deterioração e contaminação do produto (PATSIAS et al., 2005). Estas aminas podem ser detectadas em maiores concentrações caso a matriz contaminada seja acondicionada em ambiente com temperaturas variando entre de 7° e 43° C; devido, justamente, a esta ser a faixa de temperatura ótima para proliferação das enterobactérias. Isto é ainda corroborado com os dados da pesquisa de Arvanitoyannis e Stratakos (2012) na qual concluíram que temperaturas de estocagem abaixo de 6,1°C diminuem significativamente as taxas de síntese das aminas biogênicas tiramina, putrescina e cadaverina. A análise destas é realizada através do método de extração de aminas biogênicas por cromatografia líquida de alta eficiência (DE LA TORRE, 2013).

Galhardo et al. (2006) resumizam que as condições higiênico-sanitárias desde a apanha, passando pelo o abate – ou ainda da recepção e análise da matéria-prima (para indústrias de produção de derivados cárneos de aves), passando por todo o processo produtivo; estocagem, distribuição até a comercialização dos produtos são essenciais para a manutenção da qualidade microbiológica do produto a base de carne de frango e de sua validade. Para verificar estas condições, o método mais simples e rápido consiste justamente na Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (CBHAM) e na Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Psicotróficas (CBHAP). Estas são as análises mais comumente realizadas e que auxiliam na verificação da qualidade do alimento consumido na estimação de sua vida útil (CARVALHO et al., 2005) e foram as

utilizadas para as verificações destes atributos de cada mostra utilizada neste experimento.

Contudo, embora estas sejam as análises de eleição, não há parâmetro pré-determinado na legislação brasileira para contagem padrão em placas de microrganismos heterotróficos aeróbios, mesófilos e nem de psicotróficos para cada tipo de produto (CARVALHO et al, 2005). Apenas estabelece-se um número máximo tolerado de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de coliformes termotolerantes por grama (g) de produto – permitido até 10^4 UFC/g - em carcaças inteiras, fracionadas ou cortes *in natura* do produto (BRASIL, 2001). Já o *International Commission of Microbiological Specification for Foods* (ICMSF, 1986), órgão internacional, considera o limite máximo de 10^7 UFC/g para produtos cárneos frescos a base de frango.

Sarantópoulos et al. (1991) chamam a atenção que a contaminação da carcaça de aves e/ou de seus miúdos pode aumentar durante o processo de abate, devido ao resfriamento por imersão em tanques com água (chamados *chillers*), favorecendo a contaminação cruzada. Dependendo se houve ou não contaminação cruzada (e caso tenha havido, do grau da mesma), a vida de prateleira de produtos cárneos frescos a base de frango pode variar de 4 a 10 dias (MARENZI, 1986 *apud* PATSIAS et al., 2006). Quando processados termicamente, a validade chega a 14-15 dias; e este prazo ainda pode se estender por mais 6 dias caso, além de cozido, o produto seja embalado em atmosfera modificada adequada – para carne de aves: alta concentração de CO₂ e baixa ou nenhuma de O₂ (PATSIAS et al., 2006).

Sade et al. (2012) em seus experimentos com carnes bovina e suína marinadas²⁶ ratificaram estudos anteriores que indicavam que enterobactérias (assim como a maioria dos mesófilos) não se adaptam a ambientes ácidos – como quando imersos no marinado - tendo o seu crescimento retardado e até mesmo inibido. Esta inibição é ainda mais eficiente caso o produto seja acondicionado a temperaturas de refrigeração abaixo de 7° C (por serem mesófilas) – e não houver quebra da cadeia de frio - e em ambientes com pouco ou nenhum oxigênio (por

²⁶ O processo de marinação é a colocação do alimento em um marinado que consiste em uma solução contendo condimentos e ácido acético (podendo conter também óleo e açúcar) com o intuito de promover maior sabor e/ou quebrar as fibras musculares (maior maciez) e aumentar a capacidade de retenção de água do produto, tornando-o mais suculento (USDA, 2011; NIEMINEN et al., 2012) e aumentando seu *shelf life* (JIMÉNEZ et al., 1999).

serem aeróbias); tais como embalagens a vácuo ou com vácuo compensado com mistura de CO₂/N₂ em diferentes concentrações – caso deste trabalho.

2.8 VANTAGENS DO USO DA EMBALAGEM EM ATMOSFERA MODIFICADA

As vantagens para a aplicação da tecnologia de Embalagem em Atmosfera Modificada (EAM) para a conservação de produtos alimentícios (frescos ou não) são evidentes e, até por isso, estudos de aplicação desta tecnologia em escala industrial têm se intensificado. Ela promove um diferencial competitivo para as empresas, pois poderão abranger mercados ainda maiores e mais distantes - devido à extensão obtida do prazo de vida comercial de seus produtos - sem comprometimento da qualidade sensorial, nutricional ou microbiológica de seus produtos e sem (ou com menor) utilização de aditivos químicos; assim obtendo maiores participação de mercado e maior tempo para reposição de estoques dos pontos de venda e de sua própria empresa. Além disso, a aplicação da EAM diminui a incidência de reclamações e retrabalhos - diminuição dos custos com horas extras e processos trabalhistas - o que repercute em melhorias quanto à confiabilidade e reputação da marca.

Além disso, o uso desta tecnologia permite que haja uma maior centralização das empresas não sendo necessária a construção ou contratação de filiais (células) para abordar um mercado consumidor maior e imprimindo, dessa forma, uma maior eficiência em utilização de espaço, recursos, logística, menor produção de lixo, melhoria de planejamento de estoques e inventário, melhorias quanto à padronização de cortes e produtos, minimizando problemas de padronização de produções muito comum entre filiais (MCMILLIN, 2008), e, conseqüentemente, traduzindo-se em menores custos fixos totais e em maiores lucros para a empresa.

2.9 INCONVENIENTES DO USO DA EMBALAGEM EM ATMOSFERA MODIFICADA

A principal desvantagem que ainda desestimula a utilização da tecnologia de Embalagem em Atmosfera Modificada (EAM) é o custo adicional inicial para o produtor (que posteriormente se reflete em maior precificação para o consumidor

dos produtos sob AM) devido aos investimentos em maquinário, embalagens especiais próprias a cada matriz e nos gases a serem utilizados na aplicação desta tecnologia (BUENO; MARTÍNEZ, 2010).

Além disso, há também custos relacionados à manutenção e monitoramento da temperatura e de todo o sistema que compõe a cadeia de frio - desde a fabricação até o consumidor – devido à relação direta entre temperatura e eficácia da EAM, conforme já apontado anteriormente nesta pesquisa.

Contudo, é preciso considerar também que o uso desta tecnologia (EAM) associado à utilização do frio, para retardar o crescimento de microrganismos deterioradores do alimento, aumenta a vida comercial do último permitindo, dessa forma, que sua microbiota psicotrófica inicial - que se prolifera também em condições de temperaturas de resfriamento entre 0° e 5° C (apesar deste crescimento ser mais demorado do que o dos mesófilos, levando em média de 7 a 10 dias em meio de cultura e condições ótimas) - possua menor competição além de mais tempo para se desenvolver e colonizar o produto – devido à extensão de seu prazo de validade (MCDONALD; SUN, 1999).

Ultimamente, a inocuidade de alimentos embalados sob AM tem sido questionada principalmente em produtos RTE, que não sofrem qualquer outro processamento antes de serem consumidos (MANTILLA, 2010). Isto obriga os produtores a planejarem medidas de controle ainda mais rígidas para monitorarem suas produções (principalmente seus Pontos Críticos) minimizando ou, idealmente, evitando qualquer tipo de contaminação do produto acabado.

Apesar de Church (1994) ressaltar que estudos indicam que os riscos de um patógeno de origem alimentar crescer em alimentos sob AM é menor do que o de crescer em alimentos sob armazenamento aeróbico; estudo este corroborado pelos achados de Mano et al. (1995); outros ainda mais recentes, como os Mano et al. (2002), Mantilla et al. (2009a), Lubber et al. (2011) e o de Lambertz et al. (2012), apontam que mesmo utilizando-se de altas concentrações de CO₂ (em torno de 80%) é possível que a bactéria *Listeria monocytogenes* (anaeróbia facultativa e muito patogênica) se desenvolva em EAM – contudo com uma taxa de crescimento menor. Desta forma, esta tecnologia não inibe totalmente a proliferação de microrganismos patogênicos; contudo, melhora o aspecto microbiológico como um todo do produto quando em comparação com a embalagem do produto em aerobiose.

Tem havido um maior interesse quanto à habilidade de outros patógenos psicrotroáficos, como os dos gêneros *Aeromonas* e *Yersinia* de também serem capazes de colonizar produtos embalados em EAM (CHURCH; PARSONS, 1995; MANO et al., 2002). Estes microrganismos representam perigo em potencial para a saúde dos consumidores de carnes embaladas a vácuo e sob diferentes misturas de gases (distintas atmosferas modificadas) podendo a *Yersinia enterocolitica*, assim como a *Listeria monocytogenes*, se proliferar em concentrações de dióxido de carbono na faixa de 80%; enquanto as bactérias pertencentes ao gênero *Aeromonas*, já a partir de uma concentração com 40% de CO₂ na atmosfera interna da embalagem do produto, têm seu crescimento inibido.

Assim como as bactérias citadas, e conforme já elucidado anteriormente, a proliferação do *Clostridium botulinum* em ambientes com pouco ou nenhum O₂ faz com que o alimento sob AM deva possuir em sua composição “*itens antibotulínicos*” (MANTILLA, 2010) - o que restringe ainda mais a utilização desta tecnologia - ou ainda esteja associado a outras tecnologias tal como a irradiação (MANTILLA et al., 2009b) – o que encarece ainda mais a aplicação desta técnica. Meng e Genigeorgis (1993) e Lawlor et al. (2000) elucidam que para produtos que não possuem estes itens em sua composição, embora não se possa impedir a proliferação do *C.botulinum* ou a sua produção de toxinas, estes processos podem ser retardados a medida que houver um declínio da temperatura de estocagem para abaixo de 4°C.

Além disso, alguns efeitos negativos, principalmente sensoriais (que diminuem a aceitação do produto pelo consumidor), podem ser observados. Um exemplo clássico destes é transformação da mioglobina em desoximioglobina, em carnes vermelhas, em ambiente com concentrações baixas de O₂, que promove à carne uma coloração vermelho-púrpura (ZHOU et al., 2010), menos aceita do que a vermelho-cereja, promovida pela oxigenação da mioglobina – em embalagens de maior permeabilidade ao O₂.

Corso (2007) atentou para os perigos envolvidos na exposição das embalagens utilizadas em EAM a altas temperaturas (principalmente para produtos do tipo ‘*sous vide*²⁷’ e ‘*cook-in*’). Esta poderia promover a liberação de substâncias

²⁷ Produtos ‘*sous vide*’ são aqueles embalados a vácuo e posteriormente cozidos lentamente (2 a 72 horas) a temperaturas estáveis (variando entre +40° C e +70°C) dentro da própria embalagem.

tóxicas e ácidos que podem ser adsorvidos pelo produto embalado acabando por alterarem suas características sensoriais e até mesmo, de segurança do alimento.

Ainda sobre as embalagens, Bueno e Martínez (2010) apontam que um aumento do volume das embalagens; proveniente da insuflação das mesmas, gerada pelo emprego da mistura de gases em concentrações pré-determinadas; determina a utilização de um maior espaço para um menor peso bruto total de produtos provendo, dessa forma, menor taxa Peso/m^2 dentro do baú dos veículos de transporte aumentando, assim, o custo com frete morto²⁸; além de requerer um maior espaço disponível também para a sua exposição nos pontos de venda.

2.10 CARNE DE AVES E A TECNOLOGIA DE EMBALAGEM EM ATMOSFERA MODIFICADA

Especificamente para embalagem de produtos cárneos avícolas, a Embalagem em Atmosfera Modificada (EAM) tem sido cada vez mais estudada quanto à melhor concentração da mistura de gases a ser utilizada para fins de sua melhor conservação. Para carnes de aves frescas resfriadas, em contrapartida ao seu acondicionamento aeróbico (ainda o mais utilizado atualmente) - que lhe atribui uma vida comercial de 6 a 10 dias (SARANTÓPOULOS et al., 1991) - ou ainda em EAM com altas concentrações de O_2 - 12 dias (MANTILLA et al., 2009b); misturas que contêm altas concentrações de CO_2 permitem que haja uma extensão da validade comercial deste produto embalado sob AM para até 21 dias sob as mesmas condições de armazenamento do acondicionado em aerobiose (MANTILLA, 2010). Rajkumar et al. (2007) relataram uma menor contagem microbiana obtida em produtos embalados em atmosferas com concentração de pelo menos 20% de CO_2 em comparação com aqueles embalados com misturas contendo O_2 em qualquer concentração (*apud* ARVANITOYANNIS; STRATAKOS, 2012).

Corroborando com este último estudo, Patsias et al. (2008) elucida que esta mistura contendo baixa (ou nenhuma) concentração de O_2 e alta de CO_2 propicia extensão da vida útil deste tipo de produto justamente por ser capaz de retardar e até inibir o crescimento da microflora aeróbia deteriorante (que provoca a putrefação

²⁸ 'Frete morto' é a expressão utilizada quando não se maximiza a utilização do espaço no interior do baú de um veículo de transporte de produtos. Quanto maior a taxa de Peso/m^2 , menor será o frete morto.

do alimento mais rapidamente; devido à sua menor fase LOG, em comparação ao restante da eventual microbiota contaminante) ao mesmo tempo em que não inibem a proliferação de bactérias ácido-láticas (não patogênicas). Estas últimas provocam processos putrefativos mais lentos, caracterizados apenas por alteração sensorial do produto (acidificação/azedamento – devido à produção de ácido lático por estas bactérias), e não constituem risco para que se estabeleça uma doença transmitida por alimento (DTA).

Não só carnes frescas, mas também em carnes cozidas, a EAM tem sido utilizada com sucesso. Nestes últimos com misturas de 60/40 ou 90/10 CO₂/N₂ foi, observada uma extensão do prazo de validade em 6 dias ao compará-lo com o obtido com o mesmo produto embalado a vácuo. Além de prolongar a validade comercial, estas concentrações mantiveram as suas características sensoriais deste produto analisado (MANTILLA et al., 2009b).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Aves, Ovos e Mel, e nos Laboratórios de Controle Microbiológico e de Controle Físico-Químico de Produtos de Origem Animal, todos pertencentes ao Departamento de Tecnologia de Alimentos, da Faculdade de Medicina Veterinária, da Universidade Federal Fluminense (UFF). A seguir, estão relacionados o material e a metodologia utilizados no desenvolvimento deste estudo.

3.1 MATERIAL

3.1.1 Material permanente

O material permanente necessário para realização das análises já se encontrava disponível nos Laboratórios do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Medicina Veterinária da UFF e está listado a seguir:

- Balança analítica de precisão (Martec[®] LC1);
- Grelha antiaderente dupla-face com sistema de escoamento de gordura (George Foreman[®] *grill*);
- Máquina vácuo/seladora (TecMaq[®] AP-450);
- Analisador de gases (PBI-Dansensor[®] Check Pointer O₂/CO₂);
- Câmara de fluxo laminar;
- Bico de Bunsen;
- Balança mecânica (Record[®] E-04);
- Homogeneizador tipo “stomacher” (Seward[®] 80);
- Pipeta automática 100-1000 µL (Digipet[®]);
- Estufa bacteriológica (Thermolyne[®] 42000);
- Geladeira (Eletrolux[®] Double D440);
- Contador de colônias mecânico (Phoenix[®] CP602);
- Autoclave (Phoenix[®] AV 75);
- Homogeneizador - Vórtex (Certomat[®] MV);
- Processador de alimentos;
- Banho-maria com agitador automático (Incomap[®]);
- Destilador de água (Quimis[®]);

- Peagômetro (Digimed[®] DM22);
- Destilador de Kjeldahl (Endolab[®]);
- Espectrofotômetro (Biospectro[®] SP-22).

3.1.2 Material de consumo

Grande parte do material de consumo utilizado no estudo - tal como vidrarias, água destilada, algodão, tesouras, pinças e embalagens (para acondicionamento dos produtos em atmosfera modificada) - já se encontrava disponível nos Laboratórios de Controle Microbiológico e no de Controle Físico-Químico de Produtos de Origem Animal. A outra parte, tal como a amostra coletada, alguns reagentes, luvas e máscaras descartáveis e os meios de cultivo utilizados para contagem bacteriana - placas 3M[®] Petrifilm[®] *Aerobic Count Plates* (AC); foi adquirida com recursos financeiros fornecidos pela CAPES, além daqueles disponibilizados pelo programa de pós-graduação da UFF para realização do experimento proposto.

A Placa 3M[®] Petrifilm[®] AC, para enumeração de bactérias aeróbias, consiste em meio de cultura pronto para uso que, além de conter nutrientes do Método Padrão (APC), possui também um agente geleificante hidrossolúvel a frio e um indicador tetrazólico, que determina uma coloração vermelha às colônias que estão presentes na referida placa, facilitando sua enumeração (3M[®], 2014).

A faixa ideal de contagem na placa 3M[®] Petrifilm[®] AC é de 25 a 250 colônias (APHA, 2001). Caso o número de colônias for visivelmente superior a 250, a contagem deve ser estimada. A contagem total estimada por placa é determinada calculando-se o número médio de colônias dos vinte quadrados (cada um com área de 1,0 cm²) – na ocasião da presente pesquisa, quando encontrada esta situação (na avaliação microbiológica da matriz crua), utilizou-se a média dos números de colônias de quatro quadrados representativos das placas multiplicada por 20 (já que, após utilização do difusor acrílico, a área inoculada na placa é de aproximadamente 20 cm²).

A observação de uma maior concentração de colônias nos bordos das placas ou ainda um avermelhamento de toda a área de crescimento são indicativos de número muito alto de colônias, o que dificulta a visualização de colônias individualizadas e, conseqüentemente, sua contagem. As placas assim observadas

serão consideradas incontáveis, devendo ser realizada nova contagem em uma diluição maior da amostra.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Colheita, transporte e preparo das amostras

Foram adquiridos, em estabelecimento varejista do município de Niterói/RJ, 8 kgs de filés de peito (*Pectoralis major*) de frangos resfriados, produzidos por indústria brasileira com Serviço de Inspeção Federal. Foi solicitado ao operador de açougue do referido estabelecimento que cortasse os filés em lâminas de 2,0 a 2,5 cm de espessura e com aproximadamente 110g cada um. Os filés foram transportados para o Laboratório de Aves, Ovos e Mel do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal Fluminense (UFF) em caixa de polímero expandido preenchida com sachês de material congelado reutilizável para manutenção da sua temperatura entre 2 e 8°C. O tempo de transporte para o laboratório foi de cerca de 15 minutos. Os filés foram então acondicionados em geladeira por 1 hora a $6\pm 2^{\circ}\text{C}$ para equalização de sua temperatura, antes de serem temperados.

A salmoura foi preparada com água filtrada na proporção 1:1 (p:v), 2,5% de cloreto de sódio; 0,5% de alho em pó e 1,0% de pimenta do reino em pó. Os filés foram então imersos na salmoura e mantidos em refrigeração em geladeira doméstica ($6 \pm 2^{\circ}\text{C}$), onde permaneceram durante 1 hora e meia para incorporação dos temperos nos filés de peito. Transcorrido esse tempo, foram retirados dos recipientes onde se encontravam e colocados em escorredor de aço inoxidável previamente higienizado durante 4 minutos cada um. Em seguida, foram grelhados em grelha antiaderente dupla-face (George Foreman® grill) por igual período. Posteriormente, as amostras arrefeceram em temperatura ambiente por aproximadamente 10 minutos, separadas entre si de forma a permitir melhor troca de temperatura com o ambiente, em bandejas de alumínio (previamente higienizadas) e retornaram para geladeira ($6\pm 2^{\circ}\text{C}$) onde permaneceram por 1 hora, no intuito de equalizar a temperatura para posterior embalagem, pois não é adequado embalar produtos ainda quentes devido ao maior risco de formação de

vapor-d'água no interior da embalagem, capaz de comprometer a integridade físico-química e microbiológica do alimento.

3.2.2 Amostragem e acondicionamento

Após estas etapas, a amostra inicial foi dividida em 2 grupos com aproximadamente 3,6 kgs de filés grelhados cada um. Devido ao processo de cocção por compressão (no *grill*), houve uma redução de aproximadamente 10,0% em relação a massa original, principalmente devido a perda de água.

Cada um dos grupos foi dividido assepticamente em 36 amostras – totalizando 72 amostras de aproximadamente 100g cada uma. As amostras foram divididas em 6 grupos (ensaio inteiramente casualizado) para cada um dos 6 dias de análise planejados.

Cada um destes 6 grupos representa uma concentração de gases utilizada para o acondicionamento das amostras.

3.2.3 Concentrações dos gases para cada Tratamento

Os gases foram injetados no interior das embalagens na concentração desejada para cada tratamento através de máquina de vácuo/seladora TecMaq[®] AP-450, e foi avaliada, a cada dia planejado para a execução das análises, com o analisador de gases PBI-Dansensor[®], Check Pointer O₂/CO₂.

Foram utilizadas seis concentrações de gases no interior das embalagens (Tabela 6). As amostras foram embaladas em embalagens plásticas (Gabrilina[®]) de sete camadas, feitas de material nylon-poli (ou poliamida) com taxa de permeabilidade ao oxigênio de 60cm³/m².dia a 23°C e 1 atm (MANTILLA et al., 2010) e estocadas em geladeira sob refrigeração (6 ± 2°C) durante todo o período de duração do experimento.

As análises foram realizadas nos dias 1, 2, 5, 7, 10 e 15; sendo o dia 1 equivalente a 24 horas após a embalagem das amostras, o dia 2, 48 horas, e assim sucessivamente.

Tabela 6 – Concentração de gases no interior das embalagens no grupo Controle e nos diversos tratamentos (T1 a T5) utilizados para análise de filés de peito de frango, temperados, grelhados, prontos para consumo, mantidos por 15 dias em ambiente resfriado ($6\pm 2^{\circ}\text{C}$).

GASES USADOS	GRUPOS ANALISADOS					
	Controle	T1 (Vácuo)	T2	T3	T4	T5
Ar atmosférico	100%	0%	-	-	-	-
CO ₂	-	-	20%	40%	60%	80%
N ₂	-	-	80%	60%	40%	20%

3.3 ANÁLISES BACTERIOLÓGICAS

As contagens de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (CBHAM) e psicotróficas (CBHAP) se deram nos dias 1, 2, 5, 10 e 15 de estocagem sob refrigeração ($6\pm 2^{\circ}\text{C}$). Foram utilizadas 30 amostras em capela de fluxo laminar previamente exposta por 15 minutos à radiação ultravioleta.

Todo material utilizado nas análises bacteriológicas foi previamente esterilizado em autoclave (Phoenix[®] AV 75) a 121°C por até 20 minutos, esterilização esta comprovada com fita adesiva para autoclave 3M[®].

3.3.1 Preparo das diluições

Nos dias programados, foram abertas assepticamente dentro da câmara de fluxo laminar, uma embalagem do Controle e uma de cada tratamento e delas retirada, também de forma asséptica, uma alíquota de 25 g. Esta alíquota foi transferida para saco estéril próprio para equipamento tipo “stomacher” (Seward[®] 80) juntamente com 225 mL de solução salina (SS) 3% homogeneizada por 120 segundos, gerando uma diluição decimal de 10^{-1} (BRASIL, 2003). Foi utilizada solução SS 3% ao invés de solução salina peptonada (SSP) a 0,1% pois não houve, neste experimento, a necessidade de estimular o crescimento dos microrganismos para isolamento.

A partir da diluição 10^{-1} foram preparadas diluições decimais até 10^{-5} .

3.3.2 Procedimentos para Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas e para Psicrotróficas

As contagens foram realizadas em placas 3M[®] Petrifilm[®] AC, com o auxílio dos difusores acrílicos de formato circular que as acompanham. Para a contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (CBHAM) as placas foram inoculadas com 1,0 mL de cada uma das diluições e para contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicrotróficas (CBHAP) com 0,1 mL. As placas inoculadas para CBHAM foram incubadas em estufa a $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 a 48 horas. Já para CBHAP as placas foram incubadas em geladeira a $4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 7 a 10 dias, totalizando 24 placas por dia de análise bacteriológica.

3.3.3 Contagem e conversão em UFC/g

A cada dia de análise as placas foram identificadas e incubadas, com seu filme para cima, em estufa a $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 a 48 horas – para mesófilos, ou em geladeira ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$) – para psicrotróficos por 7 a 10 dias. Transcorrido o período de incubação, foi realizada a leitura das placas em contador de colônias mecânico (Phoenix[®] CP602). Foram contadas todas as colônias presentes nas placas que possuíam mais de 25 e até, em torno, de 250 colônias (BRASIL, 2003). Os resultados das diluições analisadas foram transformados em log UFC/g. As placas foram descartadas após esterilização em autoclave.

3.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As análises físico-químicas foram realizadas no Centro Laboratorial Analítico (CLAN) da UFF em triplicatas para posterior cálculo de suas médias e análise estatística, seguindo as orientações contidas na Resolução RDC n° 12/2001 (BRASIL, 2001).

3.4.1 Determinação de pH

Para determinação do pH foram utilizadas as mesmas amostras já homogeneizadas em “stomacher” para as análises bacteriológicas, adaptando a

técnica determinada pelo LANARA (BRASIL, 1981) por método potenciométrico com peagômetro (Digimed[®] DM22) previamente calibrado com solução-tampão. Este equipamento possui incerteza esclarecida de $\pm 0,01$ para suas medições. As análises foram realizadas nos dias 1, 2, 5, 7, 10 e 15 de estocagem sob refrigeração ($6\pm 2^\circ\text{C}$).

3.4.2 Determinação do número de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

Os processos de oxidação envolvem a reação entre o oxigênio na atmosfera que envolve o produto e os lipídios insaturados presentes no último. Esta reação pode indicar o início do processo de alteração sensorial (tal qual putrefação) do alimento em questão determinando várias nuances de odores e sabores indicativos destas alterações, incluindo, um forte sabor de ranço.

O princípio da determinação do número de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) baseia-se na formação de um composto de coloração vermelha (medida espectrofotometricamente) resultante da condensação de 2 moles de ácido 2-tiobarbitúrico com 1 mol de aldeído malônico (malonaldeído) ou de seus tautômeros originados na oxidação dos lipídeos insaturados que constituem o produto analisado.

As análises foram realizadas nos dias 1, 2, 5 e 7 de estocagem sob refrigeração ($6\pm 2^\circ\text{C}$), segundo metodologia sugerida por Tarladgis et al. (1960).

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

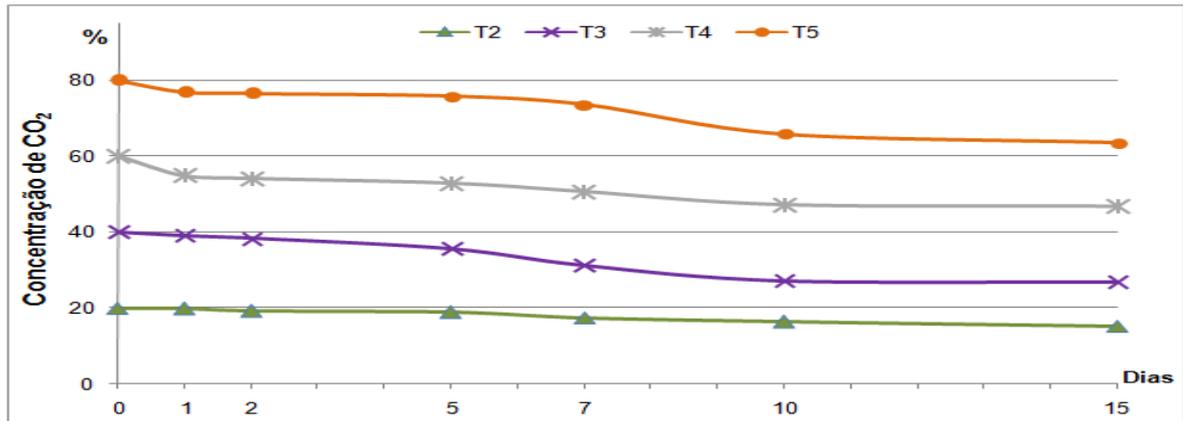
Os resultados obtidos com as contagens bacterianas foram ajustados através da utilização do modelo de regressão de Gompertz modificado, segundo Zwietering et al. (1990), de forma a se obter curvas de comportamento de crescimento bacteriano nas amostras para todos os tratamentos analisados neste experimento.

Os resultados obtidos nas análises físico-químicas (pH e n° de TBARS) foram analisados através de análise de variância ANOVA – utilizando software Microsoft[®] Office Excel[®] 2007 – e por meio do programa estatístico Graphpad InStat v. 3.05.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CONCENTRAÇÃO DE CO₂ NAS EMBALAGENS

Foi observado, durante o acondicionamento sob refrigeração, um decréscimo gradual nas concentrações dos tratamentos T2, T3, T4 e T5 (Figura 10).



Legenda: T2 = 20%CO₂/80%N₂; T3 = 40%CO₂/60%N₂; T4 = 60%CO₂/40%N₂; T5 = 80%CO₂/20%N₂.

Figura 10 – Concentrações de CO₂, encontradas nas embalagens submetidas à injeção da mistura CO₂/N₂, em filés de peito de frango, temperados, grelhados, prontos para consumo, mantidos por 15 dias em ambiente resfriado (6±2°C) embalados em diferentes atmosferas.

O maior decréscimo ocorreu a partir do 5º dia de estocagem em ambiente refrigerado. Certa redução destas concentrações já era esperada, pois a solubilidade do CO₂ em água, mais evidente em ambientes refrigerados, acarreta maior incorporação (adsorção) deste gás pela amostra (PARRY, 1993).

Apesar das amostras terem sido submetidas a termoprocessamento, a microbiota ainda residente passa a se desenvolver sem competição; tendo em vista a maior restrição ao crescimento de bactérias aeróbias proporcionada por atmosferas ricas em CO₂. As bactérias anaeróbias estritas e as facultativas utilizam o CO₂ no interior das embalagens como meio ideal para crescimento.

4.2 CONTAGENS DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS AERÓBIAS MESÓFILAS E DE PSICOTRÓFICAS

A contagem de bactérias heterotróficas mesófilas (CBHAM) inicial no filé de peito de frango temperado, ainda cru, foi de 4 log UFC/g. A contagem de bactérias

heterotróficas psicotróficas (CBHAM) desta mesma matriz mostrou resultado abaixo dos níveis de detecção ($<10^{-1}$ UFC/g), o que demonstrou que, além do produto ter sido confeccionado dentro da tolerância indicada pelos os padrões sanitários exigidos (BRASIL, 2001), a operação de laminação dos filés de peito de frango foi executada de forma asséptica, respeitando-se os padrões de Boas Práticas de Manipulação.

A comparação entre a contagem de mesófilos (BHAM) na matriz crua e a obtida em cada amostra grelhada no dia 1 (3 log UFC/g), demonstrou o potencial bactericida do termoprocessamento. Este também pode ter sido um dos motivos para que, em nenhum dia de análise, fosse observado desenvolvimento de psicotróficos no Controle e nem nos tratamentos (T1 a T5). Além disso, ambientes com concentrações de CO_2 maiores de 5% para acondicionamento de alimentos cárneos ou deles derivados – conforme encontrado nos Tratamentos T2 a T5 utilizados nesta pesquisa, sem que ocorra quebra na cadeia de frio, já seria o suficiente para que ocorresse a inibição do crescimento de bactérias deteriorantes psicotróficas nas amostras analisadas - tais como as dos gêneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter* e *Moraxella* (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

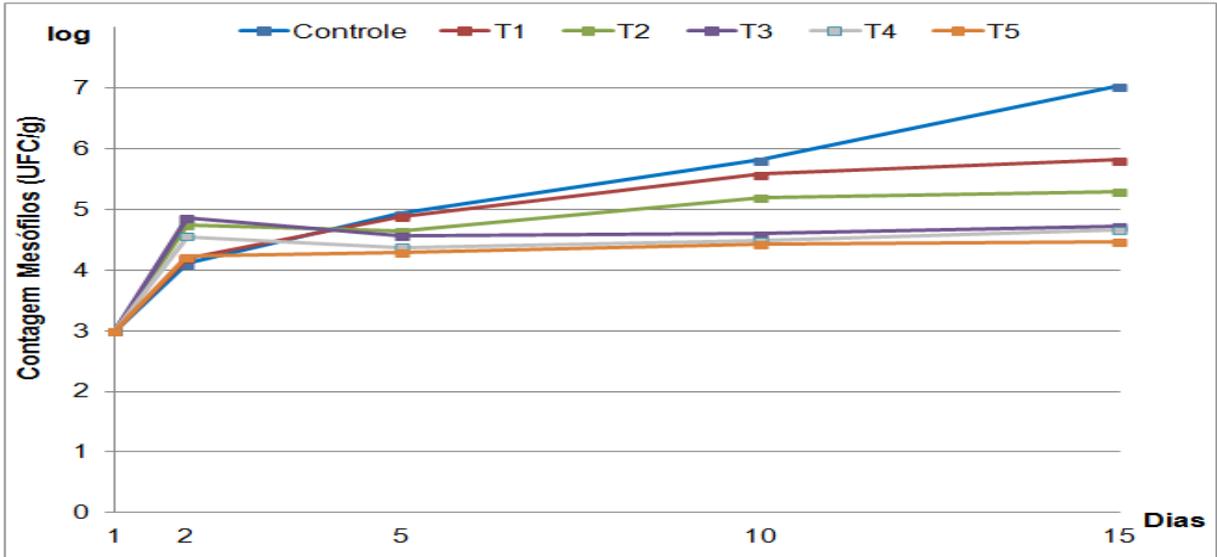
A CBHAM apresentou resultados bastante expressivos, encontrados na Tabela 7, representados graficamente pelas Figuras 11 e 12.

Houve aumento na CBHAM em todos os tratamentos ao longo do período de estocagem, sendo mais acentuada no Controle (Tabela 6 e Figura 11), porém com uma tendência mais discreta ($T1 > T2 > T3 = T4 > T5$) na medida em que aumentou a concentração de CO_2 (Figura 12).

Tabela 7 – Contagens de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (em log UFC/g) em placas 3M[®] Petrifilm[®] AC em filés de peito de frango, temperados, grelhados, prontos para consumo acondicionados por 15 dias em 6 diferentes atmosferas e resfriados ($6 \pm 2^\circ\text{C}$).

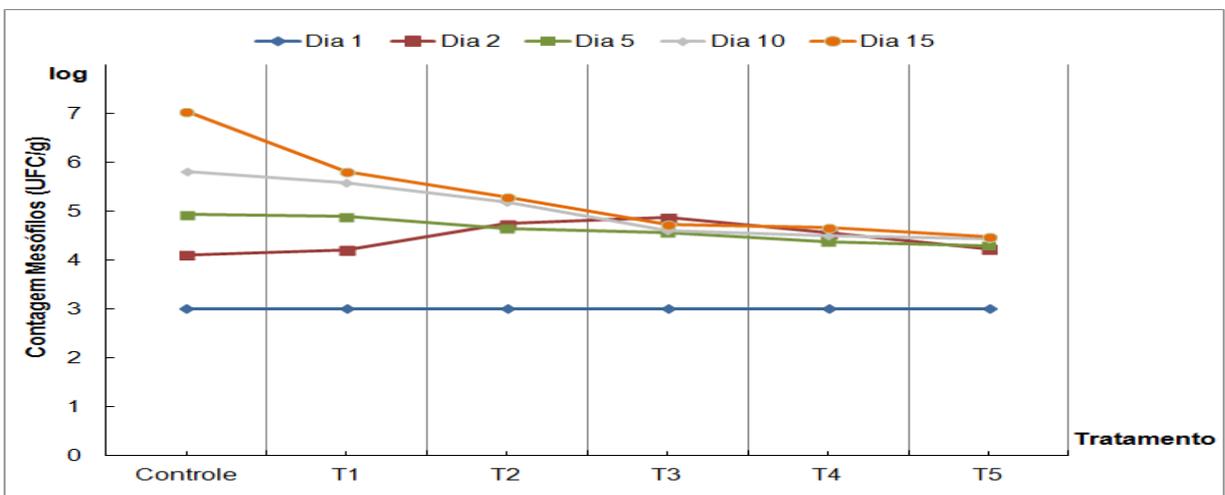
TRATAMENTO	DIA				
	1	2	5	10	15
Controle	3,0	4,1	4,9	5,8	7,0
T1	3,0	4,2	4,9	5,6	5,8
T2	3,0	4,7	4,6	5,2	5,3
T3	3,0	4,9	4,6	4,6	4,7
T4	3,0	4,6	4,4	4,5	4,7
T5	3,0	4,2	4,3	4,4	4,5

Legenda: Controle (Aerobiose) = ar atmosférico; T1 = vácuo; T2 = 20% CO_2 /80% N_2 ; T3 = 40% CO_2 /60% N_2 ; T4 = 60% CO_2 /40% N_2 ; T5 = 80% CO_2 /20% N_2 .



Legenda: Controle (Aerobiose) = ar atmosférico; T1 = vácuo; T2 = 20%CO₂/80%N₂; T3 = 40%CO₂/60%N₂; T4 = 60%CO₂/40%N₂; T5 = 80%CO₂/20%N₂.

Figura 11 – Contagens de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (em log UFC/g por dia de estocagem) em filés de peito de frango, temperados, grelhados, prontos para consumo mantidos por 15 dias em ambiente resfriado ($6\pm 2^{\circ}\text{C}$) embalados em 6 diferentes atmosferas.

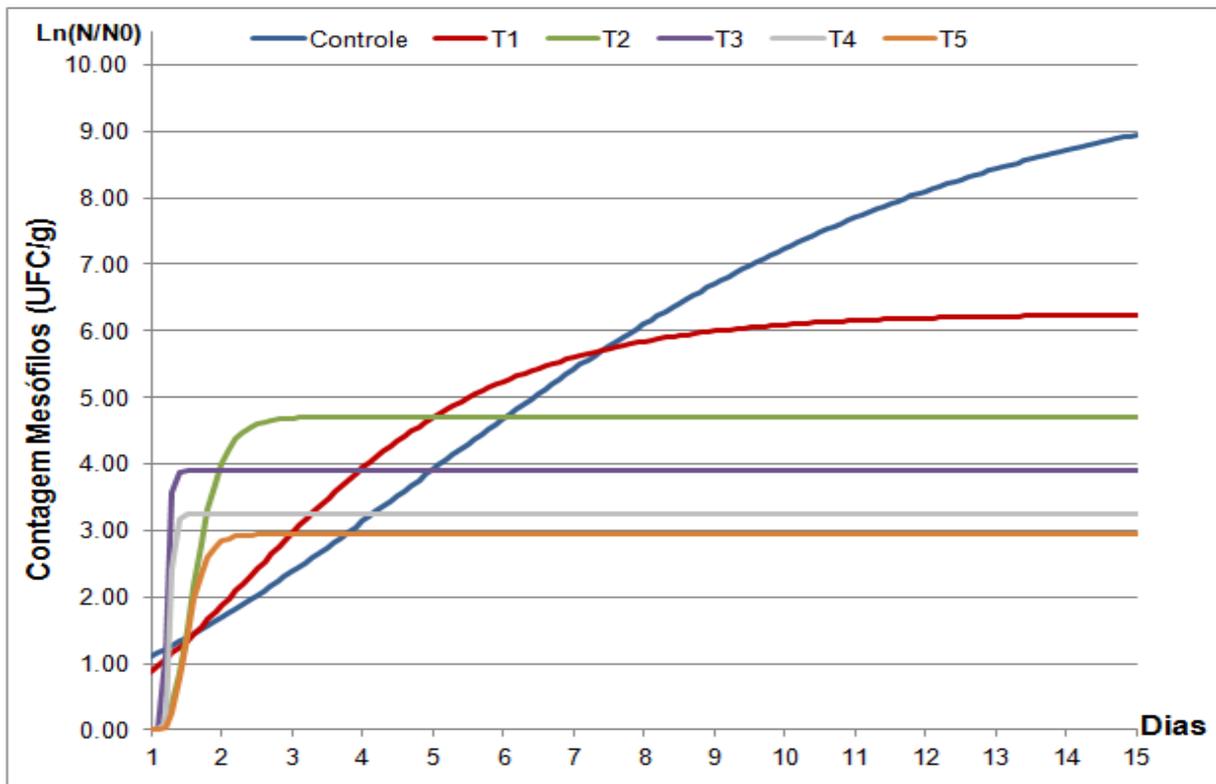


Legenda: Controle (Aerobiose) = ar atmosférico; T1 = vácuo; T2 = 20%CO₂/80%N₂; T3 = 40%CO₂/60%N₂; T4 = 60%CO₂/40%N₂; T5 = 80%CO₂/20%N₂.

Figura 12 - Contagens de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (em log UFC/g por Atmosfera) em placas 3M[®] Petrifilm[®] AC em filés de peito de frango, temperados, grelhados, prontos para consumo mantidos por 15 dias em ambiente resfriado ($6\pm 2^{\circ}\text{C}$) embalados em 6 diferentes atmosferas.

Para ajustar os valores das contagens obtidas de modo a delinear os comportamentos bacterianos encontrados em cada tratamento neste experimento, utilizou-se método de regressão por meio da função de Gompertz modificada – calculada em $\ln(N/N_0)$; leia-se logaritmo neperiano (base e; sendo $e \approx 2,178$) da

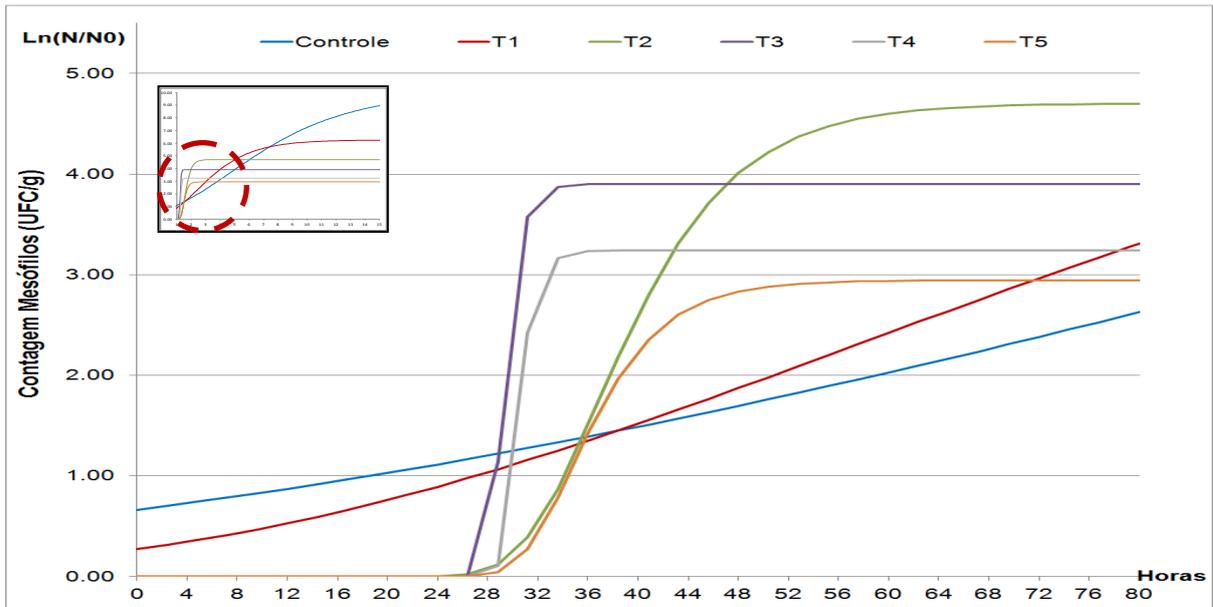
taxa de crescimento relativa; onde N é a CBHAM no tempo (t) e N_0 é a população de mesófilos inicial obtida em cada Tratamento – segundo proposto por Zwietering e colaboradores (1990) – durante o período de estocagem analisado (15 dias). Estes comportamentos (curvas de crescimento) estão demonstrados na Figura 13 e seus dados nos Apêndices 8.1 e 8.2.



Legenda: Controle (Aerobiose) = ar atmosférico; T1 = vácuo; T2 = 20%CO₂/80%N₂; T3 = 40%CO₂/60%N₂; T4 = 60%CO₂/40%N₂; T5 = 80%CO₂/20%N₂.

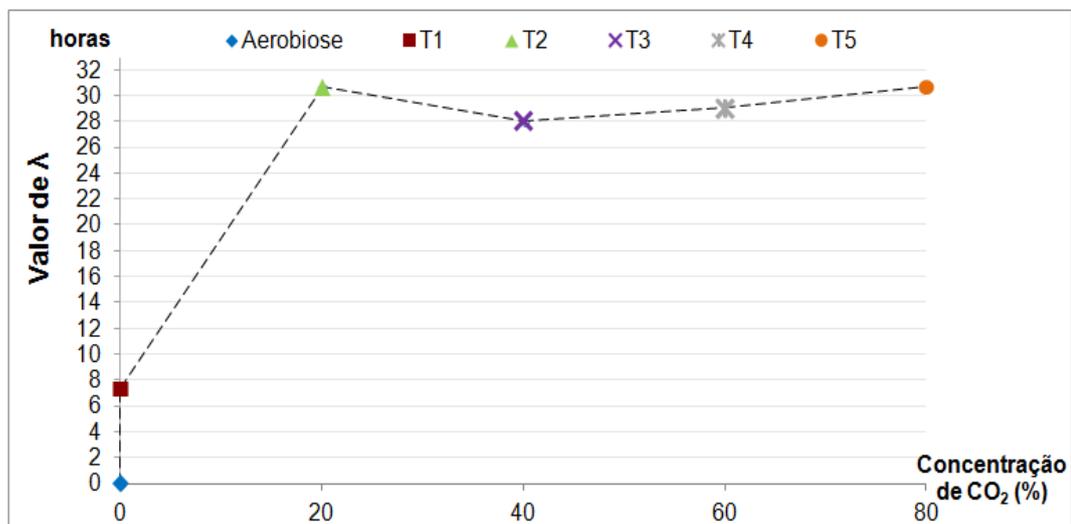
Figura 13 – Comportamentos de crescimento de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas – em Ln(N/N₀) UFC/g x dias de estocagem – em filés de peito de frango, temperados, grelhados, prontos para consumo mantidos por 15 dias em ambiente resfriado (6±2°C) embalados em 6 diferentes atmosferas.

Em relação à fase de latência do crescimento bacteriano, a partir dos seus resultados observados (Apêndices 8.1 e 8.2) e dos dados estatísticos gerados pelo programa estatístico GraphPad InStat v.3.05 – coeficiente de correlação de Pearson (r) = 0,7807 e valor p = 0,05 –, podemos interpretar que há uma correlação direta ainda estatisticamente significativa (a 5%) entre o aumento da concentração de CO₂ utilizada para acondicionamento de filés de peito de frango prontos para consumo embalados em atmosfera modificada e o aumento do tempo de duração da fase adaptativa (latência; LAG) das BHAM (Figuras 14 e 15), assim como sugerido pelos achados de Arvanitoyannis e Stratakos (2012).



Legenda: Controle (Aerobiose) = ar atmosférico; T1 = vácuo; T2 = 20%CO₂/80%N₂; T3 = 40%CO₂/60%N₂; T4 = 60%CO₂/40%N₂; T5 = 80%CO₂/20%N₂.

Figura 14 – Ampliação da curva de comportamento de crescimento de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas – em $\ln(N/N_0)$ UFC/g x dias de estocagem – em filés de peito de frango, temperados, grelhados, prontos para consumo mantidos por 15 dias em ambiente resfriado ($6\pm 2^\circ\text{C}$) embalados em 6 diferentes atmosferas.



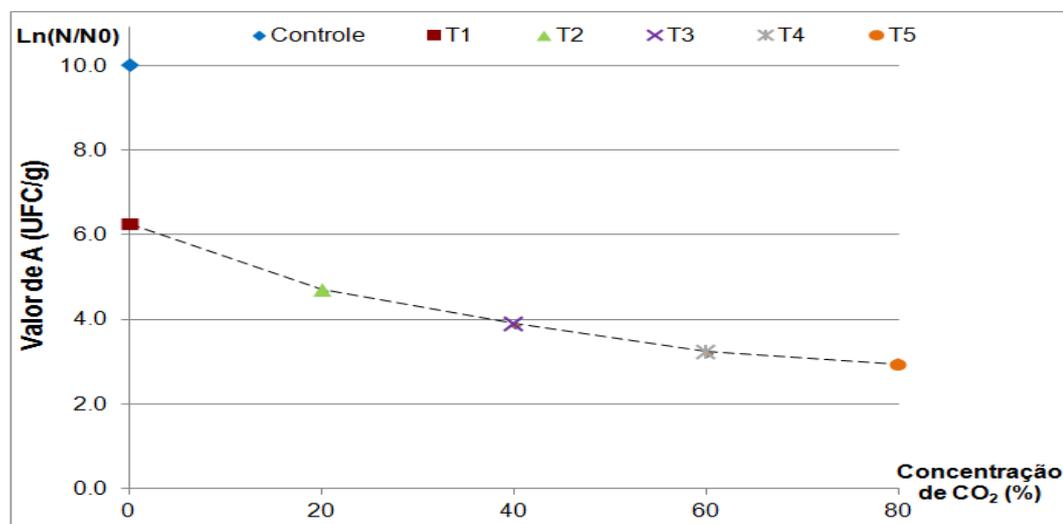
Legenda: Controle (Aerobiose) = ar atmosférico; T1 = vácuo; T2 = 20%CO₂/80%N₂; T3 = 40%CO₂/60%N₂; T4 = 60%CO₂/40%N₂; T5 = 80%CO₂/20%N₂.

Figura 15 – Duração da fase de latência (valor de λ) de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas em filés de peito de frango, temperados, grelhados, prontos para consumo mantidos por 15 dias em ambiente resfriado ($6\pm 2^\circ\text{C}$) embalados em 6 diferentes atmosferas.

Analisando os resultados observados na fase de crescimento exponencial (LOG) das BHAM nos tratamentos e no grupo controle (aerobiose) através do programa GraphPad InStat v. 3.05 – coeficiente de correlação de Pearson (r) =

0,4551 e valor $p = 0,34$ – é possível afirmar que, devido ao alto valor P , não houve uma correlação estatisticamente significativa entre o aumento da concentração de CO_2 presente na atmosfera circundante ao produto e o aumento da fase LOG das BHAM nestas amostras, o que também está de acordo com o observado por Arvanitoyannis e Stratakos (2012), que afirmaram que o CO_2 atua mais eficientemente na fase de latência (LAG) do que na fase de duplicação (LOG) de crescimento bacteriano; daí a importância da baixa microbiota inicial do alimento para se garantir a eficácia da tecnologia de Embalagem em Atmosfera Modificada.

As contagens de BHAM ajustadas pela função de Gompertz modificada nos tratamentos T2 a T5 (nos quais foi injetado o CO_2) atingiram a fase estacionária de crescimento bacteriano entre 36 e 77 horas, enquanto que nos grupos Controle e T1 esta só foi atingida apenas após o 15º dia de estocagem (Apêndice 8.2). Na fase estacionária, a contagem máxima de crescimento bacteriano – máximo assintótico (A), que é um dos parâmetros da função de Gompertz – é atingida. Analisando o A de cada tratamento (Apêndices 8.1 e 8.2), é possível observar uma redução gradativa do mesmo desde o Controle até T5 – Figura 16.



Legenda: Controle (Aerobiose) = ar atmosférico; T1 = vácuo; T2 = 20% CO_2 /80% N_2 ; T3 = 40% CO_2 /60% N_2 ; T4 = 60% CO_2 /40% N_2 ; T5 = 80% CO_2 /20% N_2 .

Figura 16 – Número máximo de colônias (A assintótico) de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas em filés de peito de frango, temperados, grelhados, prontos para consumo mantidos por 15 dias em ambiente resfriado ($6 \pm 2^\circ\text{C}$) embalados em 6 diferentes atmosferas.

Considerando a Figura 16 e os dados estatísticos gerados pelo programa estatístico GraphPad InStat v.3.05 a partir dos seus resultados observados –

coeficiente de correlação de Pearson (r) = -0,8205 e valor P = 0,04 – podemos apontar que há correlação estatisticamente significativa ($P < 0,05$) existente entre o aumento da concentração de CO_2 presente na atmosfera circundante ao produto e a redução das contagens máximas de BHAM nos tratamentos e no grupo Controle (aerobiose). Pode-se observar que T5 apresentou a menor contagem máxima dentre todos os tratamentos analisados denotando uma redução de 67% quando comparado com o grupo Controle. Quando comparado com T2 (em que se injetou a menor concentração de CO_2 dentre todos os tratamentos analisados neste experimento – 20%/80% CO_2/N_2), foram observadas contagens 37% menores. Assim, é possível visualizar a influência da maior concentração de CO_2 na redução das CBHAM neste experimento. Dessa forma, quanto aos parâmetros microbiológicos, esta pesquisa demonstrou que a maior concentração do CO_2 no meio em EAM foi a mais efetiva para o acondicionamento de filés de peito de frango, temperados, grelhados, prontos para o consumo nas condições deste experimento.

Este menor crescimento em maiores concentrações de CO_2 pode ser justificado através da correlação existente entre estas concentrações e a redução do pH da amostra, conforme elucidado a seguir.

4.3 pH

Os valores de pH obtidos das médias das triplicatas das amostras, em cada dia do experimento, estão relacionados na Tabela 8 e nas Figuras 17 e 18.

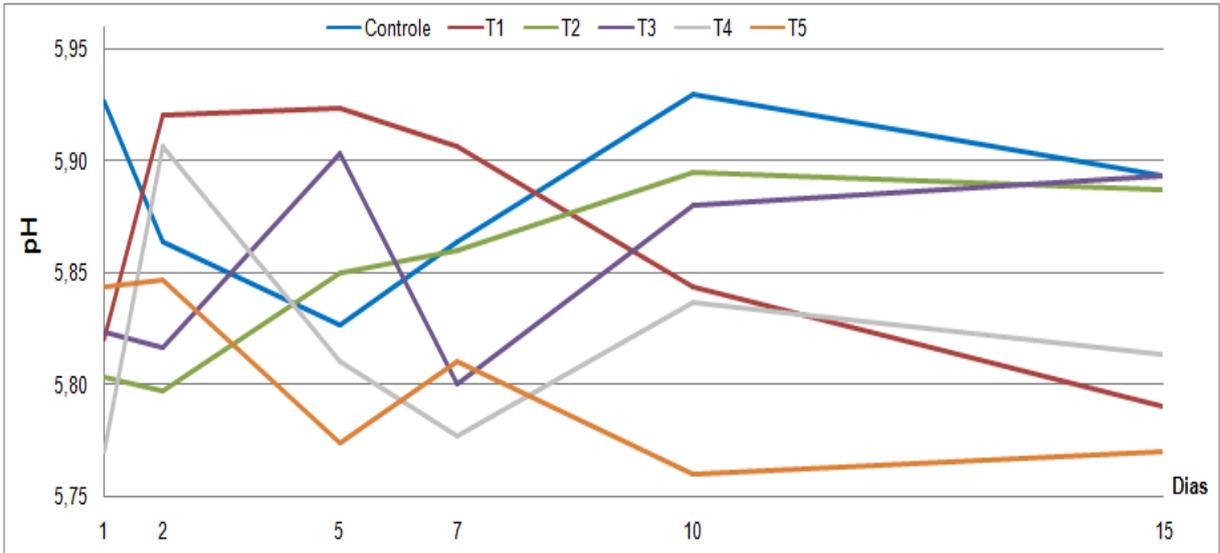
Tabela 8 – Valores médios de pH obtidos das triplicatas das amostras de filés de peito de frango, temperados, grelhados, prontos para consumo mantidos por 15 dias em ambiente resfriado ($6^\circ \pm 2^\circ\text{C}$) embalados em 6 diferentes atmosferas.

TRATAMENTO	DIA											
	1		2		5		7		10		15	
	pH	Desvio Padrão	pH	Desvio Padrão	pH	Desvio Padrão	pH	Desvio Padrão	pH	Desvio Padrão	pH	Desvio Padrão
Controle	5,93 ^{a A}	± 0,01	5,86	± 0,06	5,83 ^{ab I}	± 0,01	5,86 ^{abc N}	± 0,01	5,93 ^{bcd R}	± 0,01	5,89 ^{abcd V}	± 0,01
T1	5,82 ^{e AB}	± 0,01	5,92 ^{efg F}	± 0,01	5,92 ^{eg IJ}	± 0,02	5,91 ^{eh NO}	± 0,01	5,84 ^{efghi RS}	± 0,01	5,79 ^{efghi VX}	± 0,00
T2	5,80 ^{i AC}	± 0,01	5,80 ^{k F}	± 0,03	5,85 ^{ijk}	± 0,02	5,86 ^P	± 0,04	5,88 ^{jk RST}	± 0,01	5,89 ^{jk XY}	± 0,03
T3	5,82 ^{i ACD}	± 0,01	5,82 ^G	± 0,08	5,90 ^{lm IKL}	± 0,01	5,80 ^{lmn NO}	± 0,00	5,84 ^{mno RTU}	± 0,01	5,89 ^{lno XW}	± 0,01
T4	5,77 ^{p ABCDE}	± 0,02	5,91 ^{pq FGH}	± 0,04	5,81 ^{pqr JKLM}	± 0,01	5,78 ^{qrs NOPQ}	± 0,02	5,77 ^{qrt RSTU}	± 0,02	5,81 ^{pqrst VYZ}	± 0,02
T5	5,84 ^{u ABCDE}	± 0,01	5,85 ^{v FGH}	± 0,01	5,77 ^{uvx IJKLM}	± 0,01	5,81 ^{uvxy NOQ}	± 0,01	5,80 ^{uvxz RSTU}	± 0,01	5,77 ^{uvwxyz VXYZ}	± 0,01

Legenda: Controle (Aerobiose) = ar atmosférico; T1 = vácuo; T2 = 20% CO_2 /80% N_2 ; T3 = 40% CO_2 /60% N_2 ; T4 = 60% CO_2 /40% N_2 ; T5 = 80% CO_2 /20% N_2 .

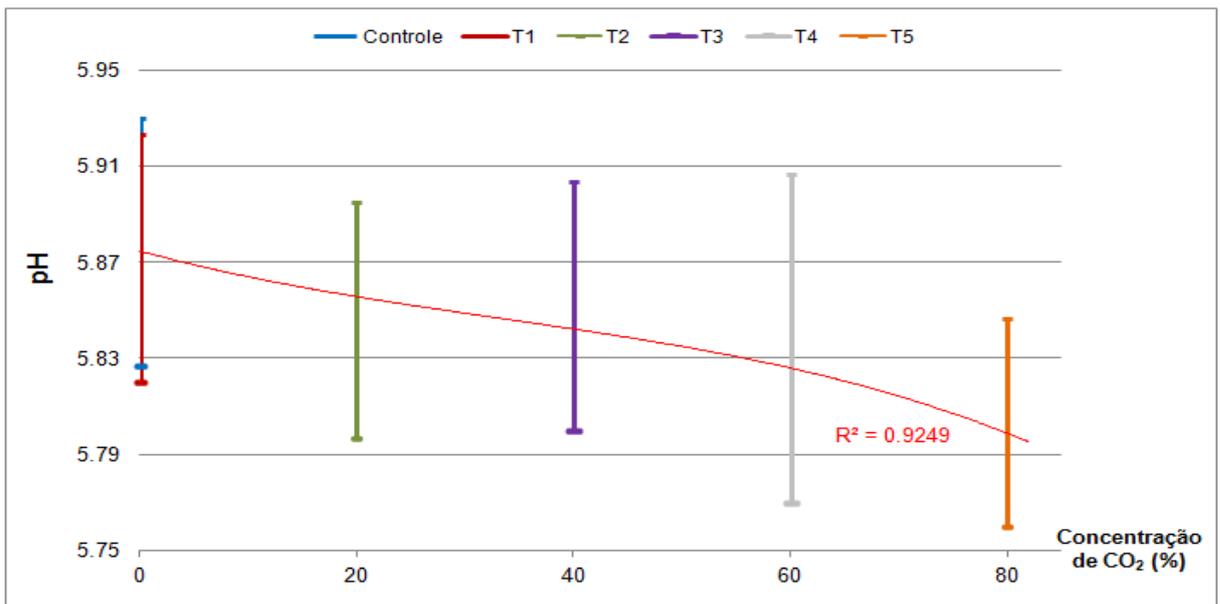
* Letras minúsculas iguais indicam diferença significativa ($P < 0,05$) entre dias em um tratamento;

** Letras maiúsculas iguais indicam diferença significativa ($P < 0,05$) entre tratamentos em um dia.



Legenda: Controle (Aerobiose) = ar atmosférico; T1 = vácuo; T2 = 20%CO₂/80%N₂; T3 = 40%CO₂/60%N₂; T4 = 60%CO₂/40%N₂; T5 = 80%CO₂/20%N₂.

Figura 17 – Variação diária dos valores de pH obtidos em amostras de filés de peito de frango, temperados, grelhados, prontos para consumo mantidos por 15 dias em ambiente resfriado ($6\pm 2^{\circ}\text{C}$) embalados em 6 diferentes atmosferas.



Legenda: Controle (Aerobiose) = ar atmosférico; T1 = vácuo; T2 = 20%CO₂/80%N₂; T3 = 40%CO₂/60%N₂; T4 = 60%CO₂/40%N₂; T5 = 80%CO₂/20%N₂.

Figura 18 – Variação entre valores de pH máximos e mínimos entre dias de estocagem e coeficiente de determinação (R^2) inter-Tratamentos em amostras de filés de peito de frango, temperados, grelhados, prontos para consumo mantidos por 15 dias em ambiente resfriado ($6\pm 2^{\circ}\text{C}$) embalados em 6 diferentes atmosferas.

Os resultados que geraram o gráfico das Figuras 17 e 18 já permitem que, visualmente, já se possa sugerir uma tendência de redução do pH à medida que se aumenta a concentração de CO₂ na atmosfera que envolve o produto.

Considerando-se os valores de pH obtidos e os dados estatísticos gerados pelo programa estatístico GraphPad InStat v.3.05 a partir destes resultados observados – coeficiente de correlação de Pearson (r) = -0,5075 e valor $p < 0,0001$ – podemos apontar que há uma correlação negativa estatisticamente significativa ($P < 0,001$) entre o valor de pH das amostras analisadas e o aumento da concentração de CO_2 presente na atmosfera circundante ao produto. Com isso pode-se sugerir, que, além do tempo de acondicionamento (RODRIGUES, 2013), o aumento da concentração de CO_2 no interior da embalagem em atmosfera modificada (EAM) é também responsável pelo declínio da taxa de pH de filés de peito de frango, temperados, grelhados e prontos para consumo em EAM e resfriados – corroborando com os estudos realizados por Rangel (2009) e Bueno e Martínez (2010), apesar das suas matrizes não serem as mesmas analisadas nesta pesquisa por não terem sido termoprocessadas.

O CO_2 , devido à sua alta solubilidade em água, é capaz de atravessar facilmente as membranas dos miócitos da matriz e reagir com as moléculas de água no citoplasma destes formando H_2CO_3 – ácido carbônico (CHURCH; PARSONS, 1995). Este último, por ser um composto instável, se dissocia em íons HCO_3^- e H^+ no meio intracelular reduzindo, dessa forma, o seu pH. Esta capacidade de reduzir o pH intracelular (criando um meio mais adverso à proliferação de bactérias), pode ser uma das justificativas ao efeito bacteriostático do CO_2 quando utilizado em EAM.

Após análise de variância (ANOVA) feita entre todos os tratamentos em cada dia de análise, foi observado que o tratamento que apresentou menor valor de pH, principalmente a partir do 5º dia de estocagem sob refrigeração ($6 \pm 2^\circ\text{C}$), foi aquele com maior concentração de CO_2 (T5).

4.4 NÚMERO DE SUBSTÂNCIAS REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO

Devido a situações exógenas que acabaram por prejudicar o andamento das análises, não foi possível realizar a análise de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (Nº de TBARS) durante todo o período programado para o experimento e na frequência predeterminada; só sendo possível realizá-lo até o 7º dia de análise deste. Este número reduzido de amostras atribui um maior erro a cada valor obtido – “*overinterference*” (RABIN, 2002) –, devido ao menor nº de indivíduos (no caso, amostras) avaliados para realização da análise de nº de TBARS. Contudo, o fluxo

(direto ou indireto) das correlações entre aumento das concentrações de CO₂ e aumento do n° de TBARS continua inalterado.

Os resultados de N° de TBARS das triplicatas das amostras analisadas estão relacionados na Tabela 9 e encontram-se representados graficamente nas Figuras 20 e 21.

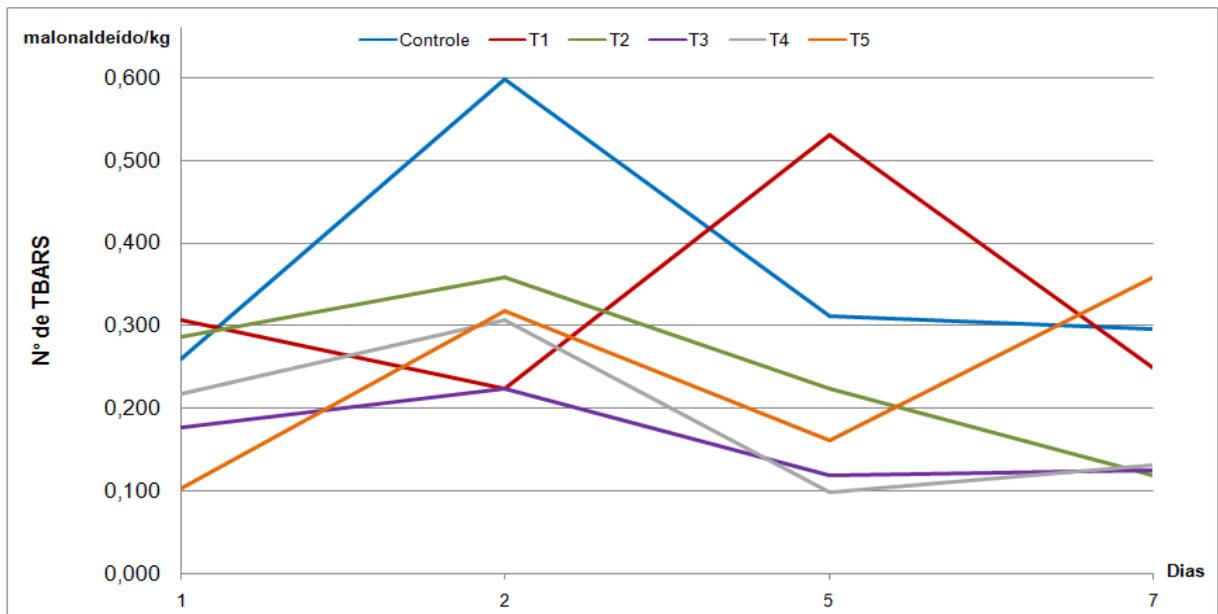
Tabela 9 - Valores de n° de TBARS obtidos das médias das triplicatas de amostras de filés de peito de frango, temperados, grelhados, prontos para consumo mantidos por 7 dias em ambiente resfriado (6°±2°C) embalados em 6 diferentes atmosferas.

TRATAMENTO	DIA							
	1		2		5		7	
	N° TBARS	Desvio Padrão	N° TBARS	Desvio Padrão	N° TBARS	Desvio Padrão	N° TBARS	Desvio Padrão
Controle	0,260 ^{a A}	± 0,009	0,598 ^{ab E}	± 0,036	0,312 ^{b I}	± 0,041	0,296 ^{b L}	± 0,027
T1	0,307 ^{c AB}	± 0,009	0,224 ^{cd EF}	± 0,024	0,530 ^{cde IJ}	± 0,047	0,250 ^{ce LM}	± 0,000
T2	0,286 ^{f C}	± 0,039	0,359 ^{fg EFG}	± 0,016	0,224 ^{g JK}	± 0,050	0,120 ^{fg LMN}	± 0,045
T3	0,177 ^B	± 0,059	0,224 ^{h EGH}	± 0,055	0,120 ^{h IJK}	± 0,024	0,125 ^{LMO}	± 0,041
T4	0,218 ^{i BD}	± 0,041	0,307 ^{ij EF}	± 0,032	0,099 ^{ij IJK}	± 0,009	0,131 ^{j LMP}	± 0,099
T5	0,104 ^{k ABCD}	± 0,024	0,317 ^{kl EFH}	± 0,024	0,161 ^{lm IJ}	± 0,070	0,359 ^{km LMNOP}	± 0,027

Legenda: Controle (Aerobiose) = ar atmosférico; T1 = vácuo; T2 = 20%CO₂/80%N₂; T3 = 40%CO₂/60%N₂; T4 = 60%CO₂/40%N₂; T5 = 80%CO₂/20%N₂.

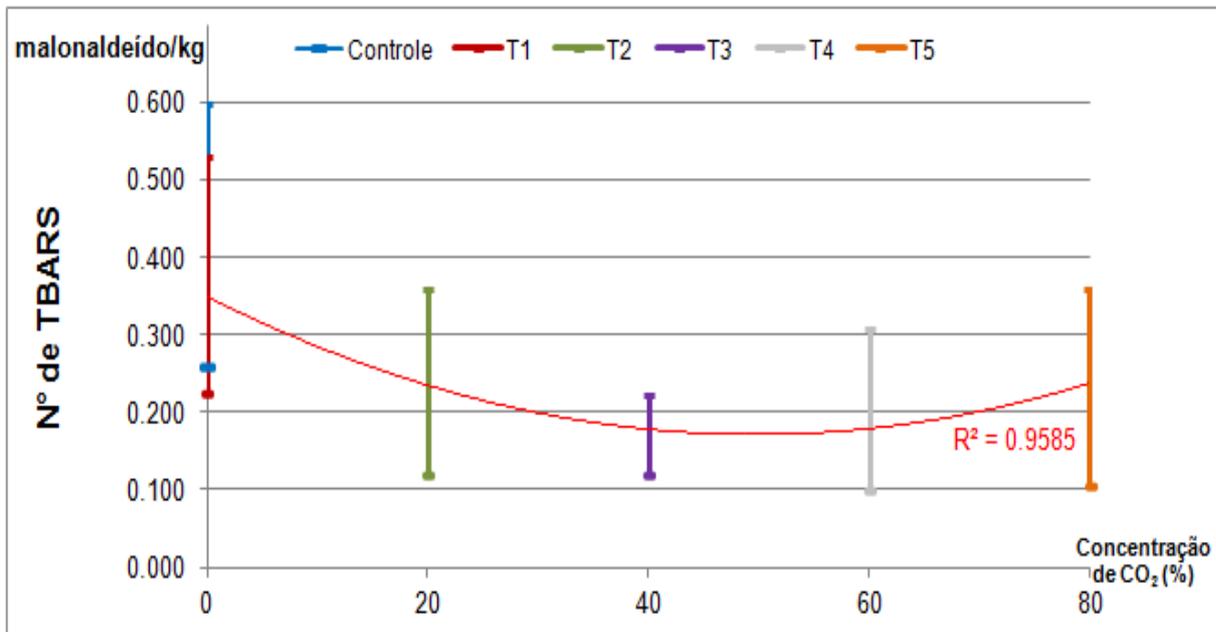
* Letras minúsculas iguais indicam diferença significativa ($P < 0,05$) entre dias em um tratamento;

** Letras maiúsculas iguais indicam diferença significativa ($P < 0,05$) entre tratamentos em um dia.



Legenda: Controle (Aerobiose) = ar atmosférico; T1 = vácuo; T2 = 20%CO₂/80%N₂; T3 = 40%CO₂/60%N₂; T4 = 60%CO₂/40%N₂; T5 = 80%CO₂/20%N₂.

Figura 19 – Variação diária dos valores de n° de TBARS encontrada em filés de peito de frango, temperados, grelhados, prontos para consumo mantidos por 7 dias em ambiente resfriado (6±2°C) embalados em 6 diferentes atmosferas.



Legenda: Controle (Aerobiose) = ar atmosférico; T1 = vácuo; T2 = 20%CO₂/80%N₂; T3 = 40%CO₂/60%N₂; T4 = 60%CO₂/40%N₂; T5 = 80%CO₂/20%N₂.

Figura 20 – Variação entre valores de nº de TBARS máximos e mínimos entre dias de estocagem e coeficiente de determinação (R^2) inter-Tratamentos em amostras de filés de peito de frango, temperados, grelhados, prontos para consumo mantidos por 15 dias em ambiente resfriado ($6\pm 2^\circ\text{C}$) embalados em 6 diferentes atmosferas.

Analisando a tendência entre o aumento da concentração de CO₂ no ambiente interno da embalagem que acondiciona as amostras em atmosfera modificada (EAM) e a variação dos valores de nº de TBARS obtido em cada uma destas entre os dias analisados – Figura 20 – é possível visualizar um comportamento parabolóide, indicando que em uma atmosfera com concentração de até 40% de CO₂ (T3) há tendência de queda de sua oxidação lipídica, enquanto que a partir desta mesma concentração há um aumento gradual da oxidação dos produtos termoprocessados e em EAM, analisados neste experimento – o que provoca gosto de ranço (não atrativo para o consumidor). Este comportamento pode ter sido gerado por *overinterference* (RABIN, 2002), dado o reduzido nº de dados registrados para esta análise; devido à menor quantidade de dias disponibilizados para a efetuação da mesma, neste experimento.

A partir dos resultados observados e os dados estatísticos deles gerados pelo programa estatístico GraphPad InStat v.3.05 – coeficiente de correlação de Pearson (r) = -0,4082 e valor p = 0,0004 – podemos apontar que há correlação estatisticamente significativa ($P < 0,01$) entre o aumento da concentração de CO₂ presente na atmosfera circundante aos produtos e a redução do nº da TBARS. Isto

sugere que, neste experimento, o aumento da concentração de CO₂ influenciou a redução da taxa de oxidação lipídica (que aumenta gradativamente com o tempo de estocagem, mesmo acondicionado em atmosfera modificada), corroborando com os achados de Mantilla et al. (2010).

Após análise de variância (ANOVA) feita entre todos os tratamentos em cada dia de análise, foi observado que o tratamento que propiciou uma menor oxidação lipídica de filés de peito de frango, temperados, grelhados, prontos para consumo em todos os dias de estocagem sob refrigeração ($6\pm 2^{\circ}\text{C}$) analisados foi, conforme demonstrado na Figura 20, aquele com mistura em EAM de 40%CO₂ /60%N₂ (T3).

5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES

De acordo com os resultados obtidos no presente experimento, pode-se concluir que:

1. O emprego dos métodos de conservação de embalagem em atmosfera modificada (EAM) em filés de peito de frango (*Pectoralis major*) temperados, grelhados e prontos para o consumo apresentou menor crescimento de microrganismos mesófilos quanto maior fosse a concentração de CO₂ no interior das embalagens. Partindo deste achado – e como o desenvolvimento deste tipo de microrganismos está diretamente associado à duração da vida útil de produtos de origem animal – pode-se concluir que possivelmente tenha havido aumento da validade comercial destes produtos analisados. Sendo assim, ainda que não tenha sido objeto de estudo neste presente experimento, poderia ser sugerido que quanto maior fosse a concentração de CO₂ no interior da embalagem do produto submetido à atmosfera modificada, maior também seria a validade comercial deste mesmo.

2. À medida que se aumentou a concentração de CO₂ no interior das embalagens em atmosfera modificada, associando este aumento ao correto acondicionamento em refrigeração dos produtos analisados, houve diminuição da formação de malonaldeído (principalmente até T3) - tendo retardado, portanto, o processo de rancificação dos lipídios insaturados presentes no produto avaliado. Além disso, observou-se diminuição dos valores de pH (melhor representado pelos achados em T5), aumento da fase de latência e redução, também, da fase de crescimento logarítmico de BHAM presentes no produto. Isto confere melhores características ao produto armazenado por maiores períodos, quando comparado àqueles armazenados em atmosferas com mais baixas (ou nenhuma) concentrações de CO₂, e sugere que a tecnologia de EAM possa ser considerada uma alternativa para produtores de alimentos na redução, ou mesmo supressão, da utilização de conservantes e aditivos em produtos prontos para o consumo à base de carne de frango.

3. Dentre os tratamentos avaliados, a atmosfera com concentração de 80%/20% CO₂/N₂ (T5) foi a que conferiu às amostras menor contagem bacteriológica e pH enquanto a de 40%/60% CO₂/N₂ (T3) conferiu menor ranço para carnes de aves; mostrando-se, assim, como um processo recomendável para conservação de filés de peito de frango grelhados.

Baseado nas conclusões obtidas se sugere aumentar o período de análises e número de amostras. A obtenção de mais dados deverá permitir verificação de maiores alterações físico-químicas e microbiológicas (através da geração de curvas de crescimento mais suaves; menor inclinação do gráfico na fase logarítmica - μ) na medida em que se aumenta o tempo de acondicionamento e de exposição das amostras às concentrações de CO₂ presentes na atmosfera em estiverem acondicionadas. Além disso, sugere-se também um novo estudo com o mesmo produto utilizado neste experimento, contudo com amostras inoculadas individualmente (simulando uma contaminação pós-processamento térmico) com bactérias ácido lácticas (BAL), *Listeria* sp., *Campylobacter jejuni*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens* e com *Clostridium botulinum* de modo a pesquisar a o quanto a tecnologia da EAM afetaria o crescimento destes microrganismos de alto potencial patogênico em produtos termoprocessados. Com isto seria possível gerar, para produtos prontos para o consumo à base de carne de frango, dados estatísticos relevantes sobre a segurança atribuída por esta tecnologia para produtos termoprocessados que porventura tenham sido, de alguma forma, contaminados antes da finalização de seu processo produtivo propriamente dito.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

3M®. *Placas Petrifilm®*. 3M® Petrifilm® Aerobic Count Plates. 2014. Disponível em:<
http://solutions.3m.com.br/wps/portal/3M/pt_BR/Microbiology/FoodSafety/product-information/product-catalog-br/?PC_Z7_RJH9U5230GD8A018TS8AOO2C4300000_nid=J5W756N61VbeRNSP8PD320qj>. Acesso em 02 fev. 2014.

AC NIELSEN. Consumers and Ready-to-Eat Meals: A Global ACNielsen Report. dez. 2006.

ARVANITOYANNIS, I.S.; STRATAKOS, A.C. Application of Modified Atmosphere Packaging and Active/Smart Technologies to Red Meat and Poultry: A Review. *Food Bioprocess Technology*, v.5., 2012. p. 1423–1446.

AZEREDO, H.M.C; FARIA, J.A.F; AZEREDO, A.M.C. Embalagens ativas para alimentos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* v.20, n.3, p. 337-341. Campinas. 2000. ISSN 1678-457X

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

BARAO, M.Z. *Dossiê Técnico: Embalagens para produtos alimentícios*. SBRT – Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas. Instituto de Tecnologia do Paraná – TECPAR. 2012.

BERNABÉU, R.; TENDERO, A. Preference structure for lamb meat consumers. A Spanish case study. *Meat Science*, v.71, p. 464-470, 2005.

BLAKISTONE, B.A. Principles and Applications of Modified Atmosphere Packaging of Foods. Aspen. 1999. ISBN: 0834216825. Disponível em: <
http://books.google.com.br/books?id=78sOfd9OgXYC&pg=PA1&dq=BLAKISTONE,+B.+A.+Principles+and+Applications+of+Modified+Atmosphere+Packaging+of+Foods.&hl=pt-BR&ei=usrmTM2YJoOKIweU_922Cw&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&ved=0CCsQ6AEwAA#v=onepage&q&f=false> Acesso em: 20 fev. 2013

BONAMIGO, A.; BONAMIGO, C.B.S.S; MOLENTO, C.F.M. *Atribuições da carne de frango relevantes ao consumidor: foco no bem-estar animal*. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, 2012. v.41, n.4.

BOWERS, D. E. Cooking trends echo changing roles of women. *Food Review*, 2000. v.23, p. 23–29.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. 2001. Disponível em: < http://www.anvisa.gov.Br/Regis/reso1/12_oirac.num > Acesso em 23 mar. 2013.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº. 273, de 22 de setembro de 2005. Aprova o Regulamento Técnico para misturas para o preparo de alimentos e alimentos prontos para o consumo. 2005.

_____. Laboratório Nacional de Referência Animal – Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. 1981.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializar os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. 2003.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasil: Projeções do Agronegócio 2011/2012 a 2021/2022 – Assessoria de Gestão Estratégica, Brasília/DF, 2012.

_____. EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Manejo pós colheita de pêssegos. Sistema de Produção de Pêssego de Mesa na Região da Serra Gaúcha. Pelotas. 2003. ISSN 1678-8761. Disponível em < <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pessego/PessegoDeMesaRegiaoSerraGaucha/manejo.htm> > Acesso em: 06 mar. 2013.

BRUL, S.; COOTE, P. Preservative agents in foods: mode of action and microbial resistance mechanisms. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, 1999, v.50, n.1/2, p. 1-17.

BUENO, S.G.; MARTÍNEZ, P.M. Plastic packaging in modified atmosphere packaging. nov. 2010. Disponível em: < www.interempresas.net/Packaging/Articles/44932-Plastic-packaging-in-modified-atmosphere-packaging.html > Acesso em 17 mar. 2013.

CARNEIRO, H. *Comida e sociedade: uma história da alimentação*. 2ª Ed., Rio de Janeiro, 2003.

CHIAVARO, E.; ZANARDI, E.; BOTTARI, E.; IANIERI, A. Efficacy of different storage practices in maintaining the physicochemical and microbiological properties of fresh pork sausage. *Journal of Muscle Foods*, 2008, n.19, p. 157–174.

CHURCH, N. Developments in modified atmosphere packaging and related technologies. *Trends in Food Science & Technology*, 1994, v.5, p. 345-352.

CHURCH, I. J.; PARSONS, A. L. Modified atmosphere packaging technology: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1995, v.67, p. 143-152.

CIARDI, C. ; JENNY, M. ; TSCHONER, A. ; UEBERALL, F. ; PATSCH, J. ; PEDRINI, M. ; EBENBICHLER, C. ; FUCHS, D. Food additives such as sodium sulphite, sodium benzoate and curcumin inhibit leptin release in lipopolysaccharide-treated murine adipocytes in vitro. *British Journal of Nutrition*, 2012, v.107, n.6, p.826-833.

CODEX – Codex Alimentarius. Codex General standard for food additives – CODEX STAN 192/1995 (rev. 2012). FAO/WHO. 1995.

CONTRERAS, J. *A modernidade alimentar: entre a superabundância e a insegurança*. In:_____. *História: Questões & Debates*. Curitiba: Editora UFPR, 2011, v. 54, p. 19-45.

CORSO, M.P. Embalagens. Medianeira. 2007 – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Disponível em < www.ebah.com.br/content/ABAAABGccAJ/embalagens-prof-marines-paula-corso > Acesso em: 06 mar. 2013.

COSTA, A.I.A.; SCHOOLMEESTER, D.; DEKKER, M.; JONGEN, W.M.F. *To cook or not to cook: A means-end study of motives for choice of meal solutions*. *Food Quality and Preference*, 2007, v.18, n. 1, p. 77-88.

DAVIDSON, P.M.; SOFOS, J.N.; BRANEN, A.L. *Antimicrobials in Foods*, 3^a ed., Boca Raton: CRC/Taylor & Francis, 2005, 706 p. ISBN 0-8247-4037-8

DE LA TORRE, C.A.L. *Utilização da cromatografia líquida de alta eficiência na determinação de aminas biogênicas como ferramenta para a avaliação da qualidade carne de aves*. Niterói, 2013. Tese (Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2013.

EILERT, S.J. New packaging technologies for the 21st century. *Meat Science*, 2005, 71 p.

EMBALAGENS PLÁSTICAS. In:_____. *A embalagem para produtos alimentares*. Porto: Escola Superior de Biotecnologia - ESB/UCP, 2003. Cap. 4. Disponível em < <http://www.esb.ucp.pt/twt/embalagem/MyFiles/biblioteca/publicacoes/sebenta/seb11.pdf> > Acesso em: 06 mar. 2013.

ESTADOS UNIDOS. APHA - American Public Health Association. *Compendium of Methods for the microbiological examination of foods*. 4 ed. 2001. 676 p.

_____. CDC – Center for Disease Control and Prevention. Vital Signs: Food Categories Contributing the Most to Sodium Consumption in the United States, 2007–2008. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 2012, n.61.

_____. FDA – United States Food and Drugs Administration. *Food Code 2009: Chapter 1 - Purpose and Definitions*. 2009. Disponível em: < <http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/RetailFoodProtection/FoodCode/FoodCode2009/ucm186464.htm> > Acesso em 08 nov. 2012.

_____. USDA – United States Department of Agriculture. News & Events / News Releases. Single Minimum Internal Temperature Established For Cooked Poultry. Food Safety and Inspection Service (FSIS). abr. 2006. Disponível em < http://www.fsis.usda.gov/News_&_Events/NR_040506_01/index.asp > Acesso em: 24 mar. 2013.

_____. _____. Fact Sheets: Poultry Preparation – Poultry: Basting, Brining, and Marinating. Food Safety and Inspection Service – FSIS. abr. 2011. Disponível em: < http://www.fsis.usda.gov/fact_sheets/Poultry_Basting_Brining_Marinating/index.asp#1 > Acesso em 23 mar. 2013.

FARIA, J.A.F.; FELÍCIO, P.E.; NEVES, M.A.; ROMANO, M.A. Formação e Estabilidade da Cor de Produtos Cárneos Curados (Revisão). *Revista de Tecnologia de Carnes*, Campinas, 2001, v.3, n.2, p.16-22.

FLANDRIN, J-L.; MONTANARI, M. *História da Alimentação*. 3ª. Ed., São Paulo, 1998.

FLOROS, J.D.; MATSOS, K.I. Introduction on modified atmosphere packaging. In: HAN, J. H. *Innovations in food packaging*. London: Elsevier, 2005. p. 159-172.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. Microrganismos patogênicos de importância nos alimentos. In: _____. *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo: Atheneu, 1996, p. 33-38.

_____. *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo: Atheneu, 2005, 183 p.

GALHARDO, J.A.; LOPES, M.; OLIVEIRA J.T.; TAMANINI, R.; SANCHES, S.F.; FREITAS, J.C.; MÜLLER, E.E. Eficácia dos tanques de pré-resfriamento na redução de contaminação bacteriana em carcaças de frango. *Ciências Agrárias*, Londrina, 2006, v.27, n.4, p. 647-656.

GIL, M.M.; BRANDÃO, T.R.S.; SILVA, C.L.M. A modified Gompertz model to predict microbial inactivation under time-varying temperature conditions. *Journal of Food Engineering*, 2006, v.76, n.1, p. 89-94.

GEEROMS, N. VERBEKE, W.; VAN KENHOVE, P. Consumers' health-related motive orientations and ready meal consumption behavior. *Appetite*, 2008, n.51, p. 704–712.

GUERREIRO, L. Atmosfera Modificada. Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas. Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro. Dossiê Técnico. out. 2006

HWANG, A.; HUANG, L. *Ready-to-Eat Foods: Microbial Concerns and Control Measures*. CRC Press, 2010. ISBN 9781420068627

JAMES, C. *Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2010*. Ithaca: ISAAA Brief, 2011, n.42. Disponível em: < <http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/42/executivesummary/default.asp> > Acesso em: 19 fev. 2013.

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

JAYAS, D.S.; JEYAMKONDAN, S. Modified Atmosphere Storage of Grains Meats Fruits and Vegetables. *Biosystems Engineering*, 2002, v.82, n.3, p. 235–251.

JEREMIAH, L.E. Packaging alternatives to deliver fresh meats using short – or long – term distribution. *Food Research International*, 2001, v.34, n.9, p. 749–772.

JIMÉNEZ, S.M.; SALSI, M.S.; TIBURZI, M.C.; RAFAGHELLI, R.C.; TESSI, M.A.; COUTAZ, V.R. *Spoilage microflora in fresh chicken breast stored at 4 °C: influence of packaging methods*. *Journal of Applied Microbiology*, 1997, v.83, n.5, p. 613-618.

JIMÉNEZ, S.M.; SALSI, M.S.; TIBURZI, M.C.; RAFAGHELLI, R.C.; PIROVANI, M.E. Combined use of acetic acid treatment and modified atmosphere packaging for extending the shelf-life of chilled chicken breast portions. *Journal of Applied Microbiology*, 1999, n.87, p. 339–344.

HACHMEISFER, K.; HUNT, N.; MILLIKEN, G.; HALL, W.; HALL, D. *Evaluation of beef steaks and ground beef in the Pactiv active tech packaging system: effects of carbon monoxide in the package atmosphere*. GRAS notice No. 000083. Nova Iorque, 2001, p. 160-169. Disponível em: < http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fcn/gras_notices/grn_000083B.pdf > Acesso em: 20 mar. 2013.

HEINZ, G.; HAUTZINGER, P. Meat processing technology for small to medium-scale producers. Bangkok, 2007 – Food and Agriculture Organization of the United Nations – FAO. Regional office for Asia and the Pacific. ISBN: 978-974-7946-99-4

HUGHES, D. Food manufacturing. In:_____. *Food Supply Chain Management*. Oxford: Blackwell Publishing, 2004. p. 99–115.

ICMSF - International Commission on Microbiological Specifications for Foods Microorganisms. *Foods Sampling for Microbiological Analysis: Principles and Scientific Applications*. Toronto: University of Toronto Press, 1986, v. 2, p. 181–196,

LAMBERTZ, S.T.; NILSSON, C.; BRÅDENMARK, A.; SYLVÉN, S.; JOHANSSON, A.; JANSSON, L-M.; LINDBLAD, M. Prevalence and level of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods in Sweden 2010. *International Journal of Food Microbiology*, 2012, n.160, p. 24–31.

LAWLOR, K.A.; PIERSON, M.D.; HACKNEY, C.R.; CLAUS J.R.; MARCY J.E. Nonproteolytic *Clostridium botulinum* toxigenesis in cooked turkey stored under modified atmospheres. *J. Food Prot.*, 2000, v. 63, n.11, p. 1511-1516.

LUBER, P.; CRERAR, S.; DUFOUR, C.; FARBER, J.; DATTA, A.; TODD, E.C.D. *Controlling Listeria monocytogenes in ready-to-eat foods: Working towards global scientific consensus and harmonization – Recommendations for improved prevention and control*. *Food Control*, 2011, v.22, n.9, p. 1535–1549.

LUCK, E.; JAGER, M. *Antimicrobial food additives: characteristics, uses, effects*. 2a.Ed., Berlin: Springer-Verlag, 1997, 260 p.

MACNAIR, T. Food Additives. BBC Health (Artigo). jan. 2011. Disponível em: < http://www.bbc.co.uk/health/physical_health/conditions/food_additives.shtml >
Acesso em: 06 fev. 2013.

MANCINI, R.A.; HUNT, M.C. Current research in meat color. *Meat Science*, Oxon, 2005, v.71, p. 100-121.

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

MANO, S.B.; QUEIROZ, M.; PARDI, H. et al. *Apostila de Tecnologia de aves, ovos e derivados*. – Departamento de Tecnologia dos Alimentos. Universidade Federal Fluminense, Niterói, 1999.

MANO, S.B.; PEREDA, J.L.O.; FERNANDO, G.D.G. Aumento da vida útil e microbiológica da carne suína embalada em atmosfera modificada. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 2002, v.22, n.1, p.1-10.

MANTILLA, S.P.S. Atmosfera modificada na conservação dos alimentos. *Revista Acadêmica de Ciências Agrárias e Ambientais*, Curitiba, 2010, v.8, n.4, p. 437-438.

MANTILLA, S.P.S.; SANTOS, E.B.; MANO, S.B.; VITAL, H.C.; FRANCO, R.M. Microbiologia de filé de peito de frango resfriado embalado em Atmosfera Modificada e inoculado com *Listeria monocytogenes*. Niterói, 2009a.

MANTILLA, S.P.S.; SANTOS, E.B.; CONTE JÚNIOR, C.A.; MANO, S.B.; VITAL, H.C.; FRANCO, R.M. Bactérias deteriorantes em filés de frango embalados em ar, vácuo e irradiados: parâmetros bacteriológicos de desenvolvimento e prazo comercial. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, Goiânia, 2009b, v.39, n.4, p. 271-277.

MCDONALD, K.; SUN D-W. Predictive food microbiology for the meat industry: A review. *International Journal of Food Microbiology*, 1999, n.52, p. 1–27.

MCMILLIN, K.W. *Where is MAP Going?* A review and future potential of modified atmosphere packaging for meat. *Meat Science*, 2008, v.80, p. 43- 65.

MENG, J.; GENIGEORGIS, A.C. Modeling lag phase of nonproteolytic *Clostridium botulinum* toxigenesis in cooked turkey and chicken breast as affected by temperature, sodium lactate, sodium chloride and spore inoculums. *International Journal of Food Microbiology*, 1993, n.19, p. 109-122.

MILLS, S.; STANTON, C.; HILL, C.; ROSS, R.P. New Developments and Applications of Bacteriocins and Peptides in Foods. *Annual review of food science and technology*, Irlanda, 2011, v.2, p. 299-329.

MINICH, D. Allergies, Sensitivities, and Other Special Considerations. In:____ *An A-Z Guide to Food Additives: Never Eat What You Can't Pronounce*. São Francisco: Conary Press, 2009. p. 74-79.

NIEMINEN, T.T.; KOSKINEN, K.; LAINE, P.; HULTMAN, J.; SÄDE, E.; PAULIN, L.; PALORANTA, A.; JOHANSSON, P.; BJÖRKROTH, J.; AUVINEN, P. Comparison of microbial communities in marinated and unmarinated broiler meat by metagenomics. *International Journal of Food Microbiology*, 2012, n.157, p. 142–149.

NUMMER, B.A. Historical Origins of Food Preservation. National Center for Home Food Preservation. maio, 2002. Disponível em: http://nchfp.uga.edu/publications/nchfp/factsheets/food_pres_hist.html> Acesso em: 17 fev. 2013.

OLIVEIRA, M.C. *Aula 12: Embalagem a vácuo*. In:____. *Embalagem de alimentos: Unidade IV - Ciência e tecnologia de laticínios*. Frutal: UEMG, 2012.

PARAMITHIOTIS, S., SKANDAMIS, P.N., & NYCHAS, G.J. E. *Insights into fresh meat spoilage*. In TOLDRA, F. *Safety of meat and processed meat*. Nova Iorque: Springer, 2009. p. 55–82.

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

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

PARRY, R.T. Envasado de los alimentos en atmosfera modificada. Madrid: Vicent, 1993, p.13-31.

PERLÈS, C. As estratégias alimentares nos tempos pré-históricas. in: FLANDRIN, J-L. MONTANARI, M. *História da Alimentação*, 3ª. Ed., São Paulo, 1998, v.1, p. 25-40.

PINTO, P.N.S. *Caracterização de barreiras pára-vapor e sua aplicação*. Porto, 2002. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) – Faculdade de Engenharia, Universidade do Porto, Porto, 2002.

POÇAS, M.F. Innovations in Intelligent Packaging Technologies for Perishable Foods. *Novel Processes and Control Techniques in the Food Industry*. IOS Press, 2001.

RABIN, M. Inference by Believers in the Law of Small Numbers. *Quarterly Journal of Economics*, 2002, v.117, n.3, p. 775–816.

RANGEL,V.P. *Avaliação de parâmetros bacteriológicos e ph em filés de peito de frango embalados em atmosfera modificada*. Niterói, 2009. Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) – Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2009.

RODRIGUES, M.B.R. *Efeito da embalagem em atmosfera modificada sobre a validade comercial de filé de peito de frango cozido e desfiado estocado em refrigeração*. Niterói, 2013. Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) – Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2013.

SANTOS, F.; ROJAS, M.; LOCKHORN, G.; BREWER, M.S. Effect of carbon monoxide in modified atmosphere packaging, storage time and endpoint cooking temperature on the internal color of enhanced pork. *Meat Science*, 2007, v.77, p. 520–528.

SANTOS, J.S.; OLIVEIRA, M.B.P.P. Alimentos frescos minimamente processados embalados em atmosfera modificada (Revisão). *Brazilian Journal of Food Technology*, Campinas, 2012, v.15, n.1, p. 1-14.

SARANTÓPOULOS, C.; SOLLER, R. Embalagens com atmosfera modificada/controlada. *Revista Nacional da Carne*. São Paulo, 1991, n.209, p. 32-42.

SEBRANEK, J. G.; HUNT, M.C.; CORNFORTH, D.P.; BREWER, M.S. Carbon monoxide packaging of fresh meat. *Food Technology*, 2006, 60 p.

SHEARS, P. *Food fraud: a current issue but an old problem*. *British Food Journal*, Plymouth, 2010, v.112, n.2, p. 198-213.

SILVA, M.F.O.; COSTA, L.M. A indústria de defensivos agrícolas. *BNDES Setorial*, 2012, n.35, p. 233–276.

SIVERTSVIK, M.; JEKSRUD, W.K.; ROSNES, J.T. *A review of modified atmosphere packaging of fish and fishery products: significance of microbial growth, activities and safety*. *International Journal of Food Science and Technology*, Noruega, 2002, v.37, p. 107-127.

SLOAN, E. Top 10 Food Trends. *Food Technology*. 2011, v.65, n.4. Disponível em: < <http://www.ift.org/food-technology/past-issues/2011/april/features/food-trends.aspx?page=viewall> > Acesso em: 18 mar. 2013.

SOCCOL, M.C.H.; OETTERER, M. Use of modified atmosphere in seafood preservation. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 2003, v.46, n.4, p. 569-580.

SOFOS, J.N. Challenges to meat safety in the 21st century. *Meat Science*, 2008, v.78, n.1/2, p. 3–13.

TARLADGIS, B. G.; WATTS, B. M.; YOUNATHAN, M. T.; DUGAN, L. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *The Journal of the American Oil Chemists' Society*, 1960, v.37.

UBABEF - União Brasileira de Avicultura. *Avicultura reduziu produção e exportação em 2012, mas a manteve liderança no comércio internacional*, jan. 2013. Disponível em: < <http://www.abef.com.br/ubabefnovo/exibenoticiaubabef.php?notcodigo=3345> > Acesso em 5 fev. 2013.

VENTURINI, A.C. *Sistemas de embalagens para carne bovina fresca em atmosfera modificada contendo reduzido nível de monóxido de carbono e elevadas concentrações de dióxido de carbono*. Campinas, 2007. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade de Campinas - UNICAMP, Campinas, 2007.

VENTURINI, A.C; CONTRERAS-CASTILLO, C.J.; FARIA, J.A.F. *Revisão: sistemas de embalagem para carne bovina fresca em atmosfera modificada*. *Brazilian Journal of Food Technology*, 2009, v.12, n.2, p. 128-137.

WHO - World Health Organization. Reducing salt intake in populations: report of a WHO forum and technical meeting, Paris: WHO Library Cataloguing, 2006. ISBN: 9789241595377

WINGER, R.J; URIBARRI, J.; LLOYD, L. *Phosphorus-containing food additives: An insidious danger for people with chronic kidney disease. Trends in Food Science & Technology*. 2012, v.24, n.2, p. 92-102.

WITT. Modified Atmosphere Packaging (MAP) in the food industry. Stand 04. 2003. Disponível em < <http://pt.scribd.com/doc/119914204/Lmmappe-Uk> > Acesso em: 02 mar. 2013.

YAM, K.L.; TAKHISTOV, P.T.; MILTZ, J. *Intelligent Packaging: Concepts and Applications. Journal of Food Science*, Chicago, 2005, v.70, n.1, p. R1-R10.

ZHOU, G.H.; XU, X.L.; LIU, Y. *Preservation technologies for fresh meat: A review. Meat Science*. 2010, n.86, p. 119–128.

ZWIETERING, M.H; JOGENBURGER, I; ROMBOUTS, F.M.; VAN'T RIET, K. Modeling of the bacterial growth curve. *Applied and Environmental Microbiology*, Wageningen, 1990, v.56, n.6, p. 1875-1881.

7. ANEXOS

7.1 CARACTERÍSTICAS DE BARREIRA E APLICAÇÕES DOS PRINCIPAIS POLÍMEROS USADOS EM EMBALAGENS PARA ALIMENTOS - adaptado de Embalagens Plásticas (2003).

NOME	SÍMBOLO	PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS	APLICAÇÕES
Polietileno de Baixa densidade	PEBD	<i>Propriedades de barreira:</i> Muito boa barreira à umidade; má barreira a gases e gordura <i>Propriedades térmicas:</i> Boa soldabilidade; Gama de temperaturas: -50 a 80°C <i>Resistência mecânica:</i> boa resistência à tração e à perfuração/impacto	Sacos (extrusão de filme), proteção (revestimento), camada interior para termossoldagem de estruturas e camada intermédia para ligação (laminação e coextrusão)
Polietileno de Alta densidade	PEAD	<i>Propriedades de barreira:</i> Muito boa barreira à umidade; má barreira a gases e média barreira à gordura <i>Propriedades térmicas:</i> Média soldabilidade; Gama de temperaturas:- 40 a 121°C <i>Resistência mecânica:</i> ótima resistência à tração e ao impacto/perfuração	Sacos para frutas e legumes (extrusão de filme), potes e bandejas (injeção), garrafas de leite esterilizado (extrusão –sopro)
Polietileno Tereftalato	PET	<i>Propriedades de barreira:</i> Média barreira à umidade; média barreira a gases e excelente barreira à gordura <i>Propriedades térmicas:</i> Não solda; Gama de temperaturas: -40 a 220°C <i>Resistência mecânica:</i> excelente resistência à tração e boa resistência ao impacto/perfuração <i>Propriedade ópticas:</i> Excelente transparência	Filme exterior em estruturas laminadas, filme metalizado, filme para forno doméstico (extrusão de filme), bandejas para forno microondas e forno convencional (CPET), pré-congelados (termoformação) garrafas para água mineral e refrigerantes carbonatados, óleo (injeção–sopro)
Etileno-vinílico álcool	EVOH	<i>Propriedades de barreira:</i> Fraca barreira à umidade; excelente barreira a gases (0% HR) e excelente barreira à gordura <i>Propriedades térmicas:</i> não aplicável, dado não serem usados individualmente <i>Resistência mecânica:</i> não aplicável, dado não serem usados individualmente	Embalagem de atmosfera modificada (coextrusão de filme), embalagens alta barreira para produtos termoprocessados e para fornos microondas (termoformação de estruturas coextrudidas), garrafas para produtos sensíveis ao oxigênio (coextrusão)
Polipropileno	PP	<i>Propriedades de barreira:</i> Boa barreira à umidade (>PE); fraca barreira a gases e gordura <i>Propriedades térmicas:</i> Boa soldabilidade; Filme orientado requer revestimento para termossoldagem; Gama de temperaturas: 0 a 130°C <i>Resistência mecânica:</i> variável <i>Propriedades ópticas:</i> Elevada transparência (>PE) e excelente brilho Filme não orientado é frágil a temperaturas baixas	Filme termoretrátil (extrusão de filme), taças para gelados e margarinas, camada interior para bandejas termoprocessáveis e para fornos, microondas, injeção de copolímero com PE, garrafas para ketchup e molhos para enchimento a quente (coextrusão - sopro) Embalagens de alimentos sensíveis à umidade (barreira à umidade)
Policloreto de vinilo	PVC	<i>Propriedades de barreira:</i> Média barreira à umidade; fraca barreira a gases e excelente barreira à gordura <i>Propriedades térmicas:</i> Média soldabilidade; Gama de temperaturas entre 60-85 e -30°C <i>Resistência mecânica:</i> variável <i>Propriedades ópticas.</i> Ótima transparência	Filme estirável para carnes frescas, frutos e vegetais, filme termoretrátil (calendragem e extrusão de filme), bandejas e boiões para <i>snacks</i> , chocolates, margarinas e manteiga (termoformação), garrafas de óleo alimentar (extrusão – sopro); Etiquetagem de garrafas; cápsulas.

Policloreto de vinilideno	PVDC	<p><i>Propriedades de barreira:</i> Excelente barreira à umidade, a gases e à gordura</p> <p><i>Propriedades térmicas:</i> não aplicável, dado não serem usados individualmente</p> <p><i>Resistência mecânica:</i> não aplicável, dado não serem usados individualmente</p>	<p>Filme envolvente “cling” (extrusão de filme com plastificante ou copolímero), revestimento de filmes (OPP, película celulósica, papel, PET e PA) e de garrafas de PET, embalagens alta barreira para produtos termoprocessados e para fornos microondas (termoformação de estruturas coextrudidas)</p>
Poliamida	PA	<p><i>Propriedades de barreira:</i> Má barreira à umidade; boa barreira a gases (0% HR) excelente barreira à gordura</p> <p><i>Propriedades térmicas:</i> Não solda; Gama de temperaturas: -50 a 140°C; Elevada estabilidade térmica</p> <p><i>Resistência mecânica:</i> excelente resistência à tração e ao impacto/perfuração; Elevada dureza superficial; Reduzido coeficiente de atrito</p> <p><i>Propriedades ópticas:</i> Boas</p>	<p>Embalagem flexível e bandejas para acondicionamento a vácuo e em atmosfera modificada: queijo, carnes, pescado (coextrusão e laminação)</p> <p>Embalagens “boil-in bag”</p> <p>Embalagens com resistência a temperaturas elevadas</p>

7.2 PROPRIEDADE DOS PRINCIPAIS POLÍMEROS UTILIZADOS PARA CONFECÇÃO DE EMBALAGENS USADAS PARA ATMOSFERA MODIFICADA DE CARNES BOVINA E DE FRANGO (MCMILLIN, 2008).

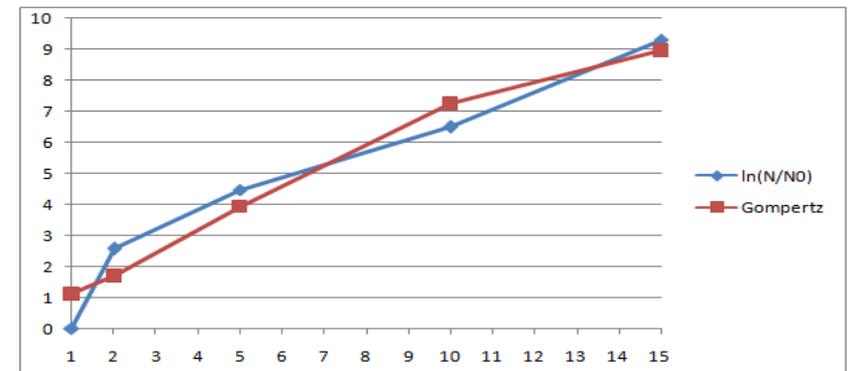
Packaging resin	Abbreviation	Water vapor transmission rate, g/m ² /24 h	O ₂ transmission rate, cc/m ² /24 h	Tensile strength, MPa	Tear strength, g/mL	Impact strength, J/m	Haze, %	Light transmission, %	Heat seal temperature, °C range, °C	Notes
Polyvinyl chloride	PVC	1.5-5	8-25	9-45	400-700	180-290	1-2	90	135-170	Moisture impermeable; resistant to chemicals
Polyvinylidene chloride	PVdC	0.5-1	2-4	55-110	10-19	-	1-5	90	120-150	Vapor barrier; high hardness; abrasion resistant
Polypropylene	PP	5-12	2000-4500	35.8	340	43	3	80	93-150	Clear, readily processed
High density polyethylene	HDPE	7-10	1600-2000	38.2	200-350	373	3	-	135-155	Used for structure
Low density polyethylene	LDPE	10-20	6500-8500	11.6	100-200	375	5-10	65	120-177	Lidding film use; high strength, low cost sealant
Linear low density polyethylene	LLDPE	15.5-18.5	200	7-135	150-900	200	6-13	-	104-170	Superior hot tack; poor sealing through grease
Ionomer		25-35	6000	24-35	20-40	150	-	-	107-150	Metallic salts of acid copolymers of PE; broad heat sealant range
Ethylene vinyl acetate	EVA	40-60	12,500	14-21	40-200	45	2-10	55-75	66-177	4% improves heat sealability; 8% increases toughness and elasticity
Ethylene vinyl alcohol	EVOH	1000	0.5	8-12	400-600	-	1-2	90	177-205	Vapor barrier
Polyamide (nylon)	PA	300-400	50-75	81	15-30	50-60	1.5	88	120-177	High heat and abrasion resistance, clear, easily thermoformed; printable
Polyethylene terephthalate	PET	15-20	100-150	159	20-100	100	2	88	135-177	Polyester from terephthalic acid reaction with ethylene glycol; abrasion and chemical resistant; structure use
Polystyrene	PS	70-150	4500-6000	45.1	2-15	59	1	92	121-177	High impact PS (HIPS) for multilayer sheet extrusion; strong; structure use

8. APÊNDICES

8.1 AJUSTES DA FUNÇÃO DE GOMPERTZ SOBRE OS VALORES DE CONTAGEM DE BACTÉRIAS HERETRÓFICAS AERÓBIAS MESÓFILAS (EM LN UFC/G) EM FILÉS DE PEITO DE FRANGO, TEMPERADOS, GRELHADOS, PRONTOS PARA CONSUMO MANTIDOS POR 15 DIAS EM AMBIENTE RESFRIADO ($6\pm 2^{\circ}\text{C}$) EMBALADOS SOB 6 DIFERENTES ATMOSFERAS: CONTROLE (AEROBIOSE) = AR ATMOSFÉRICO; T1 = VÁCUO; T2 = 20%CO₂/80%N₂; T3 = 40%CO₂/60%N₂; T4 = 60%CO₂/40%N₂; T5 = 80%CO₂/20%N₂.

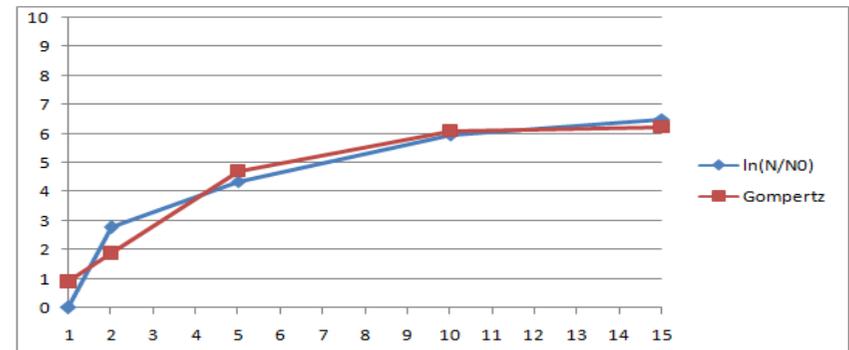
Aerobiose

UFC	t	ln(N/N0)	Gompertz	erro
1000	1	0,00	1,11	1,2363
13000	2	2,56	1,69	0,7581
86000	5	4,45	3,92	0,2889
659000	10	6,49	7,24	0,5614
10870000	15	9,29	8,95	0,1185
	max	9,29	SOS	2,9632
	A	10,007		
	mu	0,783		
	lambda	0,000		



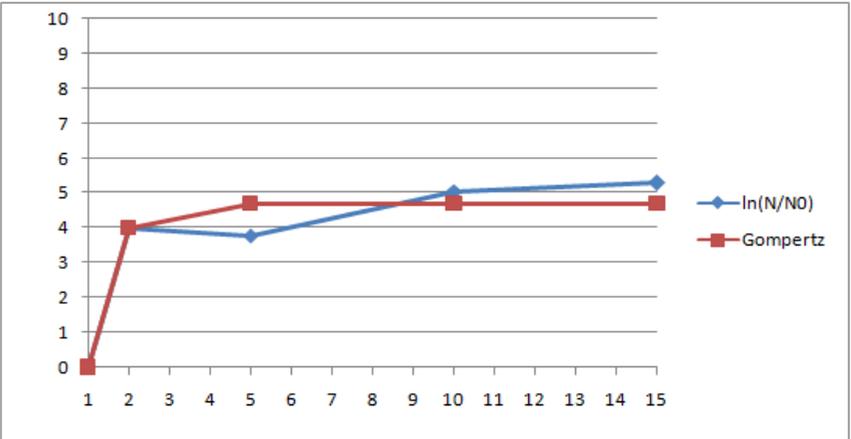
Vácuo

UFC	t	ln(N/N0)	Gompertz	erro
1000	1	0,00	0,89	0,7926
16000	2	2,77	1,87	0,8136
77000	5	4,34	4,70	0,1237
385000	10	5,95	6,09	0,0191
661000	15	6,49	6,24	0,0657
	max	6,49	SOS	1,8148
	A	6,252		
	mu	1,103		
	lambda	0,306		



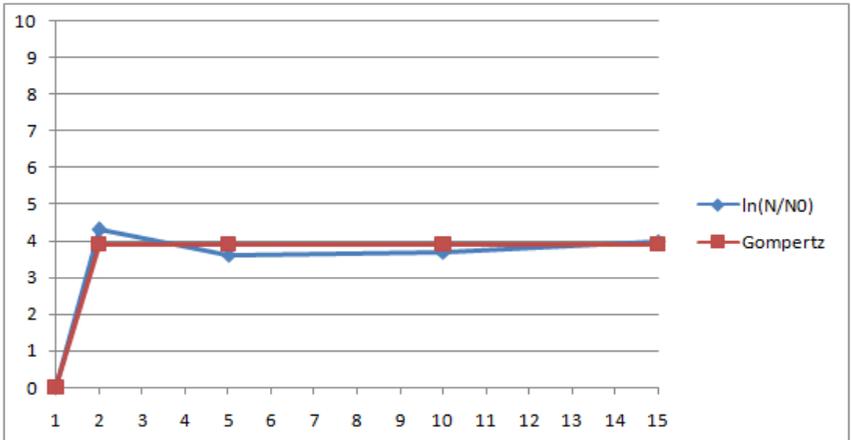
20% CO₂/80% N₂

UFC	t	ln(N/N0)	Gompertz	erro
1000	1	0,00	0,00	0,0000
55000	2	4,01	4,01	0,0000
44000	5	3,78	4,70	0,8453
155000	10	5,04	4,70	0,1155
197000	15	5,28	4,70	0,3359
	max	5,28	SOS	1,2967
	A	4,704		
	mu	6,791		
	lambda	1,279		



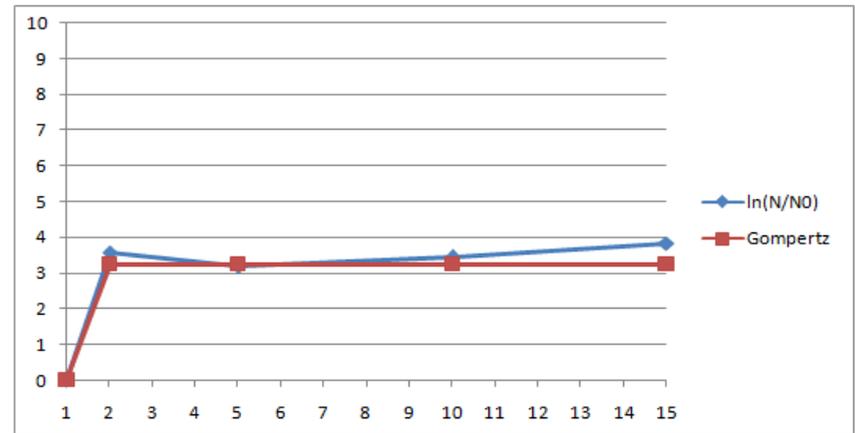
40% CO₂/60% N₂

UFC	t	ln(N/N0)	Gompertz	erro
1000	1	0,00	0,00	0,0000
74000	2	4,30	3,90	0,1647
37000	5	3,61	3,90	0,0825
40000	10	3,69	3,90	0,0438
54000	15	3,99	3,90	0,0082
	max	4,30	SOS	0,2993
	A	3,898		
	mu	38,013		
	lambda	1,170		



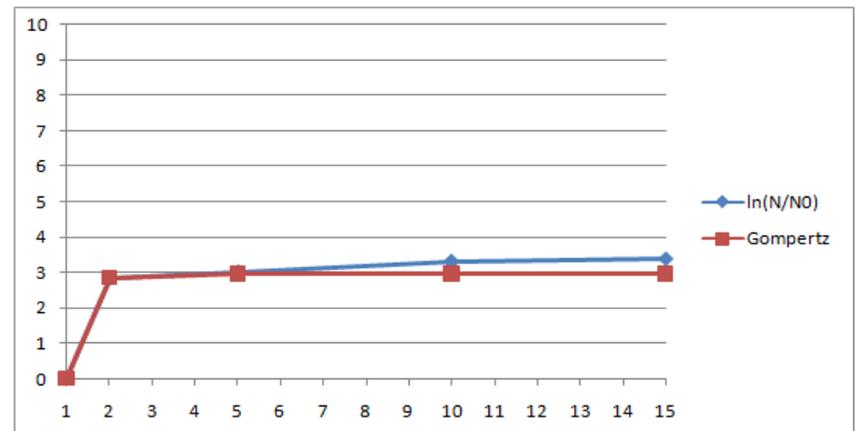
60% CO₂ /40% N₂

UFC	t	ln(N/N0)	Gompertz	erro
1000	1	0,00	0,00	0,0000
36000	2	3,58	3,24	0,1166
24000	5	3,18	3,24	0,0041
31000	10	3,43	3,24	0,0368
46000	15	3,83	3,24	0,3441
	max	3,83	SOS	0,5016
	A	3,242		
	mu	29,356		
	lambda	1,209		



80% CO₂ /20% N₂

UFC	t	ln(N/N0)	Gompertz	erro
1000	1	0,00	0,00	0,0000
17000	2	2,83	2,83	0,0000
20000	5	3,00	2,94	0,0027
27000	10	3,30	2,94	0,1241
30000	15	3,40	2,94	0,2095
	max	3,40	SOS	0,3363
	A	2,944		
	mu	6,393		
	lambda	1,278		



8.2 CRESCIMENTO DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS AERÓBIAS MESÓFILAS AJUSTADO PELA FUNÇÃO DE GOMPERTZ (EM LN UFC/G) EM FILÉS DE PEITO DE FRANGO, TEMPERADOS, GRELHADOS, PRONTOS PARA CONSUMO MANTIDOS POR 15 DIAS EM AMBIENTE RESFRIADO ($6\pm 2^{\circ}\text{C}$) EMBALADOS SOB 6 DIFERENTES ATMOSFERAS: CONTROLE (AEROBIOSE) = AR ATMOSFÉRICO; T1 = VÁCUO; T2 = 20%CO₂/80%N₂; T3 = 40%CO₂/60%N₂; T4 = 60%CO₂/40%N₂; T5 = 80%CO₂/20%N₂.

A = Máximo assintótico (maior contagem bacteriana, início da fase estacionária) / μ (μ) = taxa de crescimento na fase logarítmica (LOG) / λ (λ) = tempo (em dias) em que findou a fase adaptativa (LAG) e iniciou a LOG / CBHAM = Contagens de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas / $\ln(N/N_0)$ = logaritmo neperiano ($e \approx 2.718$) da taxa de crescimento bacteriano relativo (N/N₀) / ... = continua o crescimento.

Parâmetros Gompertz		TRATAMENTOS					
		Controle	T1	T2	T3	T4	T5
A		10.01	6.25	4.70	3.90	3.24	2.94
μ		0.78	1.10	6.79	38.01	29.36	6.39
λ		0.00	0.31	1.28	1.17	1.21	1.28
CBHAM - $\ln(N/N_0)$							
t horas	t dias	Aerobiose	Vácuo	20%CO ₂ 80%N ₂	40%CO ₂ 60%N ₂	60%CO ₂ 40%N ₂	80%CO ₂ 20%N ₂
0	0	0.66	0.27	0.00	0.00	0.00	0.00
2	0.1	0.70	0.31	0.00	0.00	0.00	0.00
5	0.2	0.74	0.36	0.00	0.00	0.00	0.00
7	0.3	0.78	0.41	0.00	0.00	0.00	0.00
10	0.4	0.82	0.46	0.00	0.00	0.00	0.00
12	0.5	0.87	0.53	0.00	0.00	0.00	0.00
14	0.6	0.91	0.59	0.00	0.00	0.00	0.00
17	0.7	0.96	0.66	0.00	0.00	0.00	0.00
19	0.8	1.01	0.73	0.00	0.00	0.00	0.00
22	0.9	1.06	0.81	0.00	0.00	0.00	0.00
24	1	1.11	0.89	0.00	0.00	0.00	0.00
26	1.1	1.16	0.98	0.02	0.00	0.00	0.00
29	1.2	1.22	1.06	0.12	1.14	0.11	0.04
31	1.3	1.27	1.16	0.39	3.57	2.42	0.27
34	1.4	1.33	1.25	0.87	3.87	3.16	0.79
36	1.5	1.39	1.35	1.50	3.90	3.24	1.42
38	1.6	1.45	1.45	2.18	3.90	3.24	1.96
41	1.7	1.51	1.55	2.80	3.90	3.24	2.35
43	1.8	1.57	1.66	3.31	3.90	3.24	2.60
46	1.9	1.63	1.76	3.71	3.90	3.24	2.75
48	2	1.69	1.87	4.01	3.90	3.24	2.83
50	2.1	1.76	1.98	4.22	3.90	3.24	2.88
53	2.2	1.82	2.09	4.37	3.90	3.24	2.91
55	2.3	1.89	2.20	4.48	3.90	3.24	2.92
58	2.4	1.96	2.31	4.55	3.90	3.24	2.93
60	2.5	2.03	2.42	4.60	3.90	3.24	2.94
62	2.6	2.10	2.53	4.63	3.90	3.24	2.94
65	2.7	2.17	2.64	4.66	3.90	3.24	2.94

67	2.8	2.24	2.75	4.67	3.90	3.24	2.94	134	5.6	4.38	5.04	4.70	3.90	3.24	2.94
70	2.9	2.31	2.86	4.68	3.90	3.24	2.94	137	5.7	4.46	5.09	4.70	3.90	3.24	2.94
72	3	2.38	2.96	4.69	3.90	3.24	2.94	139	5.8	4.54	5.14	4.70	3.90	3.24	2.94
74	3.1	2.45	3.07	4.69	3.90	3.24	2.94	142	5.9	4.61	5.19	4.70	3.90	3.24	2.94
77	3.2	2.53	3.17	4.70	3.90	3.24	2.94	144	6	4.69	5.24	4.70	3.90	3.24	2.94
79	3.3	2.60	3.27	4.70	3.90	3.24	2.94	146	6.1	4.76	5.28	4.70	3.90	3.24	2.94
82	3.4	2.68	3.37	4.70	3.90	3.24	2.94	149	6.2	4.84	5.32	4.70	3.90	3.24	2.94
84	3.5	2.75	3.47	4.70	3.90	3.24	2.94	151	6.3	4.91	5.36	4.70	3.90	3.24	2.94
86	3.6	2.83	3.57	4.70	3.90	3.24	2.94	154	6.4	4.99	5.40	4.70	3.90	3.24	2.94
89	3.7	2.90	3.67	4.70	3.90	3.24	2.94	156	6.5	5.06	5.44	4.70	3.90	3.24	2.94
91	3.8	2.98	3.76	4.70	3.90	3.24	2.94	158	6.6	5.13	5.47	4.70	3.90	3.24	2.94
94	3.9	3.06	3.85	4.70	3.90	3.24	2.94	161	6.7	5.21	5.51	4.70	3.90	3.24	2.94
96	4	3.14	3.94	4.70	3.90	3.24	2.94	163	6.8	5.28	5.54	4.70	3.90	3.24	2.94
98	4.1	3.21	4.02	4.70	3.90	3.24	2.94	166	6.9	5.35	5.57	4.70	3.90	3.24	2.94
101	4.2	3.29	4.11	4.70	3.90	3.24	2.94	168	7	5.42	5.60	4.70	3.90	3.24	2.94
103	4.3	3.37	4.19	4.70	3.90	3.24	2.94	170	7.1	5.49	5.63	4.70	3.90	3.24	2.94
106	4.4	3.45	4.27	4.70	3.90	3.24	2.94	173	7.2	5.56	5.66	4.70	3.90	3.24	2.94
108	4.5	3.53	4.35	4.70	3.90	3.24	2.94	175	7.3	5.63	5.69	4.70	3.90	3.24	2.94
110	4.6	3.60	4.42	4.70	3.90	3.24	2.94	178	7.4	5.70	5.71	4.70	3.90	3.24	2.94
113	4.7	3.68	4.49	4.70	3.90	3.24	2.94	180	7.5	5.77	5.74	4.70	3.90	3.24	2.94
115	4.8	3.76	4.56	4.70	3.90	3.24	2.94	182	7.6	5.84	5.76	4.70	3.90	3.24	2.94
118	4.9	3.84	4.63	4.70	3.90	3.24	2.94	185	7.7	5.90	5.78	4.70	3.90	3.24	2.94
120	5	3.92	4.70	4.70	3.90	3.24	2.94	187	7.8	5.97	5.80	4.70	3.90	3.24	2.94
122	5.1	3.99	4.76	4.70	3.90	3.24	2.94	190	7.9	6.03	5.82	4.70	3.90	3.24	2.94
125	5.2	4.07	4.82	4.70	3.90	3.24	2.94	192	8	6.10	5.84	4.70	3.90	3.24	2.94
127	5.3	4.15	4.88	4.70	3.90	3.24	2.94	194	8.1	6.16	5.86	4.70	3.90	3.24	2.94
130	5.4	4.23	4.94	4.70	3.90	3.24	2.94	197	8.2	6.22	5.88	4.70	3.90	3.24	2.94
132	5.5	4.31	4.99	4.70	3.90	3.24	2.94	199	8.3	6.29	5.89	4.70	3.90	3.24	2.94

202	8.4	6.35	5.91	4.70	3.90	3.24	2.94	269	11.2	7.79	6.16	4.70	3.90	3.24	2.94
204	8.5	6.41	5.93	4.70	3.90	3.24	2.94	271	11.3	7.83	6.17	4.70	3.90	3.24	2.94
206	8.6	6.47	5.94	4.70	3.90	3.24	2.94	274	11.4	7.87	6.17	4.70	3.90	3.24	2.94
209	8.7	6.53	5.96	4.70	3.90	3.24	2.94	276	11.5	7.91	6.17	4.70	3.90	3.24	2.94
211	8.8	6.59	5.97	4.70	3.90	3.24	2.94	278	11.6	7.95	6.18	4.70	3.90	3.24	2.94
214	8.9	6.65	5.98	4.70	3.90	3.24	2.94	281	11.7	7.99	6.18	4.70	3.90	3.24	2.94
216	9	6.71	5.99	4.70	3.90	3.24	2.94	283	11.8	8.03	6.18	4.70	3.90	3.24	2.94
218	9.1	6.76	6.01	4.70	3.90	3.24	2.94	286	11.9	8.06	6.19	4.70	3.90	3.24	2.94
221	9.2	6.82	6.02	4.70	3.90	3.24	2.94	288	12	8.10	6.19	4.70	3.90	3.24	2.94
223	9.3	6.87	6.03	4.70	3.90	3.24	2.94	290	12.1	8.14	6.19	4.70	3.90	3.24	2.94
226	9.4	6.93	6.04	4.70	3.90	3.24	2.94	293	12.2	8.17	6.20	4.70	3.90	3.24	2.94
228	9.5	6.98	6.05	4.70	3.90	3.24	2.94	295	12.3	8.21	6.20	4.70	3.90	3.24	2.94
230	9.6	7.03	6.06	4.70	3.90	3.24	2.94	298	12.4	8.24	6.20	4.70	3.90	3.24	2.94
233	9.7	7.09	6.07	4.70	3.90	3.24	2.94	300	12.5	8.27	6.20	4.70	3.90	3.24	2.94
235	9.8	7.14	6.08	4.70	3.90	3.24	2.94	302	12.6	8.31	6.21	4.70	3.90	3.24	2.94
238	9.9	7.19	6.08	4.70	3.90	3.24	2.94	305	12.7	8.34	6.21	4.70	3.90	3.24	2.94
240	10	7.24	6.09	4.70	3.90	3.24	2.94	307	12.8	8.37	6.21	4.70	3.90	3.24	2.94
242	10.1	7.29	6.10	4.70	3.90	3.24	2.94	310	12.9	8.40	6.21	4.70	3.90	3.24	2.94
245	10.2	7.34	6.11	4.70	3.90	3.24	2.94	312	13	8.43	6.21	4.70	3.90	3.24	2.94
247	10.3	7.39	6.11	4.70	3.90	3.24	2.94	314	13.1	8.47	6.22	4.70	3.90	3.24	2.94
250	10.4	7.43	6.12	4.70	3.90	3.24	2.94	317	13.2	8.49	6.22	4.70	3.90	3.24	2.94
252	10.5	7.48	6.13	4.70	3.90	3.24	2.94	319	13.3	8.52	6.22	4.70	3.90	3.24	2.94
254	10.6	7.53	6.13	4.70	3.90	3.24	2.94	322	13.4	8.55	6.22	4.70	3.90	3.24	2.94
257	10.7	7.57	6.14	4.70	3.90	3.24	2.94	324	13.5	8.58	6.22	4.70	3.90	3.24	2.94
259	10.8	7.62	6.14	4.70	3.90	3.24	2.94	326	13.6	8.61	6.22	4.70	3.90	3.24	2.94
262	10.9	7.66	6.15	4.70	3.90	3.24	2.94	329	13.7	8.64	6.22	4.70	3.90	3.24	2.94
264	11	7.70	6.15	4.70	3.90	3.24	2.94	331	13.8	8.66	6.23	4.70	3.90	3.24	2.94
266	11.1	7.75	6.16	4.70	3.90	3.24	2.94	334	13.9	8.69	6.23	4.70	3.90	3.24	2.94

336	14	8.72	6.23	4.70	3.90	3.24	2.94	353	14.7	8.88	6.24	4.70	3.90	3.24	2.94
338	14.1	8.74	6.23	4.70	3.90	3.24	2.94	355	14.8	8.91	6.24	4.70	3.90	3.24	2.94
341	14.2	8.77	6.23	4.70	3.90	3.24	2.94	358	14.9	8.93	6.24	4.70	3.90	3.24	2.94
343	14.3	8.79	6.23	4.70	3.90	3.24	2.94	360	15	8.95	6.24	4.70	3.90	3.24	2.94
346	14.4	8.81	6.23	4.70	3.90	3.24	2.94				
348	14.5	8.84	6.23	4.70	3.90	3.24	2.94								
350	14.6	8.86	6.23	4.70	3.90	3.24	2.94								

Para fins de explicação sobre os cálculos dos Apêndices 8.1 e 8.2 é preciso notar que o crescimento bacteriano se comporta ao longo do tempo segundo uma função analítica chamada de Função (ou Distribuição) de Gompertz modificada (ZWITERING et al., 1990). Esta é uma função definida por 3 parâmetros: A, μ e λ – representados graficamente pela Figura 21.

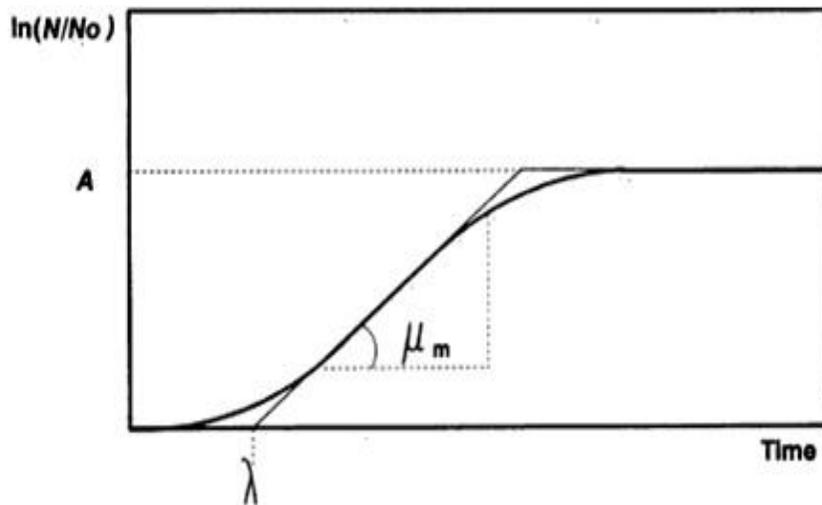


Figura 21 – Modelo esquemático para indicação dos parâmetros (A , μ e λ) de crescimento bacteriano - em $\ln(N/N_0)$ x tempo - usados na regressão pela função de Gompertz modificada (ZWIETERING et al., 1990).

"A" é o valor do eixo Y que exprime o valor assintótico da função, que corresponde à máxima contagem obtida ao longo do período estudado (fim da fase LOG e início da fase estacionária de crescimento bacteriano);

"mu" (ou μ) é o valor do ângulo formado entre a ascendente do crescimento bacteriano (fase LOG) - em $\ln(N/N_0)$ - e o eixo X (tempo; no caso do experimento, em dias) que exprime o ponto onde se teve início a influencia a taxa de crescimento - quanto maior "mu", mais íngreme é a subida da curva durante a fase LOG (logarítmica) de crescimento bacteriano;

Já o "lambda" (ou λ) é o ponto no eixo X que regula o início da fase de crescimento (indicando o término da fase de latência – LAG – e início da fase LOG de crescimento bacteriano). Quanto maior lambda, mais demorado o início do crescimento e mais deslocada à direita fica a curva (no gráfico).

A expressão analítica utilizada para o cálculo dos dados (Apêndice 8.1) da curva de crescimento bacteriano está expressa na demarcação da Figura 22.

Model	Equation	Modified equation ^a
Logistic	$y = \frac{a}{[1 + \exp(b - cx)]}$	$y = \frac{A}{\left\{ 1 + \exp\left[\frac{4\mu_m}{A}(\lambda - t) + 2\right]\right\}}$
<u>Gompertz</u>	$y = a \cdot \exp[-\exp(b - cx)]$	$y = A \exp\left\{-\exp\left[\frac{\mu_m \cdot e}{A}(\lambda - t) + 1\right]\right\}$
Richards	$y = a \{1 + v \cdot \exp[k(\tau - x)]\}^{(-1/v)}$	$y = A \left\{ 1 + v \cdot \exp(1 + v) \cdot \exp\left[\frac{\mu_m}{A} \cdot (1 + v) \left(1 + \frac{1}{v}\right) \cdot (\lambda - t)\right]\right\}^{(-1/v)}$
Stannard	$y = a \left\{ 1 + \exp\left[-\frac{(l + kx)}{p}\right]\right\}^{(-p)}$	$y = A \left\{ 1 + v \cdot \exp(1 + v) \cdot \exp\left[\frac{\mu_m}{A} \cdot (1 + v) \left(1 + \frac{1}{v}\right) \cdot (\lambda - t)\right]\right\}^{(-1/v)}$
Schnute	$y = \left\{ y_1^b + \left(y_2^b - y_1^b \right) \cdot \frac{1 - \exp[-a(t - \tau_1)]}{1 - \exp[-a(\tau_2 - \tau_1)]} \right\}^{1/b}$	$y = \left(\mu_m \frac{(1 - b)}{a} \right) \left[\frac{1 - b \cdot \exp(a \cdot \lambda + 1 - b - at)}{1 - b} \right]^{1/b}$

^a $e = \exp(1)$.

Figura 22 – Cálculo da função de Gompertz modificada para modelagem de curvas crescimento bacteriano com base nos parâmetros A, μ e λ (ZWIETERING et al., 1990).

O que foi feito no Apêndice 8.1, foi escrever a função de Gompertz em termos dos instantes de tempo (t) em dias e dos parâmetros (A , μ e λ). Foram comparados os valores obtidos pela função – coluna ‘Gompertz’ – com o crescimento relativo da população bacteriana no período de tempo analisado – coluna ‘ $\ln(N/N_0)$ ’ – conforme proposto por Zwietering e colaboradores (1990), calculando-se o erro entre estes valores (coluna ‘erro’). O valor "SOS - Sum of Squares" é a soma dos erros quadráticos, isto é, do resíduo obtido entre os valores da função de Gompertz e o de $\ln(N/N_0)$.

Foi feito ajuste desta função paramétrica através da função Solver do software Microsoft® Office Excel® 2007, usada para encontrar o conjunto de parâmetros (A , μ , λ) que determinassem o menor valor possível de SOS. Os valores ajustados desses parâmetros para cada concentração foram usados na equação de Gompertz modificada (Figura 24) fazendo-se uma menor discretização através da variação do tempo ($0,1$ dia = 2.4 h \approx 2 horas) de modo a gerar dados – Apêndice 8.2 – para construção de curvas de crescimento suaves e contínuas. Os resultados obtidos geraram os comportamentos observados na Figura 13 (constante na página 69).

